

УДК 612.0

## ПУРИНОРЕЦЕПТОРЫ СЕРДЦА

© Т.А.Аникина, А.А.Зверев, Ф.Г.Ситдигов, И.Н.Трофимова

В статье дается краткий обзор о роли АТФ, пуринергической регуляции деятельности сердца. Описывается классификация, действие и значение пуринорецепторов в работе сердца. Установлено, что АТФ может усиливать или ослаблять эффект ацетилхолина на хронотропную и инотропную деятельность сердца в зависимости от возраста крыс.

**Ключевые слова:** пуринорецепторы сердца, хронотропная деятельность сердца, инотропная деятельность сердца, крыса.

Работа поддержана грантом молодых ученых РТ № 12-1/2008 г.

АТФ – основное соединение, в котором запасается и переносится энергия, необходимая для выполнения работы живыми организмами. В АТФ имеются чрезвычайно богатые энергией фосфатные связи, благодаря которым АТФ и является участником реакций обмена веществ, играя роль внутриклеточного макроэргического вещества [1]. Заслуживает внимания факт, что большинство внеклеточных эффектов АТФ производит в микромолярной дозе, то есть в концентрации меньшей в 1000 раз, чем необходимо для внутриклеточного метаболизма [2].

Еще в 1929 году A.Drury и A.Szent-Gyorgy описали эффекты адениновых соединений на сердце млекопитающих. В 60-ые годы прошлого века было убедительно показано, что во многих висцеральных тканях наблюдаются нейрогенные ответы, которые не блокируются адрено – и холинергическими блокаторами. Вскоре было установлено, что эти ответы опосредуются пуриновыми нуклеотидами и нуклеозидами, преимущественно АТФ и аденозином, в связи с чем исследуемые не-адренергические, не-холинергические нервы были названы "пуринергическими", а рецепторы, на которые воздействует АТФ и ее производные – пуринорецепторами [3, 4].

Название "пуринергическая" происходит от слова "пурины" – большого класса органических соединений, содержащих два гетерочленных цикла. К пуринам относятся аденозин, гуанин, мочевая кислота, ксантины и многие другие соединения. Следует понимать, что не все соединения, называемые пуринами, являются медиаторами пуринергической нервной передачи. Верно и обратное – не все агонисты пуринорецепторов относятся к пуринам, так, нуклеотиды с пиримидиновым основанием, например УТФ, могут выступать в качестве нейротрансмиттеров пуринергических нервов [5].

В 70-е годы Дж.Бернсток объединил все имеющиеся на тот момент данные о медиаторных свойствах АТФ и аденозина, опубликовав их, в ставшем сегодня классическим, обзоре "Пуринергические нервы" [3]. В скором времени появился целый ряд исследований, посвященных влиянию адениновых нуклеотидов и нуклеозидов на сердечно-сосудистую систему [6, 7, 8].

Пуринергические синапсы описаны во многих органах и тканях. АТФ также является котрансмиттером, сопровождая ряд классических нейромедиаторов, и секретируются при активации пресинаптической мембраны в синаптическую щель.

На сегодняшний день установлено, что АТФ может выделяться различными клетками, включая нервные [9, 10, 11], гладкомышечные [12, 13, 14], клетки сердечной мышцы [15, 16], эндотелиальные клетки [17], тромбоциты и лимфоциты [18]. Более того, установлено, что на поверхности клеток практически всех тканей имеются специальные рецепторы для пуринов – пуринорецепторы.

Первую классификацию пуринорецепторов в 1978 году предложил Дж.Бернсток. Согласно этой классификации пуринорецепторы делились на 2 большие группы: P1- и P2-пуринорецепторы, каждая из которых включает в себя еще несколько подгрупп [19, 20].

Согласно современной классификации Номенклатурного комитета Международного фармакологического общества (IUPHAR) все пуринорецепторы делятся на два больших семейства – P1- и P2-пуринорецепторы [21, 20]. P1-пуринорецепторы характеризуются большей чувствительностью к аденозину и АМФ, чем АТФ и АДФ [22]. Термины "аденозиновый рецептор" и "P1-рецептор" являются синонимами [23]. Аденозиновые рецепторы затем были подразделены

еще на четыре подтипа: А<sub>1</sub>, А<sub>2А</sub>, А<sub>2В</sub> и А<sub>3</sub>. Это разделение основывалось на определении молекулярной структуры, распространения в тканях и фармакологическом профиле рецепторов. Р1-рецепторы представляют собой метаболитные рецепторы, связанные с G-белком. В качестве вторичных посредников этих рецепторов выступают цАМФ и инозитолтрифосфат [22, 23].

Р2-рецепторы подразделяются на 2 больших семейства – Р2Х и Р2У [24], в каждом из которых выделяют несколько подтипов рецепторов, обозначаемых соответствующими цифрами. В настоящее время описано 7 подклассов Р2Х-рецепторов (Р2Х<sub>1-7</sub>). В семействе Р2У-рецепторов нумерация идет от одного до четырнадцати, однако действительно клонировано только восемь подтипов [25].

Для Р2Х-пуринорецепторов наиболее активным агонистом является  $\alpha$ ,  $\beta$ -метилен АТФ, а для Р2У-2-метилтио-АТФ [22]. Так как порядок активности лигандов может зависеть от скорости их гидролиза до неактивных соединений, которая может значительно различаться в зависимости от вида ткани. Более четким доказательством для подразделения Р2 рецепторов на подтипы служит наличие селективных блокаторов. Сейчас известны селективные антагонисты как для Р2Х, так и Р2У-рецепторов. Для Р2Х-рецепторов –  $\alpha$ ,  $\beta$ -метилен АТФ (десенситизирующее действие), пиридоксальфосфат-6-азофенил-2', 4'-дисульфоновая кислота (PPADS) и другие [23], для Р2У пуринорецепторов – реактив голубой 2 [22].

По механизму действия Р2Х-рецепторы являются лиганд-оперирующими ионными каналами, регулирующими вход ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> [26]. Возбуждение Р2Х-рецепторов приводит, очевидно, к двоякому эффекту. Во-первых, через эти каналы происходит непосредственный вход Na<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> в клетку. Во-вторых, вызванная этим деполяризация клеточной мембраны, приводит к дополнительному току Ca<sup>2+</sup> внутрь клетки через потенциал-зависимые кальциевые каналы. Оба механизма в итоге приводят к сократительному ответу [26].

Р2Х-рецепторы – это белковые комплексы, состоящие из 379-472 аминокислот, встроенных в мембрану в форме поры, охватывающей два гидрофобных трансмембранных домена с большой внеклеточной гидрофильной петлей [2, 23].

В сердце на кардиомиоцитах обнаружены ионотропные Р2Х<sub>1,2,4,5</sub> и метаболитные Р2У<sub>1,2,4,6,11</sub> рецепторы [2, 4].

Проведенный иммуногистохимический анализ сердца крысы [27] показал широкое распространение Р2Х<sub>2</sub>, Р2Х<sub>5</sub> подтипов ионотропных АТФ рецепторов на сарколемме кардиомиоци-

тов, а Р2Х<sub>1</sub> и Р2Х<sub>3</sub> подтипов вблизи синаптических контактов нейронов с кардиомиоцитами. Исследования микросрезов ткани из разных частей сердца крысы выявили присутствие Р2Х<sub>1</sub>, Р2Х<sub>2</sub>, Р2Х<sub>4</sub>-пуринорецепторов в предсердии и Р2Х<sub>4</sub>-рецепторов в желудочке [2].

Представление о физиологической роли пуриновых рецепторов будет неполным, если не рассмотреть их взаимоотношения с рецепторами для других нейромедиаторов. Важную роль в активности вегетативной нервной системы играет АТФ [28]. Следует отметить, что при стимуляции парасимпатических нервов выделяется как классический медиатор ацетилхолин, так и котрансмиттер АТФ [4, 29, 30].

Первые предположения о модулирующей роли АТФ в холинергической передаче в сердце было высказано Т.М.Турпаевым (1965). В 1971 году G.Burnstock предположил, что АТФ может играть роль котрансмиттера в симпатической нервной системе [4]. В последние годы получены данные о том, что АТФ может выполнять функцию возбуждающего нейротрансмиттера и нейромодулятора в центральной и периферической нервной системе [31, 32, 23]. К настоящему времени получены убедительные данные о том, что АТФ является котрансмиттером, сопровождающим ряд классических нейромедиаторов и выделяется при активации пресинаптической мембраны в синаптическую щель [31].

Содержание АТФ с ацетилхолином в синаптических везикулах является общепризнанным фактом. Соотношение между содержанием АТФ и ацетилхолина в синаптической везикуле в ЦНС составляет 1:7 [24]. На пресинаптическом уровне АТФ и ее производные оказывают преимущественно ингибирующее воздействие на секрецию медиатора через различные рецепторные системы, постсинаптический эффект имеет, по видимому, обратный знак.

В адренергическом синапсе соотношение АТФ/НА более низкое, чем в холинергическом. Исходя из этого, можно предположить, что модулирующая роль внеклеточной АТФ наиболее вероятно именно в холинергических синапсах. Данный пуринергический агент способен быть эндогенным модулятором синаптической передачи, ограничивая секрецию основного медиатора и увеличивая эффективность активации постсинаптической мембраны. При накоплении больших концентраций АТФ и продукта его гидролиза аденозина следует ожидать преобладание ингибиторных пресинаптических эффектов. Такое сочетание пре- и постсинаптических эффектов АТФ можно рассматривать как своеобразный "режим экономии", когда при меньшем количе-

стве выделенного АХ может поддерживаться высокая надежность нервно-мышечной передачи [31]. Эта особенность эффектов АТФ выявлена в нервно-мышечном синапсе лягушки.

Рассмотренные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что пуринергические вещества являются модуляторами адренергических и холинергических воздействий, при этом пуринорецепторы могут находиться на кардиомиоцитах, эфферентных и афферентных нервных волокнах. Дальнейшие исследования в этой области позволят выявить значительную роль пуриновых соединений в целостном организме.

Есть данные о том, что чувствительные к АТФ P2 рецепторы находятся на мембране волокон *n.vagus* [33] и симпатических нервных окончаниях [27]. Экзогенная АТФ стимулирует афферентные нервные терминалы в сердце, в частности афферентные вагусные волокна, вызывая отрицательные хронотропные эффекты после двусторонней ваготомии. Внеклеточная АТФ модулирует освобождение нейротрансмиттеров в сердце, ослабляя положительный инотропный эффект НА на изолированных предсердиях морских свинок [28].

Неослабевающий интерес к изучению влияния АТФ на деятельность сердечно – сосудистой системы и сердца в частности основывается на различных, нередко противоположных результатах, полученных разными исследователями в экспериментах как *in vivo*, так и *in vitro*. АТФ проявляет множество эффектов в сердечно-сосудистой системе, включающие положительный хронотропный и инотропный эффект, возбуждение входа кальция в сердечном миоците [34, 35, 36]. АТФ в небольших концентрациях вызывает кратковременную тахикардию, а в высоких замедляет работу сердца, вызывая атрио-вентрикулярную блокаду [2].

Можно предположить, что прямые и модулирующие эффекты АТФ на эффекты основных медиаторов определяются созреванием центральных, эфферентных симпатических и парасимпатических регуляторных влияний на сердце, его рецепторным аппаратом, т.е. зависят от этапов биологического созревания организма.

Онтогенетический аспект пуринергической регуляции сердца практически не изучен и рассматривался только на взрослых организмах и в период их неонатального развития.

Наличие синтезированных в последнее время агонистов и антагонистов рецепторов АТФ дают возможность более детального исследования влияния АТФ и его производных на сократи-

мость миокарда, одну из основных функций сердца в постнатальном онтогенезе.

В экспериментах *in vivo*, в нашей лаборатории установлено, что АТФ может усиливать или ослаблять эффект ацетилхолина на хронотропную деятельность сердца в зависимости от возраста крыс [37].

Нами также установлено что у крыс 14-, 21-, 56-, 100-суточного возраста АТФ и его производные вызывают положительный инотропный эффект в разных концентрациях. Стойкий аналог АТФ – 2-метилтио-АТФ, селективный агонист P2X<sub>1</sub>-рецепторов – β, γ-метиленаТФ оказывают дозозависимое увеличение сократимости предсердий и желудочков у 14-100-суточных крыс. Впервые установлено, что чувствительность P2X-рецепторов миокарда к АТФ и его производным снижается в постнатальном онтогенезе. Использование селективных блокаторов P2X- и P2Y-рецепторов позволило определить семейство пуринорецепторов участвующих в положительном инотропном эффекте на 2-метилтио-АТФ. Применение селективных агонистов и блокаторов P2X-пуринорецепторов доказало, что в положительном инотропном эффекте принимают участие P2X<sub>1</sub>- рецепторы. Впервые показано, что функциональная активность P2X-пуринорецепторов на разных этапах онтогенеза различна и от 14- к 100-суточному возрасту в предсердиях снижается, а в желудочках возрастает.

Совместное действие агонистов P2-рецепторов 2-метилтио-АТФ и M2-холинорецепторов карбахолина на сократимость миокарда крыс в постнатальном онтогенезе показало, что активация P2-рецепторов может усиливать или ослаблять эффекты карбахолина в зависимости от возраста животных. У 14-суточных крыс 2-метилтио-АТФ усиливает угнетающий эффект карбахолина, а у 21-суточных крысят активация P2-рецепторов снижает отрицательный эффект карбахолина на сократимость миокарда. Активация M2-холинорецепторов ингибирует инотропный эффект пурина во всех возрастных группах [38, 39].

\*\*\*\*\*

1. Champe. Lippincott's Illustrated Reviews // Biochemistry. – Third edition, 2004. – 127 p.
2. Vassort G. Adenosine 5'-Triphosphate: a P2-Purinergetic Agonist in the Myocardium // *Physiol. Rev.* – 2001. – V.81. – No.2. – P.767-806.
3. Burnstock G. Purinergetic nerves // *Pharmacol. Rev.* – 1972. – V.24. – P.508-581.
4. Burnstock G. Purinergetic signaling // *Brit. J. Pharmacol.* – 2006. –V.147. – P.172-187.
5. O'Connor S.E. Further subclassification of ATP receptors based on agonist studies // *Trends. Pharmacol. Sci.* – 1991. – V.12. – P.137-141.

6. Gaddun J.H., Holtz P. The localisation of the action of drugs on the pulmonary vessels of dogs and cats // *J.Pharmacol.* – 1933. – V.77. – P.139-158.
7. Gillespie JH. The biological significance of the linkages in adenosine triphosphoric acid. *J Physiol (Lond)* 80: 345-359, 1934.
8. Richards F.A., The effect of adenylic acid and adenosine on the human heart and blood vessels // *J.Physiol.* – 1934. – V.81. – P.10.
9. White T.D. Characteristics of neuronal release of ATP // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 1984. –V.8. – P.487-493.
10. White T.D., McDonald W.F. Neural release of ATP and adenosine // *Biological Actions of extracellular ATP* / Eds. Dubyak G.R., Fedan J.S. – New York: N.Y.Acad.Sci, 1990. – P.287-299.
11. Zimmermann H. Signaling via ATP in the nervous system // *Trends Neurosci.* – 1994. – V.17. – P.420-426.
12. Katsuragi T. Neuro-transmitter-mediated ATP release from smooth muscle // *Role of Adenosine and Adenine nucleotides in the Biological System* / Eds. Imai S., Nacazawa M. – Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1991. – P.407-414.
13. Kurz A.K. Release of ATP in rat vas deferens: origin and role of calcium // *Naunyn-Schiedeberg's Arch. Pharmacol.* – 1994. – V.350. – P.491-498.
14. Shinozuka K. Release of endogenous ATP from the caudal artery in rats with arterosclerosis // *Eur. J. Pharmacol.* – 1994. – V.292. – P.115-118.
15. Forrester T. Release of ATP from heart // *Biological Actions of Extracellular ATP* / Eds. Dubyak G.R., Fedan J.S. – New York: N.Y. Acad. Sci, 1990. – P.335-352.
16. Katsuragi T., Tokunaga T., Ohba M. et al Implication of ATP released from atrial, but not papillary, muscle segments of guinea-pig by isoproterenol and forskolin // *Life Sci.* – 1993. – V.53. – P.361-367.
17. Pearson J.D. Differential regulation of adenine nucleotide catabolism by ectonucleotidases of vascular endothelial and smooth muscle cells // *Role of Adenosine and Adenine nucleotides in the Biological system* / Eds. Imai, Nacazawa M. – Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1991. – P.313-320.
18. Gordon J.L. Extracellular ATP: effects, Sources and fate // *Biochem. J.* – 1986. –V.233. – P.309-319.
19. Burnstock G. A basis for Distinguishing two types of purinergic receptors // *Cell Membrane Receptors For Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach* / Eds. Straub R.W., Bolis L. – New York: Raven Press, 1978. – P.107-118.
20. Freedholm B.B. Towards a revised nomenclature for P1 and P2 receptors // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1997. – V.18. – P.79-82.
21. Burnstock G. Numbering of cloned P2 purinoceptors // *Drug. Dev. Res.* – 1996. – V.38. – P.67-71.
22. Зиганшин А.У. Фармакология рецепторов АТФ. – Москва, 1999. – 209 с.
23. Ralevic V. Receptors for Purines and Pyrimidines // *Pharmacol. Rev.* – 1998. –V.50. – No.3. – P.413-492.
24. Abbracchio M.P. Purinoceptors: Are there families of P2X b P2Y purinoceptor? // *Pharmacol. Ther.* 1994. – Vol.64. – P.445-475.
25. Hoyle C.H.V. Transmission: Purines // *Autonomic Neuroeffector Mechanisms* / Eds. G.Burnstock, Hoyle C.H.V. – Chur: Harwood Academic Publishers, 1992. – P.367-407.
26. Benham C.D., and Tsien R.W. A novel receptor-operated Ca<sup>2+</sup>-permeable channel activated by ATP in smooth muscle // *Nature:* 275-278, 1987.
27. Hansen M.A., Bennet M.R., Barden J.A. // *J. Auton. Nerv. Syst.* – 1999. – V.78. –P.1-9.
28. Pelleg A. Autonomic neural control of cardiac function: modulation by adenosine and adenosine 5' – triphosphate // *Am. J. Cardiol.* – 1997. – V.79 (12A). – P.11-14.
29. Sillinsky E.M. Gtrzanich V. ATP mediates excitatory synaptic transmission in mammalian neurons // *Br. J. Pharmacol*, 1992. – P.762-763.
30. Sillinsky E.M., Redman RS. Synchronous release of ATP and neurotransmitter within milliseconds of a motor nerve impulse in the frog. – *Journal of Physiology*, 1996. – P.815-822.
31. Гиниатуллин Р.А. Модулирующая роль АТФ в нервно-мышечном синапсе / Р.А.Гиниатуллин, Е.М.Соколова // *Рос. Физиол. Журн. им. И.М.Сеченова.* – 1998. – Т.84. – №10. – С.1132-1139.
32. Evans RJ, and Surprenant A. P2X receptors in autonomic and sensory neurons. – *Semin Neurosci* 8: 217-223, 1996.
33. McQueen D.S. Activation of P2X receptors for adenosine triphosphate evokes cardiorespiratory reflexes in anaesthetized rats // *J. Physiol.* – 1998. – V.507. – No.3. – P.843-855.
34. Olsson RA, and Pearson J.D. Cardiovascular purinoceptors // *Physiol Rev* 70: 761 – 845, 1990.
35. Ralevic V. Roles of P2-purinoceptors in the cardiovascular system / Ralevic V., Burnstock G // *Circulation.* – 1991. –V.84. – P.1-14.
36. Scamps F, and Vassort G. Pharmacological profile of the ATP-mediated increase in L-type calcium current amplitude and activation of a non-specific cationic current in rat ventricular cells // *Br J Pharmacol:* 982 – 986, 1994.
37. Хамзина Е.Ю. Роль P2X-пуринорецепторов в сердечной деятельности крыс в: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Казань, 2006. – 149 с.
38. Аникина Т.А., Билалова Г.А., Зверев А.А., Ситдииков Ф.Г. Влияние АТФ и его аналогов на сократимость миокарда крыс в онтогенезе // *Бюлл. эксперим. Биол. и мед.* – 2007. – №7. – С.7-10.
39. Зверев А.А., Аникина Т.А., Ситдииков Ф.Г. Участие P2X-рецепторов в положительном инотропном эффекте миокарда крыс в онтогенезе // *Бюлл. эксперим. Биол. и мед.* – 2008. – №2. – С.133-135.

## PURINORECEPTIONS OF THE HEART

**T.A.Anikina, A.A.Zverev, F.G.Sitdikov, I.N.Trofimova**

The given work deals with ATP, purinergic regulation in the heart activity. We describe categorization, action and importance of purinoreceptors in the work of the heart. We state that ATP can intensify or weaken the carbachol effect on chronotropic and inotropic heart activity depending on the age of the rats.

**Key words:** purinoreceptors of the heart, chronotropic heart activity, inotropic heart activity, rat

\* \* \* \* \*

**Аникина Татьяна Андреевна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии и физиологии Татарского государственного гуманитарно-педагогического университета

**Зверев Алексей Анатольевич** – ассистент кафедры анатомии и физиологии Татарского государственного гуманитарно-педагогического университета

**Ситдиков Фарит Габдулхакович** – доктор биологических наук, заведующий кафедрой анатомии и физиологии Татарского государственного гуманитарно-педагогического университета

**Трофимова Ирина** – аспирант кафедры анатомии и физиологии Татарского государственного гуманитарно-педагогического университета

E-mail: [bf@tgpu.ru](mailto:bf@tgpu.ru)