

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего  
образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины  
имени Н.Э.Баумана»

На правах рукописи

**НЕДОРЕЗОВА РЕГИНА СЕРГЕЕВНА**

**ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА СЕРОТОНИНА В ЭМБРИОНАЛЬНОМ  
ПЕРИОДЕ НА РЕГУЛЯЦИЮ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА В РАННЕМ  
ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС**

03.03.01 – физиология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук, доцент  
**Файзрахманов Рамиль Наилевич**

Казань – 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>4</b>
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>11</b>
1.1 Влияние серотонина на развитие в эмбриональном периоде онтогенеза .....	11
1.2 Нейрональные и периферические ферменты синтеза серотонина. Механизм действия пара-хлор-фенил-аланина.....	15
1.3 Структурные и функциональные особенности сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе .....	22
1.4 Кальциевые каналы в регуляции сократимости миокарда.....	32
<b>2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....</b>	<b>37</b>
<b>2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>37</b>
2.1.1 Объект исследования.....	37
2.1.2 Метод исследования сократимости миокарда крыс <i>in vitro</i> .....	37
2.1.3 Методика определения показателей насосной функции сердца...	42
2.1.4 Статистическая обработка результатов исследования .....	44
<b>2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....</b>	<b>45</b>
2.2.1 Показатели инотропной функции миокарда крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза .....	45
2.2.2 Влияние острого введения блокатора триптофангидроксилазы пара-хлор-фенил-аланина на показатели инотропной функции сердца 14-дневных крысят.....	48
2.2.3 Влияние норадреналина на инотропную функцию сердца крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой	

триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза.....	52
2.2.4 Показатели насосной функции сердца крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза .....	60
2.2.5 Влияние дантролена на инотропную функцию миокарда крысят 10-суточного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза.....	64
2.2.6 Влияние метоксиверапамила на инотропную функцию миокарда крысят 7-дневного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза .....	72
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	80
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	91
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	120
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ.....</b>	121

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Нейрогормон серотонин (5-НТ) синтезируется в ЦНС и на периферии с помощью ферментов триптофангидроксилазы (Thp) и декарбоксилазы ароматических L-аминокислот, Thp является скорость-лимитирующим специфическим ферментом синтеза 5-НТ [237; 196]. Thp кодируется двумя изоформами – trh1, trh2, которые экспрессируются в APUD-системе желудочно-кишечного тракта и в ЦНС соответственно [237; 79]. Неселективным блокатором обоих видов Thp является PCPA (пара-хлор-фенил-аланин). Однократное системное воздействие PCPA в дозе 300 мг/кг через 24 часа у 4-дневных крысят снижает концентрацию 5-НТ в крови на 22,6% [21].

Влияние 5-НТ на клетки и органы-мишени качественно меняется в онтогенезе. У взрослых крыс 5-НТ изменяет функции органов, являясь медиатором в мозге и гормоном на периферии [229], однако в эмбриональном периоде проявляется его необратимое морфогенетическое влияние [150; 48].

5-НТ влияет как на формирование сердечно-сосудистой системы в эмбриональном периоде [116; 178, 176, 177; 40], так и на функции сердца в постнатальном онтогенезе [48; 116; 178, 177; 29].

Влияние серотонина на сократимость миокарда реализуется через метаботропные 5-HT<sub>2</sub> и 5-HT<sub>4</sub> рецепторы [116; 177]. Их активация вызывает положительный инотропный, люзитропный, хронотропный эффекты, а также тахикардию и фибрилляцию предсердий посредством движения ионов кальция через кальциевые каналы [116; 21].

В сердце распространены кальциевые каналы L-типа [247; 18; 40], которые блокируются метоксиверапамилом [244]. На мемbrane саркоплазматического ретикулума (СПР) находятся внутриклеточные кальциевые каналы [133; 18; 121]. Их активация приводит к выходу ионов кальция из СПР, что увеличивает силу

сокращения миокарда. К ним относятся рианодиновые рецепторы (RyR) и рецепторы инозитол-1,4,5-трифосфата (IP<sub>3</sub>-рецепторы) [47; 240]. Блокатором рианодиновых рецепторов является дантролен [234]. Показано влияние дантролена на RyR2 рецепторы СПР при нарушениях в работе сердца, в том числе при сердечной недостаточности [161].

Несмотря на то, что 5-НТ относится к важнейшим сигнальным молекулам, участвующим в регуляции развития сердечно-сосудистой системы, мозга и ряда других органов-мишеней, до сих пор практически отсутствуют данные о влиянии снижения его концентрации в эмбриональном периоде развития на регуляцию инотропной функции сердца в раннем постнатальном онтогенезе.

**Степень разработанности темы.** Существенный вклад в изучение влияния серотонина на развитие сердца внесли зарубежные ученые [147; 116; 178; 176; 177; 40]. Их работы в значительной мере способствовали изучению морфогенетических эффектов серотонина и 5-HT<sub>2B</sub> рецепторов. Исследованию механизмов регуляции функций сердца посвящены многочисленные труды ученых Казанской физиологической школы [30; 17; 13; 2; 16; 12; 8; 14; 20; 3; 1; 33; 10; 11]. Существенный вклад в изучение возрастных особенностей регуляции сердца внесли отечественные ученые [2; 142; 8; 31; 1]. В работах исследователей представлены фундаментальные основы нейрогуморальных механизмов регуляции функций в онтогенезе [17; 2; 29; 16; 8; 14; 9; 212; 1; 34].

Определенное влияние на решение проблемы взаимосвязи сократимости миокарда и серотонина в постнатальном онтогенезе внесли казанские ученые [15; 6; 36; 4; 32; 5]. Их работы в значительной мере способствовали изучению различных серотониновых рецепторов, соотношению серотонина и других вазоактивных факторов в регуляции сердца, определению концентрации серотонина в плазме и тромбоцитах у детей с нормальным развитием, легочной гипертензией, врожденными пороками сердца.

Однако в трудах этих ученых не рассматриваются вопросы влияния изменения уровня серотонина в крови в эмбриональном периоде развития на

инотропную функцию сердца в раннем постнатальном онтогенезе. В значительной мере не исследована роль различных кальциевых каналов в регуляции сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе у крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде. Известно, что кальциевые каналы вовлечены в электромеханическое сопряжение в миокарде, а также участвуют в реализации эффектов при активации серотониновых и адренорецепторов.

**Цель и задачи исследования.** Целью исследования стало изучение влияния блокады фермента синтеза серотонина триптофандроксилазы в эмбриональном периоде на регуляцию сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе крыс.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние хронической блокады триптофандроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза на инотропную функцию миокарда крысят 7- и 14-дневного возраста.
2. Определить влияние острого введения блокатора триптофандроксилазы на показатели инотропной функции сердца крысят 14-дневного возраста.
3. Исследовать влияние норадреналина на инотропную функцию сердца крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофандроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза.
4. Исследовать показатели насосной функции сердца крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофандроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза.
5. Определить влияние дантролена на инотропную функцию миокарда крысят 10-дневного возраста с хронической блокадой триптофандроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза.

6. Исследовать влияние метоксиверапамила на инотропную функцию миокарда крысят 7-дневного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза.

**Научная новизна.** Впервые показано, что сила и длительность сокращения миокарда предсердий и желудочков уменьшается, а длительность расслабления увеличивается у крысят 7- и 14-дневного возраста, в эмбриональном периоде развития которых наблюдалось воздействие блокатора фермента синтеза серотонина. Однако, острое введение пара-хлор-фенил-аланина, являющегося неселективным ингибитором триптофангидроксилазы, не влияет на параметры сократимости миокарда левого желудочка.

Впервые показано влияние дантролена на силу сокращения миокарда левого желудочка у крысят 10-дневного возраста, в эмбриональном периоде находившихся в условиях дефицита серотонина. На фоне эффекта дантролена реакция силы сокращения левого желудочка на серотонин снижена в экспериментальной группе.

Установлено снижение силы сокращения левого желудочка при блокаде L-типа кальциевых каналов метоксиверапамилом, реакция у крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде существенно меньше. Последующее воздействие серотонином оказывает положительный инотропный эффект, однако реакция в два раза снижена у крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде.

Впервые установлено существенное увеличение частоты сердечных сокращений у 14-дневных крысят с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде.

Установлено увеличение силы сокращения миокарда левого желудочка и ударного объема крови под воздействием норадреналина, реакции на норадреналин существенно снижены у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде, по сравнению с одновозрастным контролем.

Впервые выявлено существенное снижение реакции силы сокращения миокарда левого желудочка при действии серотонина у крысят 10- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза в эмбриональном периоде, по сравнению с одновозрастным контролем.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные результаты расширяют представления о роли серотонина в регуляции насосной функции сердца и сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе крыс. Результаты исследования свидетельствуют о существенном влиянии хронической блокады фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде на функции сердца в раннем постнатальном онтогенезе. Результаты экспериментов на 7-, 10- и 14-дневных животных свидетельствуют о наличии особенностей в механизмах регуляции сократимости миокарда, реализуемых через различные типы кальциевых каналов, которые вовлечены в реализацию эффектов норадреналина и серотонина у крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде развития.

Полученные данные рекомендуется использовать для трактовки результатов физиологических и фармакологических исследований функций сердечно-сосудистой системы крыс в зависимости от их возраста. Полученные нами результаты представляют безусловный интерес для фармакологов, изучающих влияние различных препаратов на инотропную функцию сердца с использованием крыс в качестве экспериментальных животных. Материал исследований представляет интерес для специалистов по физиологии животных, возрастной и нормальной физиологии, фармакологии и кардиологии.

Материалы диссертации используются в учебном процессе и научно-исследовательской работе ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет».

**Методология и методы исследования.** Исследование проведено на крысах линии Вистар в раннем постнатальном онтогенезе в возрасте 7-, 10- и 14-дней и

беременных самках. В работе приведены результаты исследований на 348 животных. Для получения самок с датированным сроком беременности использовали 3- 4-месячных крыс, весом 200-250 грамм, к которым вечером подсаживали самцов, а утром брали у них влагалищные мазки. День обнаружения сперматозоидов в мазке считали первыми постнатальными сутками. Животные содержались в условиях вивария, при свободном доступе к воде и пище. Для проведения исследования обработки были применены: тензометрический метод изучения сократимости миокарда *in vitro*, реографический метод определения насосной функции сердца по Кубичеку, статистический метод.

**Положения, выносимые на защиту:**

Хроническая блокада фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы пара-хлор-фенил-аланином в эмбриональном периоде снижает силу сокращения и реакцию миокарда левого желудочка на норадреналин и серотонин в раннем постнатальном онтогенезе крысят.

В раннем постнатальном онтогенезе блокатор рианодиновых рецепторов дантролен влияет на силу сокращения миокарда левого желудочка крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде онтогенеза.

Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка на блокаду L-типа кальциевых каналов существенно снижена у крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Научные выводы теоретически и экспериментально обоснованы, что подтверждается фактическими данными. Они логически вытекают из содержания работы, согласуются с поставленными целью и задачами. Основные результаты диссертации доложены на: 88-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Казань, 26-27 марта 2014 г); 89-ой Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. Казань, 2015 г; II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной А.Ф. Самойлову «Фундаментальная и клиническая электрофизиология сердца.

Актуальные вопросы аритмологии». Казань, 2018 г; международной конференции, посвященной 80-летию заслуженного деятеля науки РФ и РТ Ситдикова Фарита Габдулхаковича «Адаптация развивающегося организма». Казань, 2018 г; Всероссийском конгрессе «Легочная гипертензия 2018», Москва, 10-11 декабря 2018 г; III и V Международных конгрессах, посвященных А.Ф. Самойлову «Фундаментальная и клиническая электрофизиология. Актуальные вопросы аритмологии», Казань, 2019, 2022 г; IX Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы». Казань, 13-15 апреля 2022 г; Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной памяти академиков М.П. Тушнова и А.З. Равилова. «Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК». Казань, 2022 г.

**Публикация результатов исследований.** По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК России и 2 статьи в изданиях Web of Science.

**Объем и структура диссертационной работы.** Диссертация включает разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, список использованной литературы и приложения. Работа изложена на 126 страницах компьютерного текста, содержит 18 таблиц, 29 рисунков. Список литературы включает 253 источника, из них 36 отечественных и 217 иностранных авторов.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Влияние серотонина на развитие в эмбриональном периоде онтогенеза

Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-HT) синтезируется 2-ступенчатым ферментативным путем, в котором триптофан сначала превращается в 5-гидрокси-триптофан (5-HTP) с помощью фермента триптофандигидроксилазы (Trh) [99]. Затем промежуточный продукт (5-HTP) превращается в 5-HT с помощью скорость-лимитирующего фермента декарбоксилазы ароматических L-аминокислот (AADC). Проявление ферментативной активности триптофандигидроксилазы и синтез 5-HT в основном происходят в энteroхромаффинных клетках кишечника, нейронах шва, нейронах сплетения мышечной оболочки кишечника и пинеалоцитах шишковидной железы [155; 150]. 5-HT метаболизируется в печени и в конечном итоге выводится в виде 5-оксииндолуксусной кислоты.

Тромбоциты, представляют биологическую форму запасания серотонина. Тромбоциты синтезируются 5-HT, но получают его, главным образом из крови, после его секреции энteroхромаффинными клетками кишечника. Свободный уровень 5-HT в крови жестко регулируется мембранным переносчиком серотонина (SERT), который располагается в мембране тромбоцитов [223]. SERT переносит 5-HT из крови в тромбоциты и другие клетки [223]. В цитоплазме 5-HT запасается в плотных гранулах с помощью везикулярного транспортераmonoаминов 2-го типа [223; 167]. Концентрация 5-HT в состоянии покоя в тромбоцитах – миллимолярная, а в крови – наномолярная [117; 167].

Хотя 5-HT более известен как нейромедиатор, имеющий ключевую роль в развитии некоторых психических заболеваний, а также вне мозга в качестве многофункциональной сигнальной молекулы, он сможет выступать в качестве фактора роста, эндокринного гормона, или паракринного посредника в процессе развития плода во взрослую особь [148; 80; 81].



Рисунок 1 – Схема локализации серотонина (*адаптировано по* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3547480/>)

**Функциональная роль серотонина.** Первое описание эффектов серотонина было проведено для сердечно-сосудистой системы [239]. Позднее ученые выделили из энтерохромаффинных клеток вещество, вызывающее сокращение клеток гладкой мускулатуры [233]. Это вещество, называемое энтерамин, впоследствии было идентифицировано как 5-гидрокситриптамин, молекула, вызывающая сокращение кровеносных сосудов [201].

Серотонин являетсяmonoаминовым нейротрансмиттером, который играет важную роль в физиологических функциях, таких как: сон, питание, сексуальное поведение, регуляция температуры, боль и познание, а также в патологических состояниях, включая расстройства настроения, тревожность, психоз и болевые расстройства.

Известно, что 5-НТ регулирует сосудистый тонус, функции сердца и кишечника, а также пролиферацию в различных типах клеток, таких как фибробласты [185], лимфоциты [38; 37]. Было показано, что серотонин регулирует дифференцировку остеобластов [111], регенерацию печени [151] и развитие молочных желез [162]. Серотонин использует новый сигнальный путь – серотонилирование, опосредованное внутриклеточным 5-НТ [237]. Селективный

переносчик 5-HT SERT был выявлен в ооцитах мыши и эмбрионах [45]. Этот транспортер необходим в любой локальной серотонинергической сети, так как он обеспечивает надлежащее удаление внеклеточного 5-HT.

Учитывая широкий спектр функций, которые модулирует 5-HT, можно было бы предполагать, что его истощение имеет серьезные последствия для развития и поддержания жизнеспособности, что периферический серотонин имеет значение для правильного развития эмбрионов [81].

Недостаток триптофана материнского происхождения может вызвать плацентарную недостаточность серотонина у плода. В течение ранних периодов развития 5-HT действует как фактор роста, регулирующий развитие собственных и связанных с ними нейронных систем [232]. В качестве трофического фактора, 5-HT регулирует разнообразные процессы, такие как деление клеток, дифференциация, миграция, миелинизация аксонов [107]. Затем, в зрелом мозге, 5-HT действует как модулирующий нейротрансмиттер, оказывающий влияние на познавательную способность, внимание, эмоции, обучение, сон, возбуждение, стресс чувствительность [107; 119; 118].

У млекопитающих серотонин может оказывать свое влияние через различные подтипы рецепторов, которые разделены на семь классов 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub> и далее подразделяются на 14 подклассов. Все эти рецепторы – за исключением 5-HT<sub>3</sub> рецепторов, принадлежащих к семейству ионно-канальных лигандов и проницаемых для Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>, являются G-белковыми рецепторами (GPCRs). Для серотониновых GPCRs были описаны три основных типа первичной связи с G белками. 5-HT<sub>1A</sub>-рецепторы активируют белки G<sub>i</sub>/G<sub>0</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>-рецепторы активируют G<sub>q</sub>/G<sub>11</sub>, а 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> и 5-HT<sub>7</sub> активируют G<sub>s</sub> [203].

В регуляции инотропной и хронотропной функции миокарда и реализации морфогенетических эффектов в эмбриогенезе наиболее важна роль 5-HT<sub>2</sub> и 5-HT<sub>4</sub> рецепторов.

Выделяют следующие подтипы 5-HT<sub>2</sub> рецепторов: 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> и 5-HT<sub>2C</sub>.

Эти рецепторы трационно связаны с G<sub>q</sub> опосредованными путями и активацией фосфолипазы С, которая образует инозитол-трифосфат (IP<sub>3</sub>) и диаглициерин (DAG) и в конечном итоге приводит к увеличению внутриклеточного кальция [207; 206].

5-HT<sub>2A</sub> рецептор, один из наиболее изученных типов рецепторов серотонина, имеет широко распространенную экспрессию в коре головного мозга [242] и участвует в механизме действия галлюциногенов [179], поэтому он является рецепторной мишенью при некоторых психических заболеваниях, в том числе шизофрении, депрессии и синдроме Туретта [168]. Рецепторы 5-HT<sub>2A</sub> опосредуют положительный инотропный эффект 5-HT у крыс [144].

5-HT<sub>2C</sub> рецептор также широко распространен в центральной нервной системе [171; 169]. Селективные 5-HT<sub>2C</sub> агонисты, такие как лоркасерин, оказывают влияние на подавление аппетита [225]. Менее известная способность 5-HT<sub>2</sub> рецепторов – это их способность вызывать пролиферацию клеток [55]. Гас-связанные рецепторы включают подтипы: 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>.

5-HT<sub>4</sub> рецептор связан позитивно с аденилатциклазой, что приводит к увеличению концентрации цАМФ в гиппокампе у морских свинок [63], но может также привести к увеличению кальция, по крайней мере, в миоцитах предсердий у человека [188]. Рецептор 5-HT<sub>4</sub> опосредует положительный инотропный эффект, у людей и, что интересно, у крыс после инфаркта миокарда [200; 180]. 5-HT<sub>4</sub> рецептор широко распространен в организме человека [65], а селективная активация 5-HT<sub>4</sub> может встречаться как в перистальтике кишечника [130], так и при долговременной потенциации в гиппокампе [143]. У мышей с нокаутом 5-HT<sub>4</sub> рецепторов проявляется стресс-индуцированное расстройство кормления [77]. Селективные 5-HT<sub>4</sub> агонисты были предложены для лечения фибрилляций предсердий, синдрома раздраженного кишечника и недержания мочи [70].

Аномалии, связанные с отсутствием одного или нескольких серотониновых рецепторов, варьируется от измененной терморегуляции (5-HT<sub>7</sub>) [115], до тяжелых и летальных аномалий развития сердца, наблюдаемых у 8-дневных

эмбрионов (5-HT<sub>2B</sub>) [178], тогда как мыши нокаутные по 5-HT<sub>2A</sub>, по-видимому, здоровы и обычно фертильны [97]. У нокаутных мышей, в том числе нокаутных по SERT [62], не сообщается о каких-либо конкретных изменениях фертильности, которые оцениваются по размеру помета или другим обычным критериям. Кроме того, поскольку несколько серотонинергических эффектов присутствуют вблизи созревающих ооцитов в яичниках, множество компенсирующих механизмов может противодействовать любому недостающему компоненту серотонинергической сети.

Несмотря на обширные литературные данные, остается открытым вопрос о влиянии дефицита серотонина в эмбриональном периоде развития на регуляцию сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе.

## **1.2 Нейрональные и периферические ферменты синтеза серотонина.**

### **Механизм действия пара-хлор-фенил-аланина**

5-HT образуется из аминокислоты триптофан. На первой, скорость лимитирующей стадии, изофермент триптофандигидроксилаза-1 (Thp-1, главным образом экспрессируется в кишечнике) и изофермент триптофандигидроксилаза-2 (Thp-2, присутствует исключительно в головном мозге) катализируют образование 5-гидрокситриптофана [237]. Этот биохимический путь ингибируется пара-хлор-фенил-аланином.

Существует доказательство наличия ферментов синтеза 5-HT в ткани сердца. Было показано, что пара-хлор-фенил-аланин, ингибитор триптофандигидроксилазы, эффективен для снижения уровня 5-HT в гомогенатах сердца. Авторы полагают, что кардиомиоциты способны синтезировать 5-HT [195].



Рисунок 2 – Схема синтеза серотонина (адаптировано по <https://images.app.goo.gl/XRNmSR7E28cxixbEA>)

Тот факт, что пара-хлор-фенил-аланин уменьшал уровень 5-HT в гомогенате кардиомиоцитов, и что добавление 5-гидрокситриптофана повышало уровень 5-HT, показывает существование в этой системе активных ферментов, а именно триптофангидроксилазы. Используя фармакологический подход также можно определить деградацию 5-HT в сердце. Этот путь очень активен, так как его ингибирирование может значительно повысить уровень 5-HT в клетке [195].

Однократное системное воздействие PCPA в дозе 300 мг/кг через 24 часа у 4-дневных крысят вызывает снижение концентрации серотонина в крови на 22,6% [21]. Истощение 5-HT в мозге плодов пара-хлор-фенил-аланином было связано со снижением концентрации 5-HT в нервных терминалях [149; 146]. Интересно, что индуцированное пара-хлор-фенил-аланином снижение содержания 5-HT в мозге плода затормаживает временный ход закладки нейронов в проекционных зонах серотонинергических нейронов [149; 146]. Эти данные свидетельствуют о том, что любое лечение, которое влияет на уровень серотонина в мозге в эмбриональном периоде онтогенеза, включая стресс, способно влиять на развитие мозга, возможно, необратимо. Аминокислота триптофан в плазме связывается с белками [149], и изменение доли несвязанного триптофана может значительно

сократить количество транспортируемого в мозг триптофана, доступного для синтеза серотонина [221]. Перенос триптофана в мозг осуществляется под влиянием конкуренции с другими нейтральными аминокислотами [192].

Материнский 5-НТ необходим для нормального эмбрионального развития мыши [81]. Интересно, что крысам, которым вводили пара-хлор-фенил-аланин для снижения периферического уровня 5-НТ, в том числе в яйцеводах и матке, не удалось произвести никаких новорожденных, когда это воздействие осуществлялось на ранних стадиях беременности (0-5 дней после спаривания), тогда как позднее введение РСРА приводило к нормальным пометам [39]. Это побудило авторов сделать вывод о том, что ранняя эмбриональная стадия, предшествовавшая имплантации, особенно чувствительна к депривации 5-НТ в репродуктивных тканях [39]. Несмотря на отсутствие специфичности воздействия, используемого для снижения общего уровня 5-НТ, это наблюдение может указывать на возможное объяснение дефектов развития, предположительно при уменьшении уровня 5-НТ в репродуктивных тканях.

Интригует тот факт, что у людей с фенилкетонурией, наследственной болезнью, приводящей к аномальному накоплению аминокислоты фенилаланина и, косвенно, к значительно более низким уровням циркулирующего на периферии 5-НТ [187], имеют высокую частоту самопроизвольных абортов, задержку внутриутробного развития и другие аномалии плода [106]. Эти эмбриональные дефекты имеют строго материнское происхождение, поэтому возникают из внутриутробной среды [98], в которой происходит истощение 5-НТ.

Самое интересное, что у нокаутных по *Thp1* мышей (ферменту, ответственному за синтез серотонина на периферии), не выявлено проблем, связанных с рождаемостью [81], но тщательное исследование выявило ранние эмбриональные отклонения. Эти данные, полученные от нокаутных по триптофандроксилазе 1 мышах, свидетельствует о том, что серотонин действительно необходим для нормального эмбрионального развития [81].

Важно отметить, что снижение эмбрионального роста, наблюдаемого у развивающихся эмбрионов матерей, нокаутных по *Thp1* - / -, проявляется на стадиях намного раньше, чем у эмбрионов, обычно начинающих производить свой собственный 5-НТ [81]. Это подтверждает мнение о том, что так называемая «донервная» серотонинергическая регуляция участвует в очень ранних эмбриональных стадиях [50; 72; 73].

Серотонинергическая сеть и вовлеченные клетки материнской гранулезы, которые, как известно, экспрессируют *Thp1* и, предположительно, продуцируют местный 5-НТ [45], представляют собой непосредственную потенциальную мишень серотонинергической регуляции, генерируемой у матерей, нокаутных по *Thp1*, что приводит к наблюдаемым ранним эмбриональным аномалиям [81]. Помимо рецепторно-опосредованных механизмов, сам 5-НТ или его вторичные мессенджеры, такие как ионы  $\text{Ca}^{2+}$  или цАМФ, могут перемещаться из одной клетки в другую через щелевые контакты, которые присутствуют, когда ооциты находятся в зародышевой стадии пузырька до того, как активизация выброса лютеинизирующего гормона инициирует восстановление мейоза.

Таким образом, имеются многочисленные экспериментальные данные о влиянии PCPA, вводимого в эмбриональном периоде онтогенеза, на морфофункциональное созревание нервной системы. Однако практически отсутствуют данные о влиянии блокады триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза на морфофункциональные особенности сердца в раннем постнатальном онтогенезе.

**Физиологическая роль триптофангидроксилазы.** Снижение общей массы триптофана в плазме матерей (свободный + альбумин-связанный) в течение третьего триместра беременности объясняется индукцией 2,3-диоксигеназы индоламина (IDO). Концепция истощения триптофана предполагает, что отторжение плода предотвращается иммунной активацией, ускоряющей деградацию триптофангидроксилазы матери по пути кинуренина индукцией цитокином 2,3-диоксигеназы индоламина.

Основная часть триптофана метаболизируется 4 путями, наиболее важным из которых является путь печеночной кинуренин-никотиновой кислоты, составляющей более 95% метаболизма триптофандигидроксилазы [194;173]. Этот путь контролируется первым ферментом триптофандигидроксилазы – 2,3-диоксигеназой (TDO, ранее триптофандигидроксилазой-пирролазой) [194; 173]. TDO регулируется индукцией глюкокортикоидов, включающей синтез фермента *de novo*, активацию и стабилизацию субстрата с помощью триптофана, активацию кофактора посредством гема и ингибирование обратной связи с помощью NAD(P)H [194; 173]. Активность триптофандигидроксилазы 2,3-диоксигеназы также может ингибироваться эстрогенами и прогестероном, и это имеет особое значение для назначения триптофана во время беременности [224].

У людей, мышей, крыс и некоторых, но не всех других видов животных, триптофандигидроксилаза 2,3-диоксигеназа существует в двух формах: активный гемсодержащий голофермент и неактивный бесферментный апофермент в примерно равных пропорциях. При индукции глюкокортикоидов только одна половина вновь синтезируемого апофермента становится гем-насыщенной, тогда как после активации триптофана или гема, большая часть фермента существует как активный голофермент.

Ингибирование триптофандигидроксилазы 2,3-диоксигеназы прогестероном или эстрадиолом включает предотвращение конъюгации апофермента с гемом и инактивацию гема-кофактора [224]. 2,3-диоксигеназа индоламина индуцируется в основном интерфероном- $\gamma$  [50; 53] и в меньшей степени интерфероном  $\alpha$  [54], и его активность может быть модулирована как про- и противовоспалительными цитокинами, так и медиаторами [246]. Полагают, что уменьшение триптофана после индукции 2,3-диоксигеназы индоламина интерфероном- $\gamma$  лежит в основе противопаразитарных, антибактериальных и антитромиферативных действий этого основного цитокина [49; 213].

Плазменные неэстерифицированные жирные кислоты (NEFA) представляют собой физиологические вытеснители альбумин-связанной

триптофангидроксилазы. Таким образом, изменения в альбумине и плазменных неэстерифицированных жирных кислотах могут модулировать связывание триптофана и, следовательно, доступность.

Снижение доступности триптофана матери физиологически невыгодно для роста и развития плода. Потребность в протеинах и их синтезе увеличиваются во время беременности [227], очень важен перенос аминокислот матери к плоду [227; 82], а различия в распределении триптофана между матерью, плодом и новорожденным соответствуют этим требованиям [113; 174; 132]. Таким образом общее количество триптофана в пупочной плазме эмбриона вдвое больше, чем в плазме матери [113], что было бы невозможно, если бы у матери была индуцирована IDO (или TDO). Свободный триптофан, однако, схож у матери и плода, потому что связывание альбумина низкое у матери, но с высоким содержанием у плода, возможно, также из-за увеличения синтеза у эмбрионов [251]. При рождении как свободный, так и общий уровень триптофана плазмы у младенца почти вдвое больше, чем у матери [132], и за этим следует более медленное снижение свободного, в отличие от общего триптофана в течение первых 5 дней жизни. Таким образом, доступность и транспортировка к плоду также улучшены, и основную роль играет триптофангидроксилаза.

Изучение распределения триптофана между печенью, кровью, плацентой и плодом было проведено у беременных мышей на диете, дополненной триптофаном с 2 дозами (2% и 5%) [131]. Уровень триптофана в плаценте был сопоставим с таковым в крови матери, подтверждая, таким образом, прямой путь поступления и, возможно, также предполагая, что любая потенциальная индукция IDO в плаценте не модулирует триптофан.

Увеличение общего (свободного + альбумин-связанного) триптофана у плода было больше, чем в крови или плаценте, что еще раз продемонстрировала преимущественное увеличение триптофана у эмбриона во время беременности. В то время как исход беременности у мышей, чей рацион был дополнен 2% триптофаном, был подобен таковому в контроле без добавления 5% триптофана –

дополненная диета, однако, связана с более низким весом плаценты и высокой смертностью у щенков.

Примечательно, что добавление здоровым женщинам 5 г триптофана ежедневно не вызывает никаких неблагоприятных эффектов на беременность [172]. Поэтому маловероятно, что умеренная материнская иммунная активация во время беременности может снизить общую массу материнской плазмы триптофандроксилазы до какой-либо значительной степени. Это более вероятно, учитывая, что комбинированная активность IDO во внепеченочных тканях очень мала, лишь приблизительно от 5% до 15% от активной печеночной TDO [246]. Большее снижение общей массы триптофана от 34% до 48% [78; 174; 141; 152; 52; 51] не может быть объяснено ускоренной деградацией триптофандроксилазой и поэтому, скорее всего, является результатом увеличения поглощения тканями после выделения альбумина. В совокупности это говорит о том, что индукция плаценты IDO вряд ли повлияет на доступность материнской триптофандроксилазы.

Как указано выше, общая масса триптофана в плазме матери составляет половину от общей массы в пуповине [174]. Этот избыток триптофана может неблагоприятно повлиять на беременность, что подтверждается результатом, когда мышей содержат на диете, обогащенной триптофаном 5%, но не на 2% [131]. 5%-ная диета триптофаном вызывает значительное снижение веса плаценты, плода и щенка (тела) и в 25% случаев отторжения плода. В этом исследовании [131], контролировали триптофан только в печени, крови, плаценте и плоде.

При нормальной беременности у контрольных мышей на 2% диете триптофаном была определена концентрация триптофана в крови от 100 до 150 мкМ, в плаценте от 100 до 320 мкМ и в плоде от 175 до 360 мкМ. Напротив, мыши, получавшие 5%-ную диету триптофаном, демонстрировали более высокие показатели концентрации триптофана от 700 до 900 мкМ в крови, от 770 до 870 мкМ в плаценте и от 1200 до 1400 мкМ у плода.

Заманчиво предположить, что еще одним преимуществом усиленного синтеза эмбрионального альбумина [251] является ограничение доступности избытка триптофана для производства кинуренина.

Таким образом, имеются экспериментальные данные о влиянии триптофана на эмбриональное развитие. Однако недостаточно исследований, посвященных увеличению концентрации триптофана или снижению концентрации серотонина вследствие блокады триптофангидролксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза на морфофункциональные особенности сердца в раннем постнатальном онтогенезе.

### **1.3 Структурные и функциональные особенности сократимости миокарда в раннем постнатальном онтогенезе**

Сердечная мышца обладает всеми свойствами поперечнополосатых мышц, а именно: 1) возбудимостью; 2) проводимостью; 3) сократимостью. Но ей присуще особое свойство – автоматия. Однако основным свойством для выполнения насосной функции является способность сердечной мышцы к сокращению, то есть сократимость.

Механизм мышечного сокращения представляет собой процесс электромеханического сопряжения, представляющего из себя связь электрических процессов или генерацию и распространение потенциала действия с укорочением мышцы. Структурной единицей сердечной мышцы является миофибрилла. Важнейшими компонентами миофибриллы являются Т-система (цистерны саркоплазматического ретикулума и Т-трубочки), митохондрии и ядра. Функциональной единицей является саркомер.

Саркомеры отделяются Z-пластинками. Даже при рассматривании мышцы в световом микроскопе видна поперечная исчерченность мышц или чередование

светлых и темных полосок. Согласно теории Хаксли, эта исчерченность обусловлена четко структурированным расположением актиновых и миозиновых нитей - сократительных белков, входящих в состав каждой миофибриллы. Середину каждого саркомера занимают несколько тысяч «толстых» нитей миозина диаметром 10 нанометров (нм). На концах саркомера располагаются около 2000 тонких нитей актина, прикрепленных к Z-пластиинке.

В покоящейся мышце концы нитей слабо перекрываются, поэтому диск с миозиновыми нитями выглядит темным, а диск с тонкими нитями актина - светлым. При сокращении мышцы темные диски не изменяются, а светлые - укорачиваются. Нити актина скользят между нитями миозина. Это и дало основание Хаксли предложить теорию «скольжения» нитей для процессов укорочения мышечных волокон при сокращении.

Актиновые нити представляют собой двойную спираль. В продольных бороздках спиралей располагаются нитевидные молекулы белка-тропомиозина. С шагом в 40 нм к молекуле тропомиозина прикрепляется молекула другого белка – тропонина С, который способен связывать ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Миозиновая нить имеет на боковых сторонах выступы, так называемые поперечные мостики, расположенные под углом 120°. Мостик состоит из головки и шейки, которая представляет собой шарнирное соединение. Головка миозина может поворачиваться вокруг своей оси и имеет АТФ-азную активность. У многих млекопитающих имеются существенные различия в структуре миозина, наиболее значимые из них заключаются в гидролитических и функциональных характеристиках. Если рассматривать биохимические исследования, то АТФазная активность изоформы V1 показала статистически значимое превышение значений, чем у V3 [56; 230; 157]. В частности, активность  $\text{Ca}^{2+}$  – АТФазы V1 превышала в два раза, чем у V3 [42; 56; 153; 245].

Однако, исследование активности  $\text{K}^+$ -АТФазы сердечных изоформ миозина различий не показала [153; 245].

Работы Банерджи и Моркина [57] по изучению АТФазной активности сердечного миозина, выделенного от гипертиреоидных кроликов, содержащий в основном изоформу V1, выявили превышение показателей в 1,7 раза по сравнении с активностью сердечного миозина от эутиреоидных кроликов, где преобладала изоформа V3.

Изучение максимальных скоростей укорочения мышц ( $V_{max}$ ) и АТФазной активности миозина, выделенного из соответствующей мышцы, производится при регистрации постнагрузочного сокращения трабекул и сосочковых мышц [59].

Моэн и др. [163] в своих работах проводил сравнительный анализ  $V_{max}$  мышечного препарата из правого желудочка кролика с моделированной гипертрофией миокарда и АТФазной активностью миозина из того же препарата с соответствующими характеристиками мышцы физиологического контроля.

В случае гипертрофированного миокарда определялось статистически значимое снижение изучаемых параметров из чего сделали вывод, что скорость укорочения прямо пропорциональна скорости образования поперечных мостиков миозина.

Schwartz et al. [209] провели параллель между максимальной скоростью укорочения папиллярной мышцы крысы, в основном содержащей изомиозин V1, и папиллярной мышцы с преобладающим изомиозином V3 и выявили, что  $V_{max}$  первой мышцы превышала показатели в 4-6 раз, чем  $V_{max}$  второй мышцы. При исследовании папиллярной мышцы кролика данное соотношение составило ~ 6 [189].

Полученные результаты свидетельствуют о прямой зависимости между активностью АТФазы и  $V_{max}$ , однако, учитывая различия в активации, эти характеристики не могут являться пропорциональными [208].

При изучении данных, приведенных в литературе, единого мнения о влиянии содержания сердечного миозина на способность сердечной мышцы к увеличению силы сокращения не выявлено.

Моэн и др. [163] не показали значимых различий между максимальными силами, генерируемыми фибриллами, выделенными из правых желудочек эутиреоидных (V3) и гипертреоидных (V1) кроликов.

На модели с гипертрофией миокарда у крыс были получены аналогичные результаты. Изучение миофибрилл желудочек мелких грызунов и человека статистически значимых различий в работе  $\alpha$ -МНС-содержащих миофибриллы мышей и  $\beta$ -МНС-содержащих миофибрилл человека показано не было [217].

Последовательные эксперименты по измерению силы сокращения миокарда крупных животных выявили различия в продуцировании силы более чем в 2 раза в сердечной мышце, содержащей в основном  $\beta$ -МНС, чем в мышце с преобладанием  $\alpha$ -МНС [43], однако, статистически значимых различий по величине изометрической силы не отмечалось [100]. Изоформный состав как миозина, так и тропомиозина важен для взаимодействия сердечного миозина с актин–тропомиозиновой нитью. Другими словами, миозин и тропомиозин взаимно влияют на актин–миозиновое взаимодействие в сердечной мышце. Взаимное влияние изоформ миозина и тропомиозина в сердечной мышце может иметь важное значение для обеспечения ее эффективности в онтогенезе и при патологиях [182].

Сокращение сердечной мышцы происходит посредством регуляции поступления ионов ( $\text{Ca}^{2+}$ ) в цитозоль. Соединение  $\text{Ca}^{2+}$  с комплексом тропонина на миофиламенте актина происходит путем перемещения филамента тропомиозина с мест соединения актина, способствуя взаимодействию миозина с актином, чтобы инициировать систолу и мышечное сокращение. Данный  $\text{Ca}^{2+}$  высвобождается из саркоплазматического ретикулума (СР), места накопления  $\text{Ca}^{2+}$  в мышцах [216]. Для расслабления мышц и наступления диастолы внутриклеточный  $\text{Ca}^{2+}$  возвращается обратно в СР для последующих сокращений [112].

Саркоплазматический ретикулум представляет собой цепь трубочек в скелетных и сердечных мышцах. Эта специализированная форма

гладкомышечного эндоплазматического ретикулума (ЭР) отвечает за поддержание гомеостаза внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . Структура СР представляет собой разделение на две хорошо охарактеризованные области: терминальные цистерны - первичное высвобождение ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , и продольные канальцы, где скапливаются ионы  $\text{Ca}^{2+}$  [214; 90]. В состав клеток сердечной и скелетной мускулатуры входят поперечные трубочки (Т-трубочки) [175], которые являются продолжением клеточной мембранны и тесно связаны с терминальными цистернами, главным местом накопления и высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$  [60]. Продольный СР представляет собой тончайшие выступы, проходящие между терминальными цистернами и соединением СР, являющиеся местом накопления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [120]. Канальцы продольного СР обвивают миофибриллы (сократительные единицы клеток), а диады располагаются между терминальными цистернами и Т-трубочками в области Z-линий, тогда как терминальные цистерны являются специфической формой соединения СР. Сообщалось, что структурная изменчивость диад (комплекс Т-трубочки и терминальной цистерны) связана с высвобождением  $\text{Ca}^{2+}$  в кардиомиоцитах [184]. Отмечено, что небольшое количество  $\text{Ca}^{2+}$ , поступающего при деполяризации кардиомиоцитов, достаточно для открытия  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных каналов в СР, что ведёт к заметному высвобождению  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму. Далее этот кальций соединяется с тропонином, способствуя взаимодействию актина и миозина для возникновения миофибриллярного сокращения. С другой точки зрения, деполяризация кардиомиоцитов связана со снижением внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  за счёт его накопления в СР, что приводит к релаксации миофибрилл. Эти события в процессах возбуждения, сокращения и расслабления сердца, включающие высвобождение и поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  из СР, были описаны и в других работах [166; 67]. Проведено наблюдение следующих 13 SR-белков, которые принимают участие в высвобождении, поглощении, соединении, регуляции, и обратном захвате  $\text{Ca}^{2+}$  в СР. Поскольку некоторые из этих белков выполняют множество функций, их описание не следует какому-либо определенному порядку.

АТФаза саркоплазматического ретикулума (SERCA<sub>2</sub>) выполняет важную роль в передаче  $\text{Ca}^{2+}$  сигналов [128] и участвует в различных аспектах функции клетки [76]: транскрипция [101], апоптоз, экзоцитоз, передача сигнала [89] и клеточная подвижность [199]. SERCA отвечает за движение  $\text{Ca}^{2+}$  против концентрационного градиента между СР и цитозолем. Существует три гена, кодирующих 3 изоформы SERCA, которые по-другому соединены в 11 вариантах (SERCA1a–1b, –2a–2c, и –3a–3f) [68; 44]. Было продемонстрировано, что СР содержит в своей мембране  $\text{Ca}^{2+}$ -насосы, отвечающие за перекачку ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в трубчатую сеть; они необходимы, поскольку ионы  $\text{Ca}^{2+}$  не могут пассивно проходить из цитоплазмы в СР [235]. Данные  $\text{Ca}^{2+}$ -насосы имеют несколько форм с SERCA2a, (причём SERCA2a встречаются в основном в сердечной и скелетной мускулатуре) [160; 145]. Отметим, что SERCA состоит из 13 субъединиц, M1–M10, A, P и N. Субъединицы M1–M10 расположены в мембране СР и отвечают за соединение ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , тогда как субъединицы A, P и N расположены на внешней поверхности мембраны и отвечают за соединение АТФ [197]. Когда 2 иона  $\text{Ca}^{2+}$ , а также одна молекула АТФ связываются с цитоплазматической стороной насоса, насос открывается, так как гидролиз АТФ высвобождает фосфатную группу. Следовательно, высвобожденная фосфатная группа затем связывается с насосом, вызывая конформационные изменения, позволяя цитозольной стороне насоса открываться и позволяя двум ионам  $\text{Ca}^{2+}$  проникнуть внутрь. Из-за этого изменения формы цитоплазматическая сторона открывается, и два иона  $\text{Ca}^{2+}$  поступают в СР [226]. Кроме того, сообщалось, что нокаут гена, специфичного для кардиомиоцитов, приводил к тому, что мыши оставались в живых в течение 10 недель [46; 154]. Также было замечено, что через 4 недели после нокаута гена содержание белка SERCA2 снизилось до <5% без каких-либо изменений сердечной функции, и только через 7 недель у этих мышей начала развиваться тяжелая сердечная дисфункция [46]. Поэтому предполагалось, что какой-либо дефект в SERCA2 является следствием развития сердечной сократительной дисфункции.

Фосфоламбан (PLB) (белок, содержащийся в сердечной мышце) находится в продольном СР и регулирует кальциевые насосы в клетках сердечной мышцы. На протяжении многих лет большинство исследователей продемонстрировали, что фосфоламбан является белком-ингибитором в сердечной функции SERCA2. Этот механизм осуществляется путем соединения фосфоламбана и SERCA, снижением его сродства с  $\text{Ca}^{2+}$  и предотвращением поглощения кальция саркоплазматическим ретикулумом. Следовательно, невозможность удалить  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля предотвращает расслабление сердца, что приводит к снижению мышечного сокращения [211]. Тем не менее, такие гормоны как адреналин и норадреналин, могут предотвратить ингибицию SERCA фосфоламбаном [83]. Соединение этих гормонов с бета-1-адренорецептором на клеточной мемbrane увеличивает образование циклического аденоцимонофосфата (цАМФ), активирует протеинкиназу А (ПКА), фосфорилирует фосфоламбан, предотвращает ингибицию SERCA, что в результате способствует расслаблению [170] сердечной мышцы.

Функционирование сердца происходит на ранних стадиях развития как у млекопитающих, так и у низших позвоночных [219]. Что касается мышей, их уровень пролиферации кардиомиоцитов высокий в раннем эмбриогенезе, но далее постепенно снижается до 10–12-го дня эмбрионального развития (E10–12) - в то время, когда сердце практически сформировано [92; 219]. Похожая динамика отмечена и у теломеразы: ее активность выявляется в сердечной ткани плода человека до 12-й недели эмбрионального развития, что имеет сходство с гистологической дифференцировкой миобластов сердца в кардиомиоциты [183]. Данное наблюдение согласуется с тем фактом, что к шестому месяцу внутриутробного развития морфологический вид сердечной мышцы почти такой же, как и у взрослого человека [183].

Но до сих пор непонятна полная картина динамики теломеразной активности в процессе эмбрионального развития сердца. Как известно, у мышей она регистрируется на E11.5 [41] и E16.5 [186], а у крыс на E10 и E20. Кроме

этого, активность теломеразы в процессе развития сердца крыс снижается после E10 [66]. Динамика инактивации теломеразы в развивающемся сердце крысы и человека имеет схожие закономерности, т.к. сердце крысы становится полностью сформированным функционирующим органом к E16.

Пролиферация достигает первой минимальной точки в сердце новорожденных мышей при P0 (т.е. 0-й день постнатального развития; P0) [123]. В течение всего периода система, отвечающая за клеточный цикл, переходит из эмбрионального в постнатальный режим. До рождения количество кардиомиоцитов увеличивается, а после практически не имеет изменений. В этот же период появляются тетраплоидные и двуядерные кардиомиоциты [123]. При P3 (т.е. 3-й день постнатального развития) снова дает о себе знать пик митотической активности, связанный с увеличением количества двуядерных кардиомиоцитов (до 80%) и уменьшением количества одноядерных кардиомиоцитов. В то же время как в двуядерных, так и в одноядерных популяциях кардиомиоцитов наблюдается переход в фазу G1 (G1- фаза, первая из трёх фаз клеточного цикла эукариотических клеток) и прекращение клеточного цикла [123]. После P3 (т.е. 3-й день постнатального развития) отмечается сильное уменьшение количества кардиомиоцитов, вступивших в митоз [215; 123].

Если посмотреть на активность теломеразы в сердце на данной стадии развития, мы видим взаимосвязь со снижением пролиферации, и с появлением двуядерных и полиплоидных кардиомиоцитов. Следовательно, можно предположить, что негативная регуляция теломераз важна для поддержания постоянной остановки клеточного цикла кардиомиоцита [66]. Таким образом, у новорожденных мышей наблюдается поэтапное подавление теломеразной активности; и к P2 (т.е. 2-й день постнатального развития) активность снижается более чем на 65% [186]. К третьему месяцу постнатального развития отмечается очень малое количество клеток, экспрессирующих ген Tert [204]. Многие исследования показывают резкое снижение теломеразной активности у новорожденных мышей по отношению к сердцу при E11.5, а после P10 оно

наблюдается крайне редко [41]. Экспрессия Tert имеет схожую динамику, указывая на возможный механизм подавления теломеразной активности через ее катализическую субъединицу. Как и в предыдущих данных, было обнаружено, что через пять дней после рождения теломеразная активность в сердце крысы составляла всего 20% от активности на E10. Теломеразная активность отсутствовала в сердце при P20 (т.е. 20-й день постнатального развития) и оставалась ниже предела выявления до четырехмесячного возраста [58; 41].

В отношении распределения теломеразной активности в сердце, экспрессия Tert обнаруживается в популяции клеток, включая кардиомиоцит, фибробласты и эндотелиальные клетки [66].

Снижение потенциала пролиферации кардиомиоцитов положительно взаимодействует с истощением теломер у новорожденных мышей [204]. Быстрое сокращение длины теломер происходит в течение первых двух недель после рождения. Далее длина теломер не меняется. В первые дни после рождения пролиферирующие кардиомиоциты имеют наиболее длинные теломеры, чем непролиферирующие кардиомиоциты. Однако после P15 (т.е. 15-й день постнатального развития) эти различия уже сводятся к нулю [41].

Имеются несколько возможных причин резкого уменьшения длины теломер у новорожденных мышей. Теломеры укорачиваются во время S фазы по причине неспособности механизма репликации ДНК поддерживать концы линейных молекул ДНК [114]. В итоге отсутствие теломеразы предопределяет потерю запасов теломер в кардиомиоцитах в период их постнатальной репликации ДНК.

Наиболее впечатляет высокая скорость потери теломер, начиная при P1 (то есть 1-й день постнатального развития), приводящая к значительному увеличению повреждения ДНК в теломерах в течение одной недели [41]. В связи с этим иной причиной повреждения и дальнейшей потери теломер может быть появление активных форм кислорода (АФК) в кардиомиоцитах после метаболического перехода от анаэробного гликолиза к митохондриальному окислительному фосфорилированию в течение первой недели после рождения.

Следовательно, установлено, что у новорожденных мышей повышается уровень активных форм кислорода, который может привести к увеличению числа очагов повреждения ДНК (замена гуанина на 8-оксо-7,8-дигидрогуанин) между Р4 и Р7 [198]. Такие изменения особенно заметно проявляются на промоторных участках генов с высоким содержанием GC (GC-состав – доля гуанина (G) и цитозина (C) среди всех остатков нуклеотидов рассматриваемой нуклеотидной последовательности.) [109]. Кроме того, теломеры имеют высокое содержание GGG, что делает их идеальной мишенью для атак активных форм кислорода [135]. И из-за повышения уровня окислителей и нарушений в теломерах активируется реакция на повреждение ДНК, что ведет к остановке пролиферации за счет активации ингибитора клеточного цикла p21 (p21 является ингибитором циклин-зависимой киназы (СК1), который способен ингибировать все комплексы циклин / CDK [198; 41]. Если происходит снижение концентрации кислорода или уровня активных форм кислорода, то пролиферация (разрастание ткани организма путём размножения клеток делением) кардиомиоцита в раннем постэмбриональном периоде расширяется вместе с увеличением мононуклеарных клеток по сравнению с двух- и многоядерными кардиомиоцитами [198]. АФК могут быть связаны с ингибированием теломеразы вследствие повреждения ДНК теломер или окисления дезоксинуклеотидов, что показывает резкое падение активности теломеразы после рождения [102].

Механизм, который способствует остановке клеточного цикла в постнатальных кардиомиоцитах, приводит к тетраплоидизации - появлению двуядерных клеток и ингибированию пролиферации.

Хромосомы с нефункционирующими теломерами сливаются друг с другом, образуя мосты во время митоза. Эти хромосомные мостики могут разрушаться под действием исходящих от полюсов анафазы сил, что мешает дальнейшей пролиферации [190]. Уменьшение количества теломер в кардиомиоцитах мышей связано с появлением хромосомных мостиков между дочерними ядрами: через восемь дней после рождения в кардиомиоцитах обнаруживают наличие

хромосомных мостиков, что связано с уменьшением длины теломер. Потенциальный геномный дисбаланс, который вызван разрушением хромосомных мостиков в двухъядерных кардиомиоцитах, может быть препятствием для пролиферации [41].

Нокаут гена Terc подтверждает роль теломер в пролиферации. Мыши третьего поколения Terc-null обладают более короткими теломерами, анафазными мостиками, и более низким уровнем пролиферации, в отличии от диких типов при P1 [41].

Таким образом, все системы, участвующие в регуляции сократимости миокарда претерпевают структурные и функциональные изменения.

#### **1.4 Кальциевые каналы в регуляции сократимости миокарда**

Пейсмейкерная активность сердца – это способность специализированных миоцитов генерировать периодические изменения мембранныго потенциала. Поэтому эти клетки называли «пейсмейкерами» [158]. Пейсмейкеры находятся в синоартериальном узле (СА), расположеннном в правом предсердии [88]. В физиологических условиях сердечный импульс генерируется только в СА узле. Этот импульс распространяется от синоартериального узла к проводящей системе сердца, что приводит к сокращению миокарда. По сравнению с остальной частью проводящей системы, СА узел обеспечивает самую быструю автоматию, ингибируя тем самым пейсмейкерные клетки в атриовентрикулярном узле и волокнах Пуркинье. Тем не менее, в случае сердечной недостаточности АВ узел может стать доминантным пейсмейкером. В условиях блокады атриовентрикулярного узла способность генерировать ритм сердца получают волокна Пуркинье, но с меньшей частотой [125].

Генерация автоматии сердечных клеток обусловлена диастолической деполяризацией, или фазой спонтанной медленной диастолической деполяризации потенциала действия. Длительность потенциала в СА узле определяет частоту сердечных сокращений. На уровне отдельной клетки в синоартериальном узле, различные классы ионных каналов плазматической мембранны, саркоплазматического ретикулума и митохондрий способствует генерациям и регуляции автоматизма, но их функциональные роли и взаимодействие все еще до конца не изучены.

Были предложены две различные гипотезы для объяснения механизма сердечной автоматии и модель, которая предусматривает существование «смешного» тока (If),  $Na^+/K^+$  ток, активируемый гиперполяризацией мембранны [69] и регулируемый цАМФ [86] как ключевой молекулой диастолической деполяризации [85]. В этой модели ключевым механизмом диастолической деполяризации является феномен освобождения  $Ca^{2+}$  из СПР, который активируется  $Na^+/Ca^{2+}$  обменником в доминирующем узле автоматии. Этот  $Na^+/Ca^{2+}$  обеспечивает входящий ток, способный деполяризовать мембранный потенциал до порога для генерации потенциала действия [64].

Потенциал-зависимые  $Ca^{2+}$  каналы являются главными проводниками, которые регулируют вход внеклеточного  $Ca^{2+}$ . Эти мембранные каналы являются гетеро-олигомерными комплексами, которые содержат порообразующую  $\alpha 1$  – субъединицу и вспомогательные белки, которые влияют на характеристики канала [138].  $\alpha 1$  субъединица состоит из четырех доменов, каждый из которых содержит шесть трансмембранных сегментов [13], датчик напряжения S4 и петлю P, которая обеспечивает ионную селективность [126; 222]. Молекулярные исследования определили три класса  $\alpha 1$  – субъединицы (CaV1-3), и в пределах каждой категории есть несколько подтипов. CaV1/CaV2 субъединицы, в которых обнаруживают электрические свойства, характерны для  $Ca^{2+}$  каналов, активирующихся высоким напряжением (то есть типы L-, P/Q-, N-, R). Напротив,

CaV3 субъединица  $\text{Ca}^{2+}$  каналов активируется при низких напряжениях (например, тип Т) [159; 122].

Активация L-типа  $\text{Ca}^{2+}$  каналов важна для развития тонуса, блокада этих каналов не полностью снимает тонус. Такие наблюдения позволяют утверждать, что существуют дополнительные пути входа  $\text{Ca}^{2+}$ , которые помогают поддерживать внутриклеточную концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и тем самым уровень миогенного тонуса [236; 87; 139]. Необходимо отметить, что типы Cav3.1 и CaV3.2  $\alpha 1$  субъединицы Т-типа  $\text{Ca}^{2+}$  каналов, присутствуют в резистивных артериях [127; 181]. Т-тип  $\text{Ca}^{2+}$  каналов активируется более негативным потенциалом  $\sim 10\text{-}15$  мВ по сравнению с L-типов  $\text{Ca}^{2+}$  каналов и поэтому способен регулировать вход  $\text{Ca}^{2+}$  при гиперполяризации [193].

**Механизм действия дантролена.**  $\text{Ca}^{2+}$  каналы рианодиновых рецепторов (RyR) расположены в СПР мышц и играют главную роль в их сокращении и  $\text{Ca}^{2+}$  сигнализации [96]. У млекопитающих есть три изоформы таких рецепторов: RyR: RyR1, RyR2 и RyR3.

RyR1 преимущественно экспрессируется в скелетных мышцах, в то время как RyR2 в основном экспрессируется в сердечной мышце и головном мозге. Экспрессия RyR3 широко распространена, но ее выраженность не высока [220]. RyRs также играют важную роль в патогенезе мышечных нарушений. Встречающиеся в природе мутации в RyR1 связаны с злокачественной гипертермией [156], в то время как мутации в RyR2 связаны с желудочковой аритмией и внезапной остановкой сердца.

Дантролен является блокатором кальциевых каналов и, как правило, не влияет на здоровый миокард [91; 104; 253]. RyR2 в сердце содержит предполагаемый сайт для связывания дантролена. [140; 238], тем не менее, этот сайт может быть плохо доступен при нормальных условиях [191]. Пептиды, которые дестабилизируют взаимодействие междоменов внутри RyR, приводят к улучшению функции канала, приводящего к аномальному диастолическому освобождению  $\text{Ca}^{2+}$  [140; 228; 218]. Пептиды, которые «распаковывают» RyR,

освобождая тем самым дантроленовые сайты, в последующем восстанавливают нормальную функцию канала. Таким образом, взаимодействие между доменами внутри RyR может являться предполагаемым механизмом нарушения кругооборота  $\text{Ca}^{2+}$  при сердечных заболеваниях.

Было показано, что дантролен препятствует избыточному освобождению  $\text{Ca}^{2+}$  при сердечной недостаточности [140; 164], катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардии [218; 129; 71] и после фибриляции желудочков [250]. В экспериментах на животных с моделями болезней сердца, дантролен оказывает положительное инотропное действие на сердце за счет увеличения амплитуды  $\text{Ca}^{2+}$  токов в кардиомиоцитах и силы сокращения [140]. Противоположные данные о том, что ингибитор RyR приводил к положительному инотропному эффекту, объясняются восстановлением запасов  $\text{Ca}^{2+}$  в SR. Так как диастолическое освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  приводит к истощению запасов  $\text{Ca}^{2+}$  в SR [84], предотвращая утечку  $\text{Ca}^{2+}$  из SR путем стабилизации RyR, этот процесс сдвигает баланс  $\text{Ca}^{2+}$  в сторону накопления  $\text{Ca}^{2+}$ , восстанавливает содержание  $\text{Ca}^{2+}$  и увеличение активности белка в ответ на потенциал действия.

**Механизм действия метоксиверапамила.** Локальное увеличение внутриклеточной концентрации  $[\text{Ca}^{2+}]$  ( $\text{Ca}^{2+}$  спарки) могут запускаться с помощью мембранный деполяризации в кардиомиоцитах. Амплитуда  $\text{Ca}^{2+}$  тока в сарколемме снижается под влиянием метоксиверапамила. Эти, вызванные деполяризацией  $\text{Ca}^{2+}$  спарки напоминают по амплитуде и пространственно-временным характеристикам спонтанные  $\text{Ca}^{2+}$  спарки, ранее наблюдавшиеся в состоянии покоя. Наблюдения подтверждают идею о том, что  $\text{Ca}^{2+}$  спарки являются результатом активации функциональных элементарных единиц выхода  $[\text{Ca}^{2+}]$  из саркоплазматического ретикулума.

Синхронная активация большого количества  $\text{Ca}^{2+}$  спарков может объяснить повышение амплитуды и замедление временного хода электрически вызванных  $[\text{Ca}^{2+}]$  токов, а также наличие пространственных неоднородностей  $[\text{Ca}^{2+}]$  токов. Эти данные позволяют предложить модель для электромеханического

сопряжения, в которой амплитуда  $[Ca^{2+}]$  тока регулируется путем вариации числа вероятности элементарных единиц высвобождения  $Ca^{2+}$  из СПР, а также количеством  $Ca^{2+}$ , освобожденного каждой единицей.

Ченг и др. [75] сообщили о новом феномене в метаболизме внутриклеточной концентрации  $[Ca^{2+}]$  в сердечной мышце крыс: локальное увеличение  $[Ca^{2+}]$  до  $\approx 150$  нмоль/л происходит спонтанно и длится  $\approx 40$  мс, даже в состоянии покоя в здоровых клетках желудочков. Эти « $Ca^{2+}$  спарки» возникают в результате спонтанного открытия для освобождения  $Ca^{2+}$  каналов в саркоплазматическом ретикулуме, то есть рианодиновых рецепторах. Амплитуда и динамика активации единиц освобождения  $Ca^{2+}$  спарков показывают, что они могут быть связаны с активацией минимального функционального освобождения  $Ca^{2+}$  в СПР.

Вызванные деполяризацией  $[Ca^{2+}]$  токи возникают в результате электромеханического сопряжения [74], которое запускается входом  $Ca^{2+}$  через сарколемму (главным образом через  $Ca^{2+}$  каналы L-типа) [94; 241] также называемыми дигидропиридиновыми рецепторами. Этот вход  $Ca^{2+}$  усиливается освобождением  $Ca^{2+}$  из СПР, которое называется кальций-вызванное освобождение  $Ca^{2+}$  [95], чтобы обеспечить достаточное количество ионов  $Ca^{2+}$  для полноценного сокращения. Таким образом, несмотря на разницу во временной динамике и  $[Ca^{2+}]$  токи и  $Ca^{2+}$  спарки возникают в результате активации рианодиновых рецепторов в СПР.

Влияние серотонина и норадреналина на сократимость миокарда связаны с активацией рецепторов, образованием вторичных посредников и увеличением внутриклеточной концентрации ионов кальция. Происходит ли изменение в функционировании L-типа кальциевых каналов и RyRs, расположенных в СПР кардиомиоцитов в результате блокады триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде развития крысят требует дальнейшего исследования.

## 2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### 2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 2.1.1 Объект исследования

Для экспериментов использовали белых лабораторных крыс линии Wistar трех возрастных групп (7, 10, 14 дней), содержащихся в виварии. Животные находились по 5-7 особей в стандартных пластиковых клетках, у всех были одинаковые условия содержания. Весь необходимый инвентарь, а также клетки, поилки и кормушки систематически обрабатывались специальными дезинфицирующими средствами. В качестве подстилки использовали глиняный наполнитель или опилки, которые менялись по мере загрязнения, но не реже одного раза в неделю. Кормление осуществлялось специализированным витаминизированным кормом для грызунов. Критериями хорошего содержания животных считались: хорошая прибавка массы тела, многочисленный приплод, своевременное появление шерсти и двигательной активности.

Для разведения исключали родственные связи, использовали специально отобранных животных. После случки беременных самок рассаживали в отдельные клетки. Для получения датированной беременности самцов подсаживали на ночь к самкам, при обнаружении сперматозоидов во влагалищных мазках считали первым днем беременности.

#### 2.1.2 Метод исследования сократимости миокарда крыс *in vitro*

На проведение исследования получено разрешение Этического комитета МЗ Республики Татарстан.

Сократимость миокарда в эксперименте *in vitro* изучали на полосках миокарда предсердий и желудочков. Эксперименты проводились на установке PowerLab (ADInstruments), датчик силы MLT 050/D (ADInstruments).

В качестве наркоза использовали 25% раствор уретана (Sigma) из расчета 800 мг/кг массы животного, который вводился внутрибрюшно. При выборе в качестве наркотического вещества уретана нами учитывались сроки наступления наркоза, отсутствие влияний на деятельность сердечно-сосудистой системы крыс, используемых нами в качестве объекта исследований. Показателями наступившего наркоза являлись: исчезновение мигательных движений век при легком раздражении внутреннего угла глазной щели, ровное дыхание, прекращение колебаний вибрисс.

Таблица 1 – Состав рабочего раствора (раствор Кребса-Рингера)

Вещество	Концентрация	Молярная масса	На 1 л (г)	На 0,5 л (г)	На 2 л (г)
NaCl	125 mM	58,5 г/моль	7,3	3,65	14,6
KCl	2,5 mM	74,5 г/моль	0,186	0,093	0,373
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 mM	120 г/моль	0,12	0,06	0,24
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2 mM	111 г/моль	0,3	0,15	0,6
MgCl <sub>2</sub>	1 mM	95 г/моль	0,095	0,048	0,19
Глюкоза (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	11 mM	180 г/моль	2,0	1,0	4,0

Наркотизированную крысу фиксировали на специальном, освещенном операционном столе, затем вскрывали грудную клетку, сердце быстро извлекали и помещали в чашку Петри с оксигенированным физиологическим раствором при подключенном стимуляторе "ЭСЛ-2" (Россия) с частотой стимулов 6 в минуту, амплитудой сигнала 10 мВ, продолжительностью стимула 5 мс. У наркотизированных уретаном крысят вынимали сердце, препарировали мышечные полоски миокарда длиной 2-3 мм и диаметром 0,8-1,0 мм, которые погружали в оксигенированный физиологический раствор. Препарат фиксировали

вертикально одним концом к датчику силы, другим к точке опоры, затем каждый препарат погружался в отдельный резервуар объемом 25 мл, в которые подавался рабочий раствор при температуре 28°.

Аэрация раствора осуществлялась в течение 30-60 минут. Для поддержания pH в пределах 7,3-7,4 в раствор добавляли основной и/или кислотный буферы Trizma (все вещества Sigma, USA). Препараты стимулировались через платиновые электроды с характеристиками, приведенными выше. Эксперимент регистрировался на персональном компьютере при помощи программного обеспечения Chart 4.0.

После погружения препаратов в резервуары следовал период приработки в течение 40 – 60 минут, в ходе которого мышечным полоскам постепенно придавалось оптимальное натяжение. Оптимальным натяжением считалась такая точка растяжения препарата, после преодоления которой начиналось снижение силы сокращения препарата.

По окончании периода приработки в течение 5 мин регистрировали исходные параметры сокращения, затем при помощи микропипетки добавляли в резервуар вещество первой концентрации и в течение 20 мин регистрировали параметры сокращения миокарда. По окончании 20 мин из резервуара сливался рабочий раствор с веществом, препарат трехкратно промывался физиологическим раствором в течение 5 мин, затем 5 мин регистрировали исходные показатели сокращения перед добавлением следующей концентрации вещества. Вторую и третью концентрации вещества добавляли по той же схеме, что и первую.

Амплитудно-временные характеристики сокращения рассчитывали по методике S. Laer [144]. Инотропную реакцию миокарда в ответ на стимуляцию веществами рассчитывали в процентах от исходного показателя. Общую длительность сокращения, длительность фаз сокращения и расслабления выражали в секундах, причем за длительность фаз сокращения и расслабления принимали 90% времени соответственно до и после пика силы [15; 19; 36].

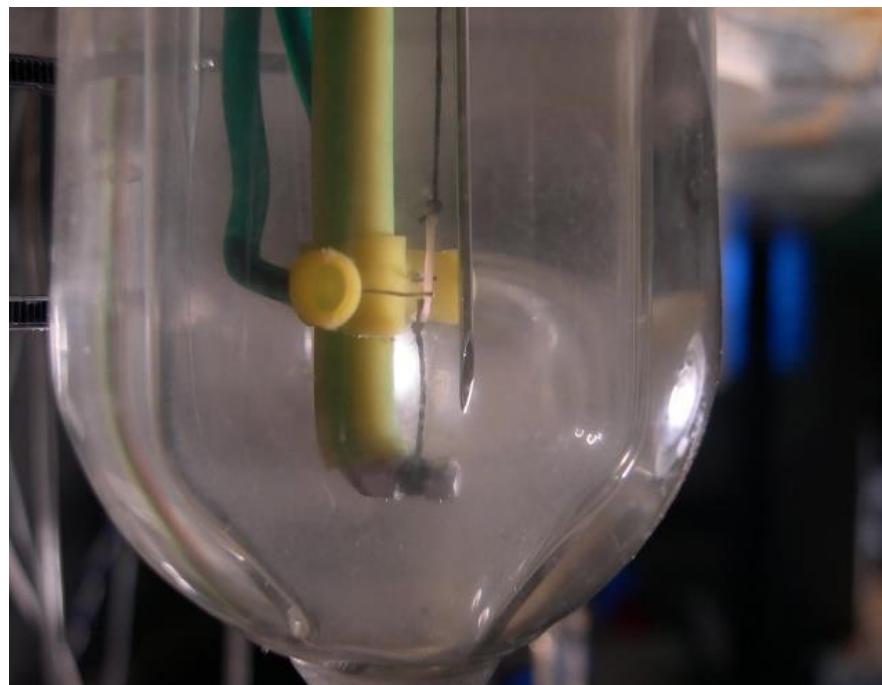


Рисунок 3 – Полоска миокарда в растворе Кребса-Рингера, подвешенная между двумя серебряными электродами.

В работе проведены следующие серии экспериментов:

1) Исследование проведено на беременных самках крыс линии Вистар и их потомстве в возрасте 7 и 14 дней. Беременным самкам, начиная с 11 дня беременности в течение 10 дней, внутрибрюшинно вводили: 1 группа - блокатор синтеза серотонина PCPA (p-chlorophenylalanine; Sigma) в дозе 100 мкг/кг [21; 7]; 2 группа (контроль) - физиологический раствор. У потомства каждой группы в возрасте 7 и 14 дней проводили в условиях *in vitro* исследование инотропной функции миокарда правых предсердия и желудочка, левых предсердия и желудочка.

2) На крысах 14-дневного возраста в условиях *in vitro* проводили исследование инотропной функции миокарда, временных параметров сокращения полосок миокарда правых предсердия и желудочка, левых предсердия и желудочка на PCPA (p-chlorophenylalanine; Sigma) в трех последовательно возрастающих концентрациях - 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M и 10,0  $\mu$ M.

3) Исследование проведено на беременных самках крыс линии Вистар и их потомстве в возрасте 7 и 14 дней. Беременным самкам, начиная с 11 дня беременности в течение 10 дней, внутрибрюшинно вводили: 1 группа - блокатор синтеза серотонина PCPA (p-chlorophenylalanine; Sigma) в дозе 100 мкг/кг; 2 группа (контроль) - физиологический раствор. Оценивали влияние норадреналина (Norepinephrine bitartrate salt; Sigma) в концентрации 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M и 10,0  $\mu$ M [165] на инотропную функцию миокарда левого желудочка в условиях *in vitro*.

4) Исследование проведено на беременных самках крыс линии Вистар и их потомстве в возрасте 10 дней. В первой группе (дефицит серотонина) беременным самкам начиная с 11 дня беременности в течение 10 дней внутрибрюшинно вводили блокатор синтеза серотонина PCPA (p-chlorophenylalanine; Sigma) в дозе 100 мкг/кг, во второй группе (контроль) -внутрибрюшинно вводили физиологический раствор.

1 серия: в условиях *in vitro* оценивали влияние дандролена (Dantrolene sodium salt, BioChem) в концентрации  $10^{-4}$  mM/л, а во второй –  $10^{-3}$  mM/л [164]. а) Дандролен  $10^{-4}$  mM/л + серотонин (5-hydroxytryptamine hydrochloride, Sigma) 1,0  $\mu$ M, б) Дандролен  $10^{-3}$  mM/л + серотонин 1,0  $\mu$ M. По окончании стимуляции препараты миокарда левого желудочка отмывали рабочим раствором в течение 5 минут, затем вводили серотонин в концентрации 1,0  $\mu$ M [165] и в течение 20 минут регистрировали данные.

2 серия: в условиях *in vitro* оценивали влияние серотонина в концентрации 1,0  $\mu$ M с регистрацией данных в течение 20 минут. В последующем в первую группу рабочих растворов вводили дандролен (Dantrolene sodium salt, BioChem) в концентрации  $10^{-4}$  mM/л, во вторую –  $10^{-3}$  mM/л. а) Серотонин (5-hydroxytryptamine hydrochloride, Sigma) 1,0  $\mu$ M + Дандролен  $10^{-4}$  mM/л, б) Серотонин 1,0  $\mu$ M + Дандролен  $10^{-3}$  mM/л.

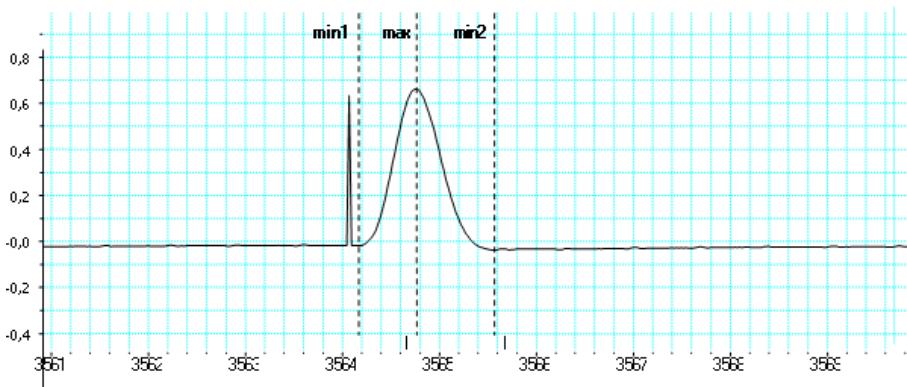


Рисунок 4 – Регистрация сокращения препарата миокарда с помощью программы Chart 5

5) Исследование проведено на 7- дневных крысятах: самкам крыс с 10 дня беременности в течение 10 дней вводили блокатор синтеза серотонина PCPA (p-chlorophenylalanine; Sigma) в дозе 100 мкг/кг. У родившихся крысят в 7- дневном возрасте исследовали показатели инотропной функции сердца и оценивали влияние серотонина (5-hydroxytryptamine hydrochloride, Sigma) в концентрации 1,0 и их реакцию на метоксиверапамил (Methoxyverapamil hydrochloride, Sigma) в концентрации 2,5 mM [243] на фоне введенного серотонина в концентрации 1,0  $\mu$ M, и наоборот.

### 2.1.3 Методика определения показателей насосной функции сердца

Эксперименты по изучению показателей насосной функции сердца проводились у крыс в возрасте 14 дней в зимний период. Исследование проведено на беременных самках крыс линии Вистар и их потомстве в возрасте 14 дней. Беременным самкам, начиная с 11 дня беременности в течение 10 дней, внутрибрюшинно вводили блокатор синтеза серотонина PCPA (p-chlorophenylalanine; Sigma) в дозе 100 мкг/кг в экспериментальной группе, в контрольной - физиологический раствор. Изменения показателей насосной

функции сердца исследовали после введения внутрибрюшинно норадреналина (Norepinephrine bitartrate salt; Sigma) в последовательности 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M, 10,0  $\mu$ M. Объем вводимого раствора для каждой концентрации составил 0,2 мл. Каждую последующую дозу норадреналина вводили через 20 мин после введения предыдущей.

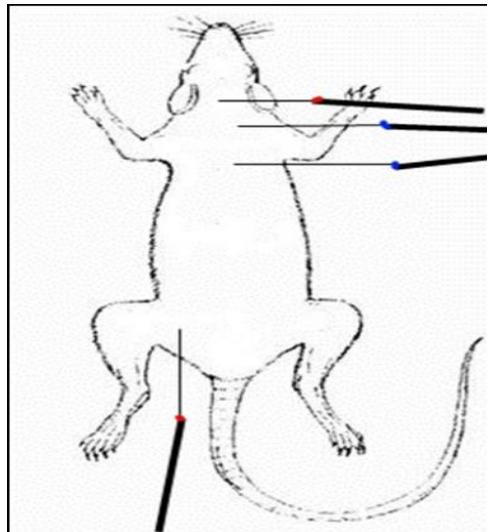


Рисунок 5 – Схема наложения электродов для регистрации ударного объема крови

Крысят наркотизировали уретаном (800 мг/кг). Показателями наступившего наркоза являлись: исчезновения тонуса скелетных мышц и двигательной активности. Запись была начата через 30-60 минут после введения уретана.

Сократительную активность миокарда в эксперименте у крысят изучали *in vivo*. Эксперименты по определению сократимости миокарда проводили на аналогово-цифровом преобразователе MacLab/4e фирмы ADInstruments (рисунок 6), для получения реографических сигналов использовали реограф 4РГ-2М. Результаты анализировали с использованием программы Chart, ClarisWorks и IgorPro на компьютере PowerMacintosh. Игольчатые электроды крепили под кожей.

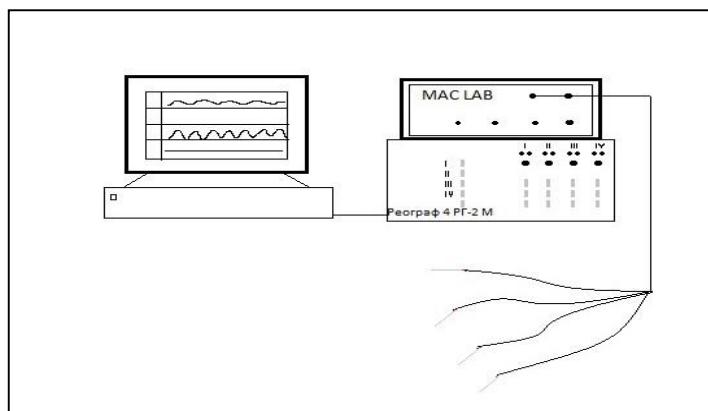


Рисунок 6 – Схематическое изображение установки по определению сократимости миокарда

Регистрация дифференцированной реограммы по методу Кубичека проводилась до введения норадреналина, после введения 1, 2, 3 доз норадреналина в течение 20 минут для каждой дозы. Согласно методике, рассчитаны показатели частоты сердечных сокращений, ударного и минутного объемов крови, а также показатели фазовой структуры сердечного цикла:  $tu$  – период изгнания крови из левого желудочка сердца, с;  $a$  и  $v$  – соответственно время быстрого и медленного изгнания крови, с;  $a\%$  и  $v\%$  - время быстрого и медленного изгнания крови, выраженные в процентах от  $tu$  [30].

#### 2.1.4 Статистическая обработка результатов исследования

Результаты исследования подвергались статистической обработке на персональном компьютере с использованием программ «Microsoft Office Excel 2010» и «Statistica» V.6.0. Все результаты представлены в виде  $M \pm m$ . Достоверность различий между средними величинами оценивалась при помощи  $t$ -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $P \leq 0,05$ .

## 2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.2.1 Показатели инотропной функции миокарда крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофантинидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза

Хроническое введение в эмбриональном периоде PCPA, который является блокатором фермента синтеза серотонина триптофантинидроксилазы, снижает силу сокращения миокарда у 7- и 14-дневных крысят (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели силы сокращения (F, дин) миокарда крысят 7- и 14-дневного возраста экспериментальной и контрольной групп

Группа	Возраст, сут	ЛЖ	ЛП	ПЖ	ПП
Контроль	7	0,91±0,09	0,73±0,04	0,84±0,05	0,71±0,05
PCPA	7	0,52±0,03**	0,41±0,05**	0,46±0,06**	0,42±0,03**
Контроль	14	1,95±0,32	1,22±0,12	2,07±0,31	1,02±0,10
PCPA	14	1,21±0,18 *	0,76±0,16*	1,29±0,21*	0,69±0,13*

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с контролем ( $*P\leq 0,05$ ,  $**P\leq 0,01$ ). Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили пара-хлор-фенил-аланин. ЛЖ – левый желудочек, ЛП – левое предсердие, ПЖ – правый желудочек, ПП – правое предсердие

Выразив показатели силы сокращения у животных с блокадой синтеза серотонина в % от величины у контрольных животных, выявили, что происходит снижение силы сокращения в левом желудочке и левом предсердии на 43%, в правом желудочке на 46%, правом предсердии на 42% у 7-дневных крысят ( $P\leq 0,05$ ). У двухнедельных крысят сила сокращения снижена в левом и правом желудочках и левом предсердии на 38%, а в правом предсердии на 32% ( $P\leq 0,05$ ) соответственно. Помимо силы сокращения к основным показателям инотропной функции миокарда относится длительность сокращения ( $t_{max}$ ).

Таблица 3 – Длительность сокращения ( $t_{\max}$ ) миокарда у крысят 7- и 14-дневного возраста, сек.

Группа	Возраст, сут	ЛЖ	ЛП	ПЖ	ПП
Контроль	7	0,329±0,010	0,325±0,010	0,319±0,006	0,328±0,010
PCPA	7	0,303±0,005*	0,301±0,006*	0,289±0,012*	0,299±0,010*
Контроль	14	0,321±0,010	0,314±0,010	0,315±0,012	0,319±0,009
PCPA	14	0,295±0,008*	0,285±0,006*	0,285±0,005*	0,291±0,010*

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с контролем ( $*P\leq 0,05$ ).

Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили пара-хлор-фенил-аланин. ЛЖ – левый желудочек, ЛП – левое предсердие, ПЖ – правый желудочек, ПП – правое предсердие

Введение PCPA в эмбриональном периоде привело к существенному снижению времени сокращения в левом желудочке на 0,026 сек. (8%), левом предсердии на 0,024 сек. (7%), правом желудочке на 0,03 сек. (9%), правом предсердии на 0,029 сек. (9%) ( $p\leq 0,05$ ) у недельных крысят (таблица 3). Также статистически значимо по сравнению с контролем снижается время сокращения у 14-дневных крысят в левом желудочке на 0,026 сек. (8%), в левом предсердии на 0,029 сек. (9%), правом желудочке на 0,03 сек. (10%), правом предсердии на 0,028 сек. (9%).

Важным показателем инотропной функции миокарда является длительность расслабления ( $t_{\min}$ ). Нами выявлено, что время расслабления у 7-недельных крысят с измененным синтезом серотонина больше в левом желудочке на 0,034 сек. (9%) ( $P\leq 0,01$ ), в левом предсердии на 0,033 сек (6%) ( $P\leq 0,05$ ), правом желудочке на 0,02 сек. (5%) ( $P\leq 0,05$ ), правом предсердии на 0,022 сек. (6%) ( $P\leq 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой.

У двухнедельных экспериментальных крысят длительность расслабления статистически значимо больше в левом желудочке на 0,058 сек. (15%), левом

предсердии на 0,036 сек. (9%), правом желудочке на 0,039 сек (10%), правом предсердии на 0,037 сек. (9%) по сравнению с контрольной группой (таблица 4).

Таблица 4 – Длительность расслабления (t min) у крысят 7- и 14-дневного возраста, сек.

Группа	Возраст день	ЛЖ	ЛП	ПЖ	ПП
Контроль	7	0,399±0,005	0,396±0,006	0,389±0,006	0,387±0,007
PCPA	7	0,433±0,005**	0,418±0,006*	0,409±0,008*	0,409±0,006*
Контроль	14	0,395±0,001	0,385±0,012	0,403±0,009	0,401±0,005
PCPA	14	0,453±0,022*	0,421±0,008*	0,442±0,007**	0,438±0,008**

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с контролем (\* $P\leq 0,05$ , \*\* $P\leq 0,01$ ). Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили пара-хлор-фенил-аланин. ЛЖ – левый желудочек, ЛП – левое предсердие, ПЖ – правый желудочек, ПП – правое предсердие

Выразив показатели общего времени сокращения у животных с блокадой синтеза серотонина в % от величины у контрольных животных, не выявили значимых изменений по сравнению с контрольной группой в левом желудочке, левом предсердии, правом желудочке и предсердии у 7- дневных крысят (таблица 5).

Таблица 5 – Общая длительность сокращения (t total) у крысят 7- и 14-дневного возраста, сек.

Группа	Возраст день	ЛЖ	ЛП	ПЖ	ПП
Контроль	7	0,728±0,005	0,721±0,006	0,708±0,006	0,715±0,005
PCPA	7	0,736±0,005	0,719±0,006	0,698±0,008	0,708±0,005
Контроль	14	0,716±0,001	0,699±0,012	0,718±0,009	0,720±0,001
PCPA	14	0,748±0,022	0,706±0,008	0,727±0,007	0,729±0,022

Примечание: Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили пара-хлор-фенил-аланин. ЛЖ – левый желудочек, ЛП – левое предсердие, ПЖ – правый желудочек, ПП – правое предсердие

У двухнедельных крысят экспериментальной группы также не выявлено существенных различий длительности общего времени сокращения во всех отделах сердца.

Таким образом, нами установлено, что в миокарде правых желудочков и предсердий, левых желудочков и предсердий сила сокращения и длительность сокращения снижены, длительность расслабления увеличена у крысят 7- и 14-дневного возраста, в эмбриональном периоде развития которых наблюдалось воздействие блокатора фермента синтеза серотонина.

### **2.2.2 Влияние острого введения блокатора триптофангидроксилазы пара-хлор-фенил-аланина на показатели инотропной функции сердца 14-суточных крысят**

В данной серии экспериментов проведено исследование влияния повышающихся концентраций РСРА на силу сокращения различных отделов сердца и временные параметры сокращения в остром эксперименте. Ставилась задача определить, оказывает ли непосредственно РСРА влияние на сократимость миокарда у крысят.

В исследовании не выявлено статистически значимых изменений силы сокращений миокарда предсердий и желудочков крысят 14-дневного возраста. Не выявлено дозо-зависимых эффектов.

Установлено, что острое введение пара-хлор-фенил-аланина не оказывает влияния на силу сокращения, длительность сокращения и длительность расслабления, общую длительность сокращения миокарда левых предсердия и желудочка, правых предсердия и желудочка 14-дневных крысят (рисунок 7, 8, 9, 10; таблица 6, 7, 8, 9).

Таблица 6 – Влияние острого введения пара-хлор-фенил-аланина на силу сокращения миокарда (F, дин) у крысят 14-дневного возраста

Отдел сердца	Исходная, F	Концентрация PCPA, $\mu\text{M}$		
		0,1	1,0	10,0
Левый желудочек	2,10 $\pm$ 0,05	2,07 $\pm$ 0,04	2,04 $\pm$ 0,05	2,01 $\pm$ 0,12
Левое предсердие	0,18 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,03
Правый желудочек	1,16 $\pm$ 0,14	1,13 $\pm$ 0,12	1,10 $\pm$ 0,13	1,07 $\pm$ 0,11
Правое предсердие	0,39 $\pm$ 0,12	0,36 $\pm$ 0,08	0,39 $\pm$ 0,05	0,41 $\pm$ 0,06

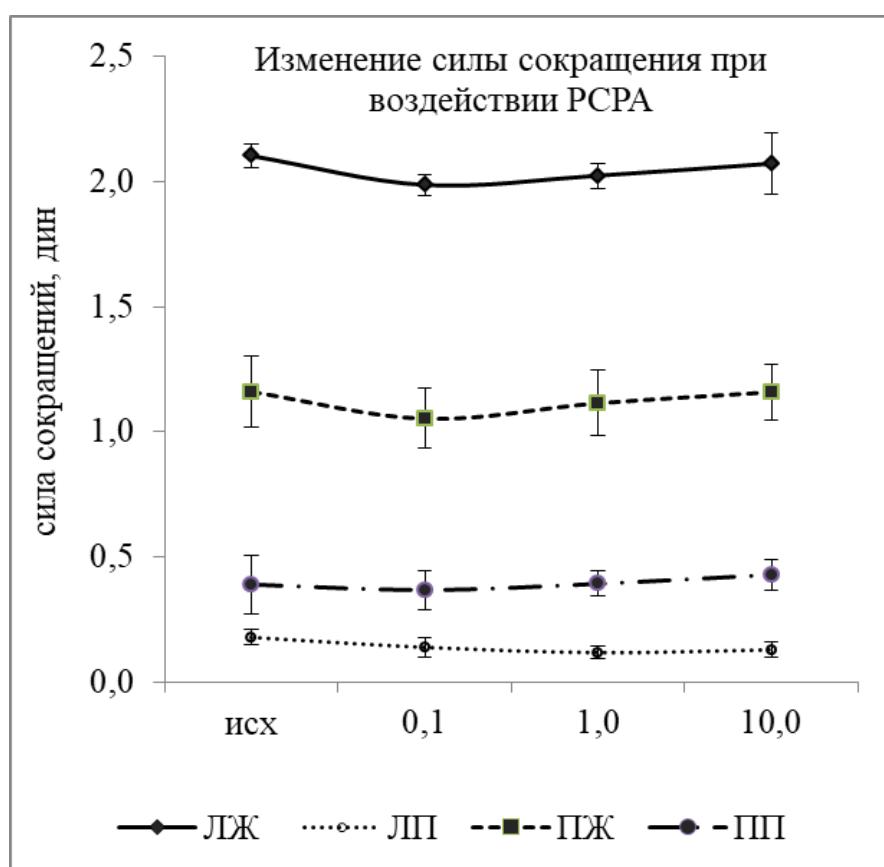


Рисунок 7 – Влияние острого введения PCPA на силу сокращения различных отделов сердца крысят 14-дневного возраста

Примечание: по оси абсцисс приведена концентрация РСРА в  $\mu\text{M}$

Таблица 7 – Влияние PCPA на длительность сокращения ( $t_{max}$ ) у 14-дневных крысят

Отдел сердца	Исходная $t_{max}$	Концентрация PCPA, $\mu\text{M}$		
		0,1	1,0	10,0
Левый желудочек	$0,28 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,01$
Левое предсердие	$0,28 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,01$
Правый желудочек	$0,31 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,01$
Правое предсердие	$0,27 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,01$

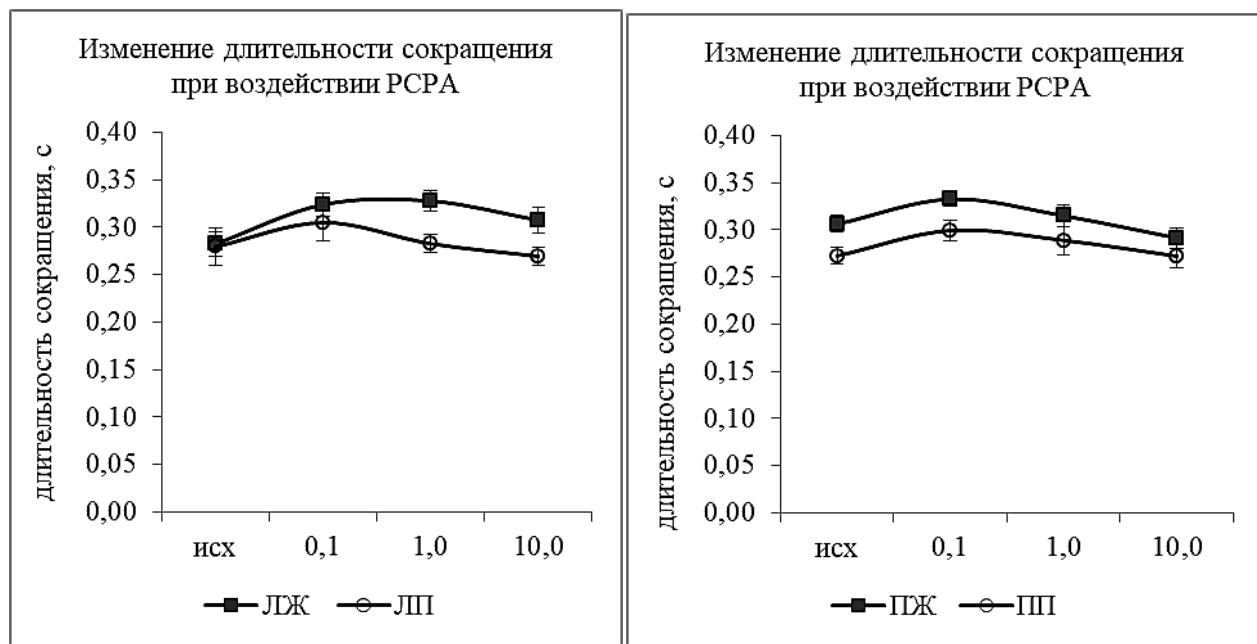


Рисунок 8 – Изменение длительности сокращения различных отделов сердца при остром воздействии пара-хлор-фенил-аланина

Примечание: по оси абсцисс приведена концентрация PCPA в  $\mu\text{M}$

Таблица 8 – Изменение длительности расслабления (t min) у крысят 14-дневного возраста при воздействии пара-хлор-фенил-аланина

Отдел сердца	Исходная t min	Концентрация PCPA, $\mu\text{M}$		
		0,1	1,0	10,0
Левый желудочек	0,61 $\pm$ 0,04	0,64 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,01	0,62 $\pm$ 0,07
Левое предсердие	0,46 $\pm$ 0,08	0,51 $\pm$ 0,06	0,50 $\pm$ 0,01	0,56 $\pm$ 0,12
Правый желудочек	0,48 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,03	0,48 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,06
Правое предсердие	0,42 $\pm$ 0,031	0,48 $\pm$ 0,04	0,46 $\pm$ 0,03	0,50 $\pm$ 0,01

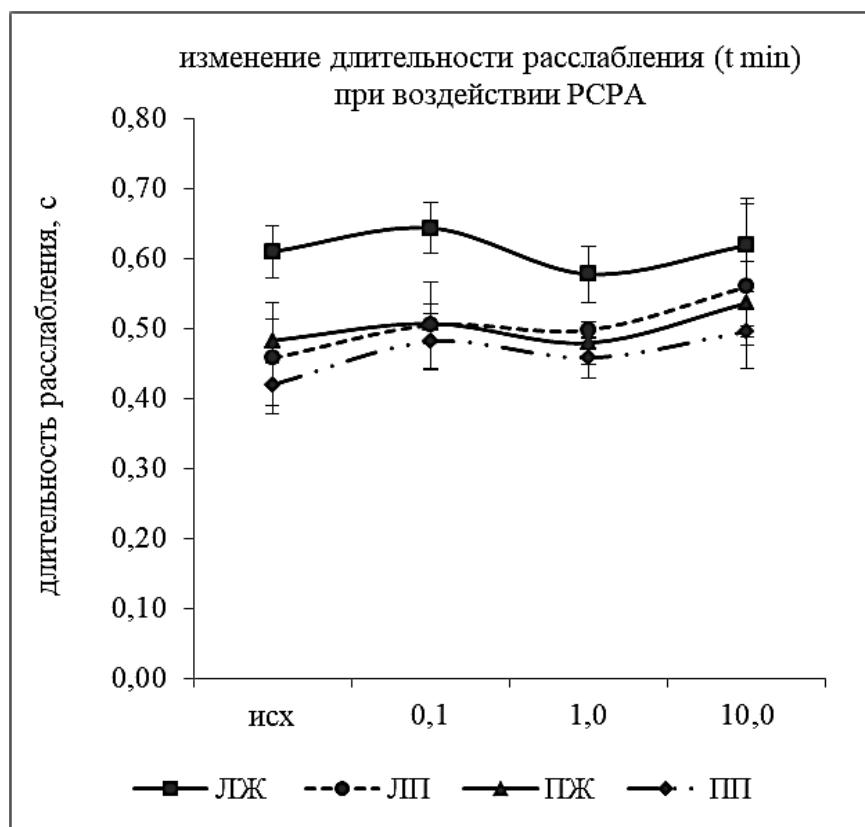


Рисунок 9 – Изменение длительности расслабления различных отделов сердца при остром воздействии пара-хлор-фенил-аланина

Таблица 9 – Изменение общей длительности сокращения ( $t$  total) различных отделов сердца при воздействии пара-хлор-фенил-аланина

Отдел сердца	Исходная $t$ total	Концентрация PCPA, $\mu\text{M}$		
		0,1	1,0	10,0
Левый желудочек	0,90±0,04	0,96±0,05	0,86±0,03	0,94±0,08
Левое предсердие	0,74±0,08	0,85±0,06	0,77±0,007	0,88±0,08
Правый желудочек	0,79±0,03	0,85±0,03	0,81±0,03	0,84±0,12
Правое предсердие	0,71±0,04	0,78±0,04	0,79±0,04	0,79±0,03

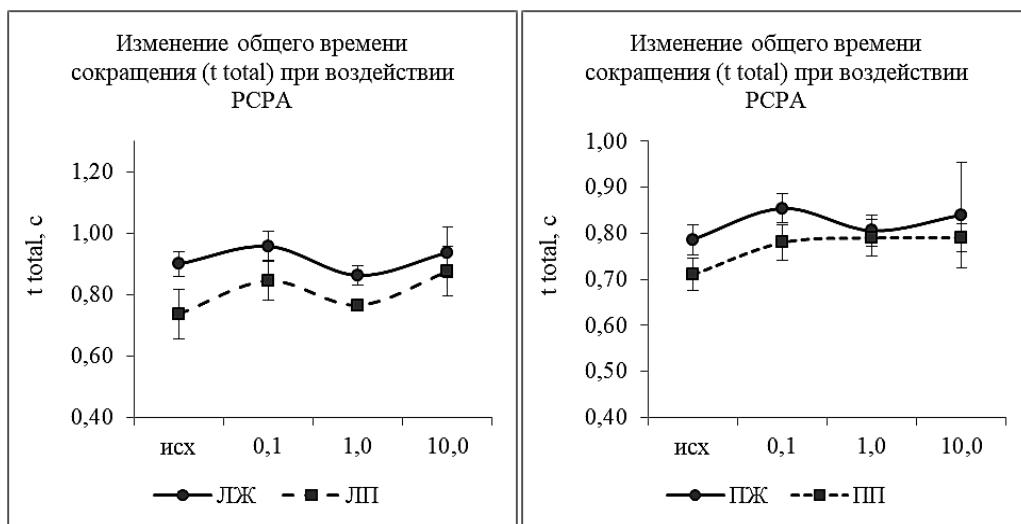


Рисунок 10 – Изменение общей длительности сокращения различных отделов сердца при воздействии пара-хлор-фенил-аланина

### 2.2.3 Влияние норадреналина на инотропную функцию сердца крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза

Исходные показатели силы сокращения миокарда левого желудочка статистически значимо снижены у крысят экспериментальной группы как в 7-, так

и в 14-дневном возрасте, соответственно на 50% и 30%. Норадреналин в концентрациях 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M и 10,0  $\mu$ M статистически значимо увеличивает силу сокращения у контрольной группы 7- и 14-дневных крысят. В миокарде крысят 7- и 14-дневного возраста экспериментальной группы наблюдается увеличение силы сокращения на НА в концентрациях 0,1  $\mu$ M и 1,0  $\mu$ M. Однако у экспериментальных крысят при увеличении концентрации НА до 10,0  $\mu$ M сила сокращения не увеличивается в 7-дневном возрасте и даже снижается у крысят 14-дневного возраста (рисунок 11).

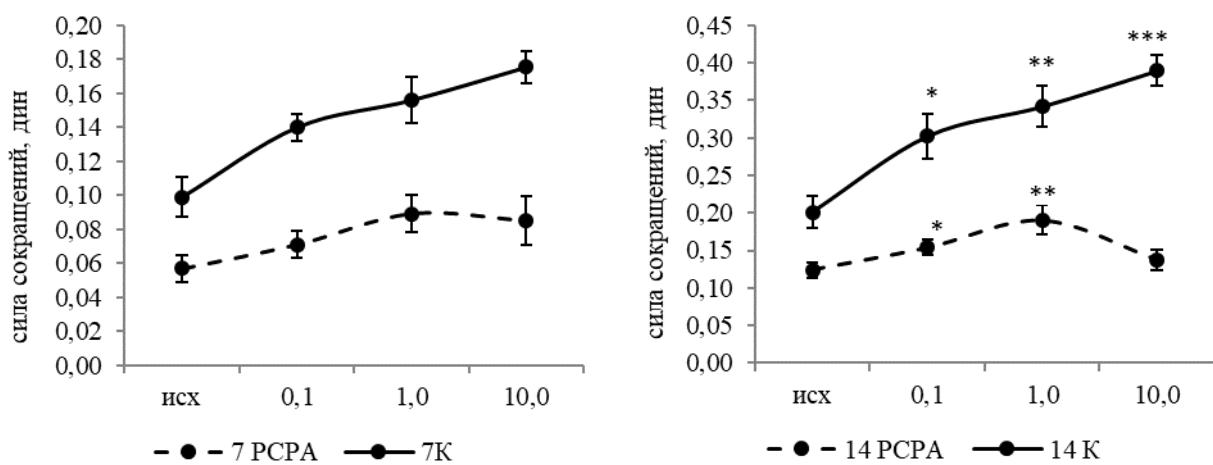


Рисунок 11 – Влияние норадреналина на силу сокращения миокарда левого желудочка (F, дин) у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными данными ( $*P \leq 0,05$ ,  $**P \leq 0,01$ ,  $***P \leq 0,001$ ). Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили блокатор синтеза серотонина пара-хлор-фенил-аланин

Установили снижение реакции на НА в концентрации 0,1  $\mu$ M в 7-дневном возрасте у крысят экспериментальной группы в почти в два раза, по сравнению с контролем, соответственно 24,5% и 41,4% (рисунок 12). При воздействии НА в концентрации 1,0  $\mu$ M реакции одинаковы в обеих группах и составляют 56-57%. Дальнейшее увеличение концентрации НА вызвало рост реакции в контрольной

группе до 77%, а в экспериментальной группе произошло снижение реакции, и она составила 49%.

У экспериментальных крысят 14 – дневного возраста реакция на НА в концентрации 0,1  $\mu$ M составляет 24%, что в два раза меньше по сравнению с реакцией у контрольных животных ( $p\leq 0,001$ ). Максимальные реакции миокарда у экспериментальных крысят 7- и 14-дневного возраста составляют 53-56% на НА в концентрации 1,0  $\mu$ M. У экспериментальных крысят 14-дневного возраста при повышении концентрации НА до 10,0  $\mu$ M происходит существенное снижение положительной инотропной реакции до 11%. Одновременно, у контрольной группы животных происходит рост реакции до 94% (рисунок 12).

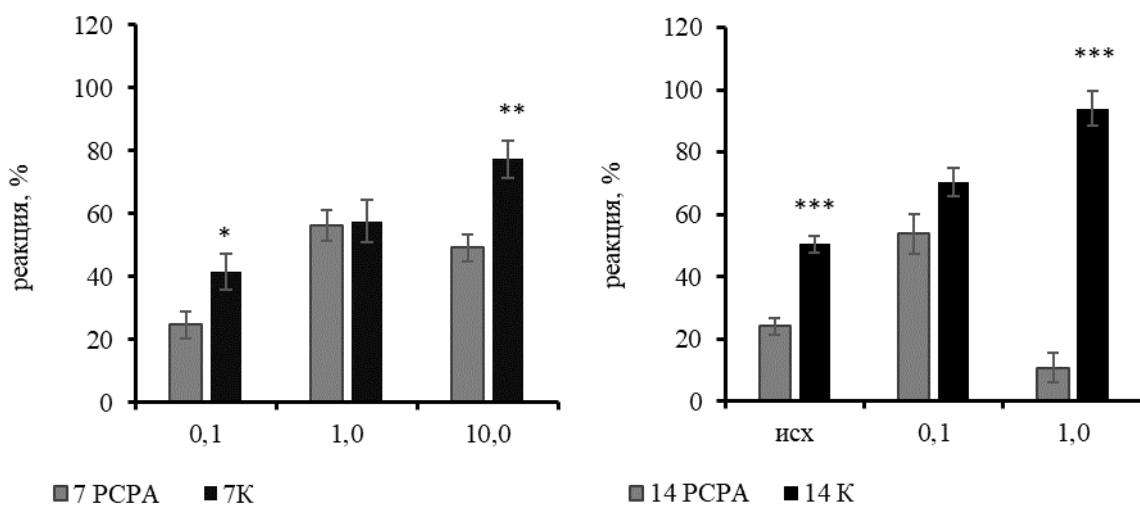


Рисунок 12 – Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка на норадреналин у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: \* – статистически значимые различия реакции контрольных и экспериментальных крысят ( $*P\leq 0,05$ ,  $**P\leq 0,01$ ,  $***P\leq 0,001$ )

Время сокращения миокарда ( $t_{max}$ ) уменьшается при воздействии НА как в экспериментальной, так и в контрольной группах крысят 7- и 14-дневного возраста (рисунок 13). У контрольной группы животных происходит статистически значимое уменьшение времени сокращения. У недельных и двухнедельных крысят с измененным синтезом серотонина при первых двух

концентрациях норадреналина происходит уменьшение времени сокращения, миокард сокращается быстрее, а при концентрации норадреналина 10,0  $\mu\text{M}$ , оно увеличивается (рисунок 13).

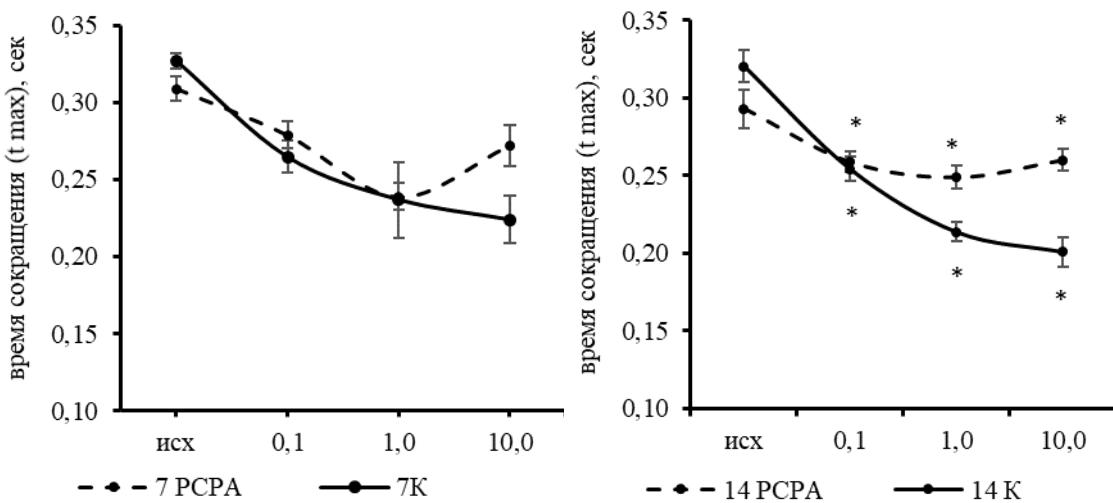


Рисунок 13 – Влияние норадреналина на длительность сокращения ( $t_{\text{max}}$ ) миокарда левого желудочка у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина, сек.

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными данными ( $*P \leq 0,05$ ). Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили блокатор синтеза серотонина пара-хлорфенил-аланин

В 7-дневном возрасте в экспериментальной группе норадреналин в концентрации 0,1  $\mu\text{M}$  уменьшает длительность сокращения миокарда на 9,7%, что статистически значимо меньше реакции у контрольных крысят 19,04% (рисунок 14). При действии максимальной концентрации норадреналина время сокращения увеличивается на 12% у экспериментальных крысят 7-дневного возраста, что почти в три раза меньше реакции миокарда контрольных животных. У 14-дневных крысят экспериментальной группы норадреналин в концентрации 0,1  $\mu\text{M}$  уменьшает длительность сокращения миокарда ( $t_{\text{max}}$ ) на 0,034 сек, что составляет 12%. При действии максимальной концентрации норадреналина общее

время сокращения уменьшается на 0,011 сек или 11% в экспериментальной группе, что на 26% меньше по сравнению с реакцией в контроле (рисунок 14).

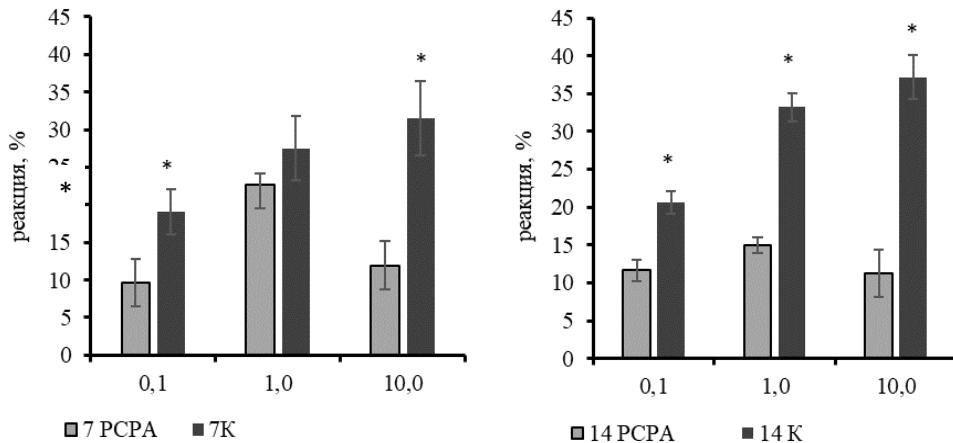


Рисунок 14 – Реакция длительности сокращения ( $t_{max}$ ) миокарда левого желудочка на норадреналин у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: \* – статистически значимые различия реакции контрольных и экспериментальных крысят ( $*P \leq 0,05$ )

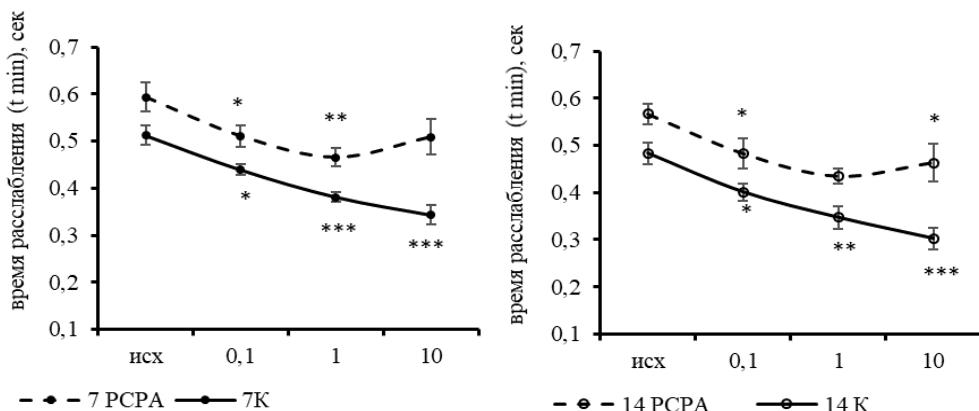


Рисунок 15 – Влияние норадреналина на длительность расслабления ( $t_{min}$ ), сек миокарда левого желудочка у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными данными ( $*P \leq 0,05$ ,  $**P \leq 0,01$ ,  $***P \leq 0,001$ ). Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили блокатор синтеза серотонина пара-хлор-фенил-аланин

В ответ на норадреналин у контрольной группы 7- и 14-дневных животных происходит статистически значимое снижение длительности расслабления (t min), миокард расслабляется быстрее. В обеих возрастных группах с измененным синтезом серотонина при первых двух концентрациях норадреналина происходит снижение времени расслабления, а при последующей концентрации, его увеличение (рисунок 15).

В 7-дневном возрасте в экспериментальной группе норадреналин в концентрации 0,1  $\mu$ M уменьшает длительность расслабления миокарда (t min) на 0,083 сек., что составляет 14%. При действии максимальной концентрации норадреналина общее время сокращения увеличивается на 0,044 сек., реакция достигает 14%. У 14-дневных крысят норадреналин в концентрации 0,1  $\mu$ M уменьшает длительность сокращения миокарда на 0,084 сек., что составляет 15%. При действии максимальной концентрации норадреналина общее время сокращения увеличивается на 0,029 сек. (18%) (рисунок 16).

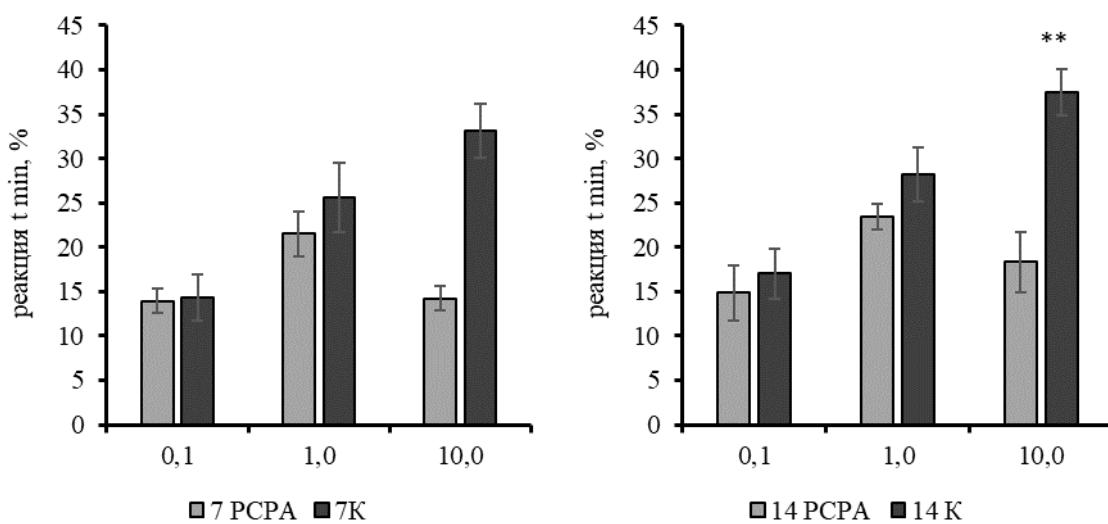


Рисунок 16 – Реакция длительности расслабления (t min) миокарда левого желудочка на норадреналин у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: \* – статистически значимые различия реакции контрольных и экспериментальных крысят (\*\* $P \leq 0,01$ )

У контрольной группы 7- и 14-дневных животных происходит достоверное снижение общего времени сокращения ( $t_{total}$ ) при действии норадреналина. У обеих возрастных групп с измененным синтезом серотонина при первых двух концентрациях норадреналина происходит снижение общего времени сокращения, а при последующей концентрации, его увеличение (рисунок 17).

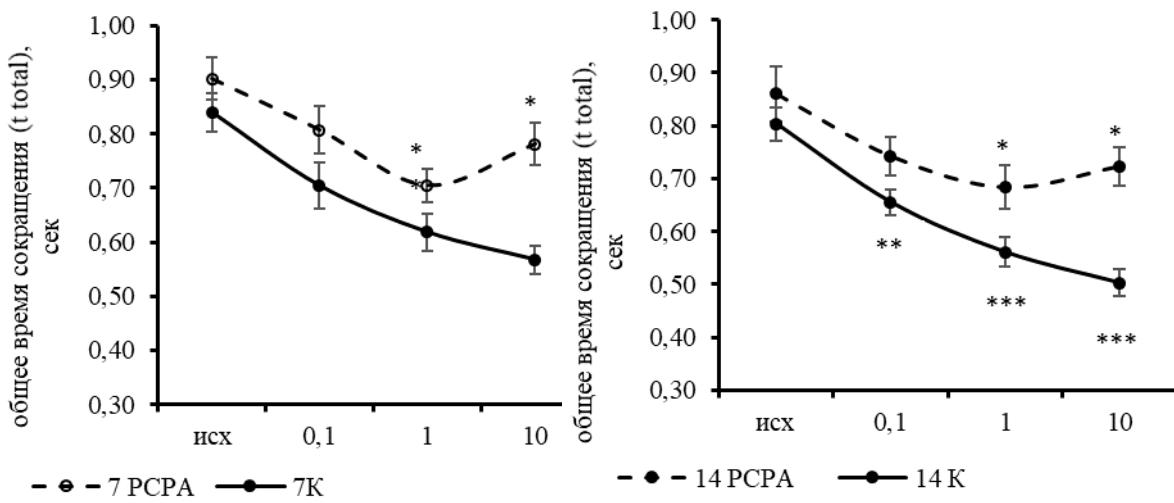


Рисунок 17 – Влияние норадреналина на общее время сокращения ( $t_{total}$ ) миокарда левого желудочка у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина, сек.

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными данными ( $*P \leq 0,05$ ,  $**P \leq 0,01$ ,  $***P \leq 0,001$ ). Контроль – беременным самкам хронически вводили физиологический раствор; PCPA – беременным самкам хронически вводили пара-хлор-фенилаланин

У двухнедельных крысят экспериментальной группы норадреналин в концентрации 0,1  $\mu$ M уменьшает общее время сокращения на 0,118 сек., что составляет 14%. При действии максимальной концентрации норадреналина общее время сокращения увеличивается на 0,04 сек. (16%). У 7-дневных экспериментальных крысят норадреналин в концентрации 0,1  $\mu$ M уменьшает длительность сокращения миокарда на 0,095 сек., что составляет 11%. При

действии максимальной концентрации норадреналина общее время сокращения увеличивается на 0,077 сек., реакция составляет 13,4% (рисунок 18).

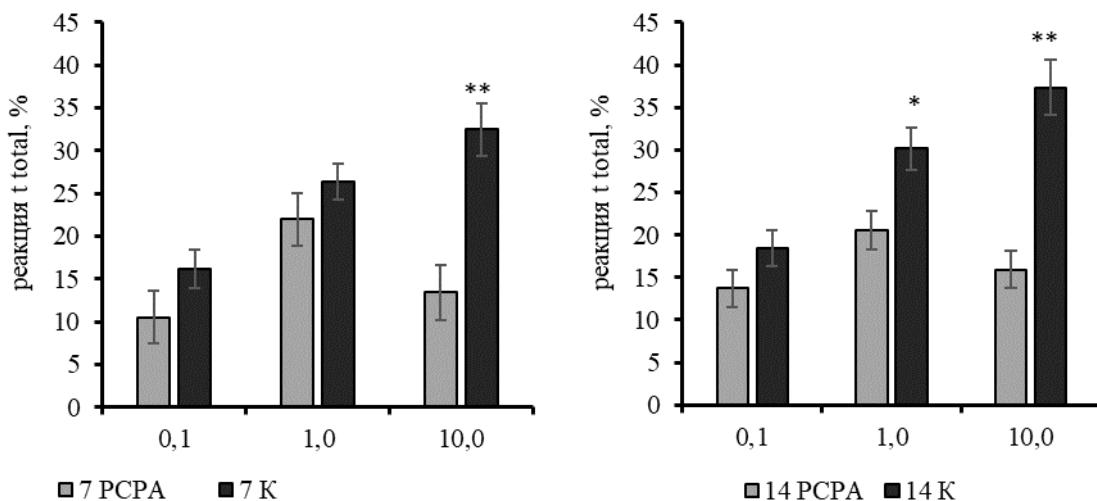


Рисунок 18 – Реакция общего времени сокращения ( $t$  total) миокарда левого желудочка на норадреналин у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: \* – статистически значимые различия реакции контрольных и экспериментальных крысят ( $*P \leq 0,05$ ,  $**P \leq 0,01$ )

Таким образом, норадреналин оказывает положительное инотропное действие на миокард левого желудочка крысят 7- и 14-дневного возраста. Реакции миокарда существенно снижены у крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде развития.

## **2.2.4 Показатели насосной функции сердца крысят 7- и 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза**

Известно, что основными показателями насосной функции сердца являются ударный объем крови, частота сердечных сокращений, минутный объем кровообращения.

Ударный объем крови (УОК, мл) - количество крови, выбрасываемое при каждом сокращении сердца, характеризует силу и эффективность сердечных сокращений. У крысят экспериментальной группы не выявлено статистически значимых различий УОК в сравнении с контрольной группой 0,045 мл и 0,042 мл соответственно ( $P \leq 0,05$ ) (таблица 10).

Частота сердечных сокращений у крыс экспериментальной группы составляет 451,5 уд/мин, что выше по сравнению с контрольной группой, в которой ЧСС равна 400,3 уд/мин. ( $P \leq 0,05$ ). Минутный объем крови у крыс, которые в эмбриональном периоде подвергались воздействию РСРА, значительно выше по сравнению с контролем и составляет 19,8 мл.

Далее нами анализируются показатели фазовой структуры сердечного цикла. Время быстрого изгнания крови (а, сек.) у экспериментальных и контрольных крысят составляет 0,019 сек. и 0,021 сек. соответственно ( $P \leq 0,05$ ), что соответствует 25,84% и 25,87% от периода изгнания крови из левого желудочка сердца. Время медленного изгнания крови (в, сек.) также меньше у крысят экспериментальной группы, чем у контрольной и составляет 0,055 сек. и 0,061 сек. соответственно ( $P \leq 0,05$ ). Время быстрого и медленного изгнания крови являются частью длительности периода изгнания крови из левого желудочка сердца (tu, сек.). У крысят экспериментальной группы этот показатель составляет 0,073 сек., что на 0,009 сек. меньше по сравнению с контролем ( $P \leq 0,05$ ).

Таблица 10 – Показатели насосной функции 14-дневных крысят с хронической блокадой триптофан-гидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза

Показатель	PCPA	NaCl
ЧСС, уд/мин	$451,46 \pm 6,01^*$	$400,30 \pm 15,09$
УОК, мл	$0,045 \pm 0,001$	$0,043 \pm 0,001$
МОК, мл/мин	$19,848 \pm 0,83$	$19,095 \pm 1,38$
а, сек	$0,019 \pm 0,001^*$	$0,021 \pm 0,001$
в, сек	$0,055 \pm 0,001^*$	$0,062 \pm 0,003$
tu, сек	$0,073 \pm 0,001^*$	$0,082 \pm 0,004$
а, %	$25,84 \pm 0,92$	$25,87 \pm 1,02$
в, %	$74,16 \pm 0,92$	$74,13 \pm 1,02$

Примечание: ЧСС – частота сердечных сокращений; УОК – ударный объем крови; МОК – минутный объем кровообращения; а – время быстрого изгнания крови; в – время медленного изгнания крови; tu – период изгнания крови из левого желудочка сердца; а% – время быстрого изгнания крови, выраженное в процентах от tu; в% – время медленного изгнания крови, выраженное в процентах от tu; PCPA (эксперимент) – животные, родившиеся от самок, которым во время беременности вводили блокатор синтеза серотонина пара-хлор-фенил-аланин, NaCl (контроль) – животные, родившиеся от самок, которым во время беременности вводили физиологический раствор.\* – статистически значимые различия контроль – эксперимент ( $P \leq 0,05$ )

Норадреналин в концентрации 0,1  $\mu$ М статистически значимо увеличивает УОК у 14-дневных крысят экспериментальной и контрольной групп до 0,049 мл и 0,056 мл соответственно ( $P \leq 0,05$ ) (рисунок 19). Максимальная реакция УОК в контрольной группе достигается на норадреналин 1,0  $\mu$ М, а в эксперименте - на норадреналин в концентрации 0,1  $\mu$ М.

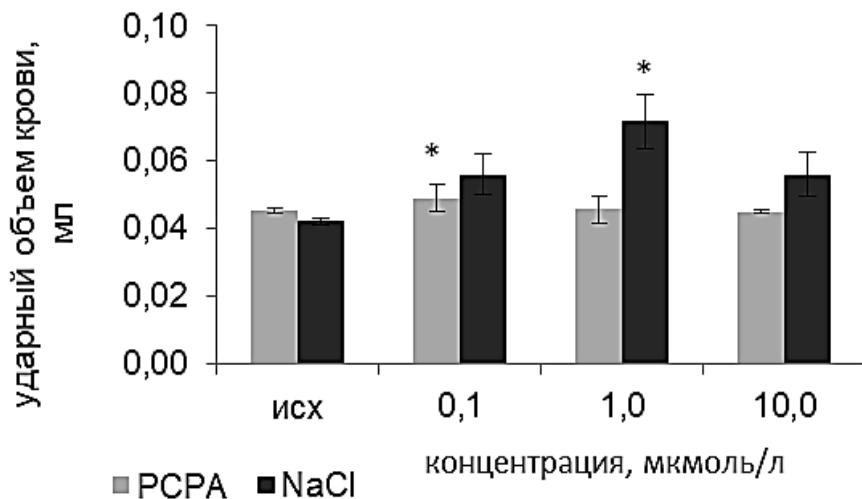


Рисунок 19 – Влияние норадреналина на показатели ударного объема крови 14-дневных крысят с хронической блокадой триптофан-гидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза

Примечание: по оси абсцисс – концентрации норадреналина ( $0,1 \mu\text{M}$ ;  $1,0 \mu\text{M}$ ;  $10,0 \mu\text{M}$ ); по оси ординат – ударный объем крови, мл; PCPA – животные, родившиеся от самок, которым во время беременности вводили блокатор синтеза серотонина пара-хлор-фенил-аланин (эксперимент), NaCl – животные, родившиеся от самок, которым во время беременности вводили физиологический раствор (контроль).

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями контроля ( $*P \leq 0,05$ )

При введении норадреналина с увеличением ударного объема увеличивается и минутный объем кровообращения, который достигает 20,1 мл/мин и 22,7 мл/мин. у животных экспериментальной и контрольной групп, соответственно. Дальнейшее увеличение концентрации норадреналина у экспериментальной группы крысят приводит к снижению насосной функции сердца до изначальных величин. У крысят контрольной группы максимальное значение УОК и МОК достигается при действии норадреналина в концентрации  $1,0 \mu\text{M}$ : 0,072 мл и 27,4 мл/м ( $P \leq 0,05$ ).

Таким образом, нами показано, что не выявлено значимых различий по величине ударного объема крови у 14-дневных крысят, в эмбриональном периоде

развития которых хронически вводили блокатор триптофангидроксилазы, по сравнению с контролем. В условиях нарастающей фармакологической нагрузки норадреналином существенного роста показателей УОК не происходит, и он не способен обеспечить необходимый уровень минутного объема кровообращения по сравнению с величинами у животных контрольной группы.

Показатели фазовой структуры сердечного цикла при введении норадреналина характеризуются тем, что время быстрого и медленного изгнания не претерпевают существенных изменений, и длительность периода изгнания крови из левого желудочка сердца обеих групп крыс не изменяется ( $P \leq 0,05$ ) (рисунок 20). Однако, без стимуляции норадреналином показатели периода изгнания у крысят с блокадой синтеза серотонина статистически значимо снижены по сравнению с показателями в контрольной группе. В условиях активации адренорецепторов норадреналином сохраняется межгрупповое различие, длительность периода изгнания крови из левого желудочка значимо меньше в экспериментальной группе.

Таким образом, на основании полученных данных не выявлено значимых различий по величине ударного объема крови у 14-дневных крысят, в эмбриональном периоде развития которых хронически вводили блокатор триптофангидроксилазы, по сравнению с контролем. В условиях нарастающей фармакологической нагрузки норадреналином существенного роста показателей УОК в экспериментальной группе крысят не происходит. УОК не способен обеспечить необходимый уровень минутного объема кровообращения по сравнению с величинами у животных контрольной группы.

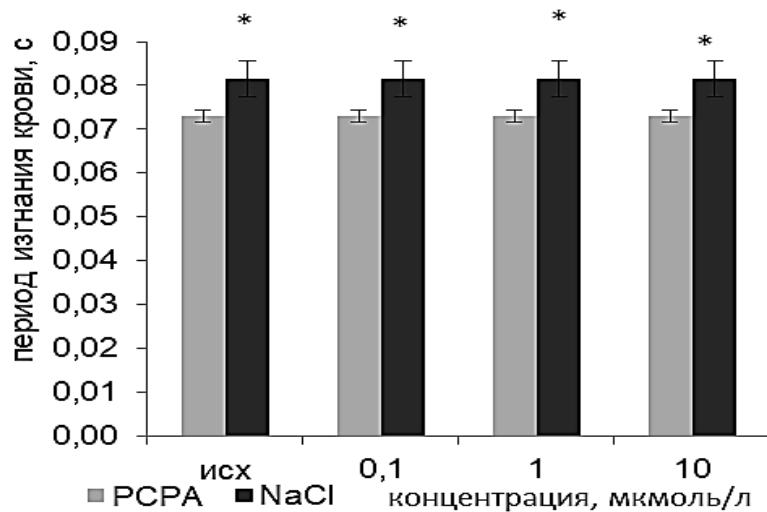


Рисунок 20 – Изменение длительности периода изгнания крови при введении норадреналина у 14-дневных крысят с хронической блокадой триптофан-гидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза

Примечание: по оси абсцисс – концентрации норадреналина (0,1  $\mu$ M; 1,0  $\mu$ M; 10,0  $\mu$ M); по оси ординат – длительность периода изгнания крови, с; PCPA – животные, родившиеся от самок, которым во время беременности вводили блокатор синтеза серотонина пара-хлор-фенилаланин (эксперимент), NaCl–животные, родившиеся от самок, которым во время беременности вводили физиологический раствор (контроль).

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями контроля ( $*P \leq 0,05$ )

## 2.2.5 Влияние дандролена на инотропную функцию миокарда крысят 10-дневного возраста с хронической блокадой триптофандигидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза

Нами установлено, что исходное значение силы сокращения миокарда левого желудочка у крыс на фоне блокады триптофандигидроксилазы на 33% ниже, чем у контрольной группы крыс (таблица 11).

Дантролен в концентрации  $10^{-4}$  мМ/л приводит к снижению силы сокращения миокарда левого желудочка у экспериментальной группы крыс с 0,016 дин до 0,012 дин или на 26,8% ( $P \leq 0,05$ ) (таблица 11, рисунок 21). У животных контрольной группы не выявлено статистически значимых изменений силы сокращения левого желудочка при действии дантролена (таблица 11). Введение серотонина в рабочей концентрации 1  $\mu$ М на фоне дантролена  $10^{-4}$  мМ/л вызывает увеличение силы сокращения левого желудочка с 0,012 дин до 0,019 дин (рисунок 21), что составило 62,3% в экспериментальной группе ( $P \leq 0,05$ ). В контрольной группе сила сокращения увеличилась до 0,039 дин, что составило 77,2% (таблица 11, рисунок 21), межгрупповые различия реакции на серотонин являются статистически значимыми.

Таблица 11 – Влияние дантролена и последующего введения серотонина на силу сокращения миокарда левого желудочка у крысят 10- дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

F, дин	Исходная	Дантролен $10^{-4}$ мМ/л	5-НТ 1,0 мкМ/л
Контроль	$0,024 \pm 0,001$	$0,022 \pm 0,001$	$0,039 \pm 0,002^*$
Рсра	$0,016 \pm 0,001$	$0,012 \pm 0,001^*$	$0,019 \pm 0,001^*$
F, дин	Исходная	Дантролен $10^{-3}$ мМ/л	5-НТ 1,0 мкМ/л
Контроль	$0,037 \pm 0,002$	$0,034 \pm 0,003$	$0,055 \pm 0,002^*$
Рсра	$0,023 \pm 0,002$	$0,016 \pm 0,002^*$	$0,023 \pm 0,002$

Примечание: 5-НТ – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine, F – сила сокращения.

\* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P \leq 0,05$ )

Увеличение концентрации дантролена до  $10^{-3}$  мМ/л привело к снижению силы сокращения миокарда левого желудочка крысят экспериментальной группы с 0,023 до 0,016 дин, реакция составила 31,5% и последующее введение серотонина вызывает увеличение силы сокращения до 0,023 дин, реакция 44,3%.

Не выявлено статистически значимого изменения силы сокращения при действии дантролена  $10^{-3}$  мМ/л у крыс контрольной группы. Сила сокращения миокарда левого желудочка при воздействии серотонином увеличивается на 61,7%.

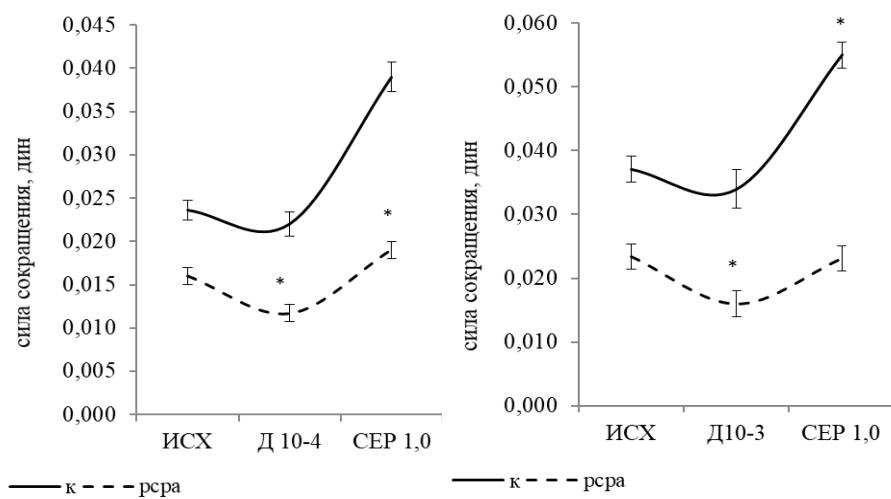


Рисунок 21 – Влияние дантролена и серотонина на силу сокращения миокарда левого желудочка крысят 10-дневного возраста с блокадой триптофандигидроксилазы в эмбриональном периоде

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P \leq 0,05$ )

В следующей серии исследовали влияние дантролена на фоне серотонина. Установлено, что серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ М вызывает увеличение силы сокращения миокарда левого желудочка как у группы крыс с дефицитом серотонина (рисунок 23), так и у крыс контрольной группы на 48,1% и 67% соответственно ( $P \leq 0,05$ ) (таблица 12, рисунок 24).

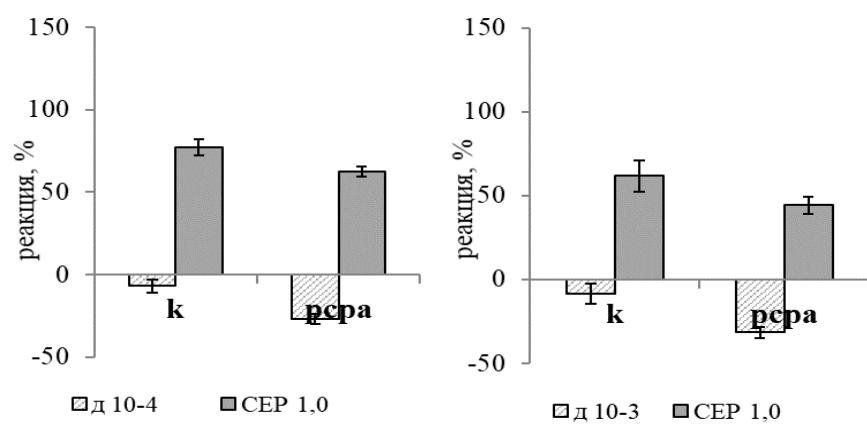


Рисунок 22 – Соотношение реакций силы сокращений на дантролен и серотонин у крысят 10-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде

Таблица 12 – Влияние дантролена на фоне введенного серотонина на показатели инотропной функции миокарда левого желудочка у крысят 10-дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

F, дин	Исходная	5-НТ 1,0 мкМ/л	Дантролен $10^{-4}$ мМ/л
Контроль	0,024±0,003	0,040±0,002*	0,039±0,002*
Рсра	0,016±0,003	0,024±0,002*	0,019±0,002*
F, дин	Исходная	5-НТ 1,0 мкМ/л	Дантролен $10^{-3}$ мМ/л
Контроль	0,036±0,003	0,060±0,003**	0,058±0,003***
Рсра	0,021±0,003	0,030±0,003**	0,023±0,002***

Примечание: 5-НТ – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine, F – сила сокращения. \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P\leq 0,05$ ; \*\*  $P\leq 0,01$ ; \*\*\*  $P\leq 0,001$ )

На фоне выраженного положительного влияния серотонина дантролен в концентрации  $10^{-4}$  мМ/л вызывает статистически значимое снижение силы сокращений на 19,8% ( $P\leq 0,05$ ) у экспериментальной группы и не влияет на силу сокращения миокарда у контрольной группы. При увеличении концентрации дантролена до  $10^{-3}$  мМ/л не выявлено значимого изменения силы сокращения левого желудочка у контрольных крысят, однако она уменьшилась на 25% у крысят экспериментальной группы (таблица 12, рисунок 24).

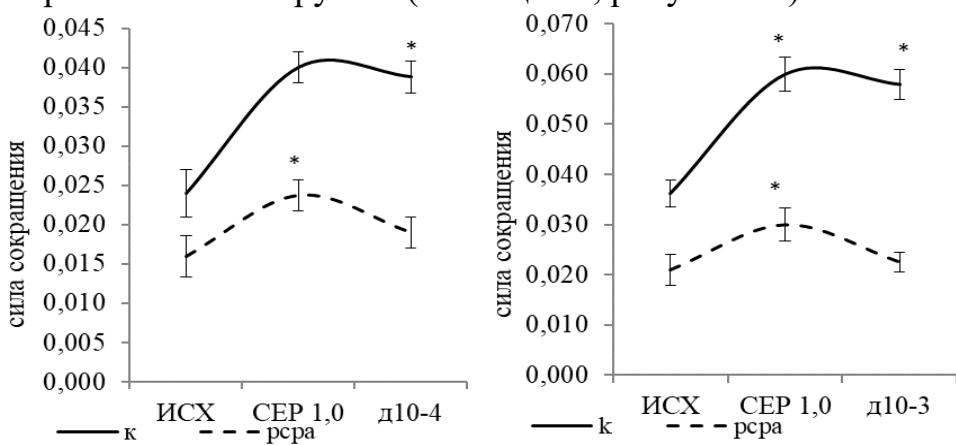


Рисунок 23 – Влияние серотонина и дантролена на силу сокращения миокарда левого желудочка крысят 10-дневного возраста с блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде

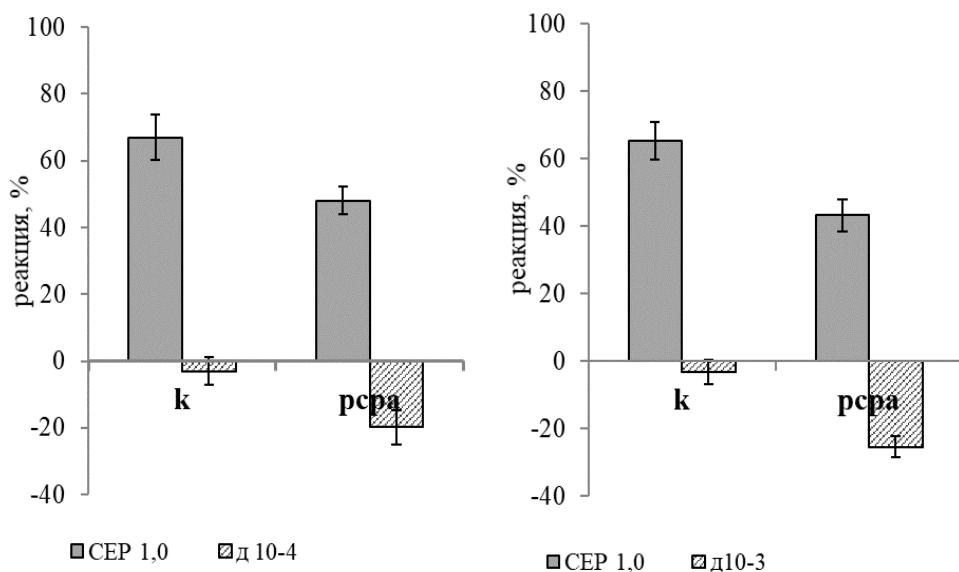


Рисунок 24 – Соотношение реакций силы сокращений на серотонин и дантролен у крысят 10-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде

Нами установлено, что дантролен в концентрации  $10^{-4}$  мМ/л увеличивает длительность сокращения ( $t_{max}$ ) левого желудочка у экспериментальной группы крыс на 0,026 сек, что составляет 12,3% и ( $P \leq 0,01$ ) (таблица 13). В контрольной группе не выявлено значимых изменений длительности сокращения на дантролен в концентрации  $10^{-4}$  мМ/л. На фоне введенного дантролена серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ М вызывает укорочение длительности сокращения левого желудочка на 7,59% в экспериментальной группе и на 14,3% в контрольной ( $P \leq 0,01$ ).

Таблица 13 – Влияние дантролена и последующего введения серотонина на длительность сокращения ( $t_{max}$ ) миокарда левого желудочка у крысят 10-дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

$t_{max}$ , с	Исходная	Дантролен $10^{-4}$ ММ/л	5-HT 1,0 $\mu$ M
Контроль	0,225±0,005	0,217±0,007	0,186±0,006*
Рсра	0,211±0,005	0,237±0,005*	0,219±0,005
$t_{max}$ , с	Исходная	Дантролен $10^{-3}$ ММ/л	5-HT 1,0 $\mu$ M
Контроль	0,236±0,004	0,238±0,006	0,212±0,009*
Рсра	0,224±0,004	0,251±0,005*	0,232±0,005*

Примечание: 5-HT – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine,  $t_{max}$  – длительность сокращения. \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P\leq 0,05$ )

Таблица 14 – Влияние дантролена на фоне введенного серотонина на длительность сокращения ( $t_{max}$ ) миокарда левого желудочка у крысят 10-дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

$t_{max}$ , с	Исходная	5-HT 1,0 $\mu$ M	Дантролен $10^{-4}$ ММ/л
Контроль	0,247±0,004	0,186±0,009*	0,190±0,010
Рсра	0,235±0,004	0,199±0,009*	0,223±0,003*
$t_{max}$ , с	Исходная	5-HT 1,0 $\mu$ M	Дантролен $10^{-3}$ ММ/л
Контроль	0,246±0,004	0,208±0,013*	0,209±0,008
Рсра	0,231±0,005	0,213±0,006*	0,234±0,008*

Примечание: 5-HT – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine,  $t_{max}$  – длительность сокращения. \* – статистически значимое различие по сравнению с исходными показателями ( $*P\leq 0,05$ )

Увеличение концентрации дантролена до  $10^{-3}$  ММ/л увеличивает длительность сокращения желудочка экспериментальной группе на 0,027 с или на 12,5% ( $P\leq 0,01$ ). В контрольной группе не выявлено влияния дантролена на длительность сокращения миокарда левого желудочка. На фоне дантролена

серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu\text{M}$  вызывает снижение длительности сокращения левого желудочка на 7,57% в экспериментальной группе и на 10,9% в контрольной ( $P \leq 0,01$ ).

Серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu\text{M}$  вызывает укорочение длительности сокращения левого желудочка на 0,036 с у экспериментальной группы, у контрольной на 0,061 с (таблица 14), реакция составляет 15,3% и 24,7% соответственно ( $P \leq 0,01$ ). На фоне выраженного положительного влияния серотонина дантролен в концентрации  $10^{-4}$   $\text{мM/l}$  вызвал увеличение длительности сокращения на 0,024 сек., что составило 12,36% у экспериментальной группы ( $P \leq 0,01$ ).

В следующей серии определили влияние дантролена в концентрации  $10^{-3}$   $\text{мM/l}$  на длительность сокращения левого желудочка на фоне серотонина. Серотонин укорачивает длительность сокращения на 7,79% и 15,45% в экспериментальной и контрольной группах соответственно ( $P \leq 0,05$ ). Последующее воздействие дантролена в концентрации  $10^{-3}$   $\text{мM/l}$  удлиняет время сокращения на 9,89% экспериментальной группе ( $P \leq 0,05$ ).

Далее приведены результаты влияния дантролена на длительность расслабления ( $t \text{ min}$ ) миокарда левого желудочка (таблица 15). Установлено, что дантролен в концентрации  $10^{-4}$   $\text{мM/l}$  не оказывает существенного влияния на длительность расслабления левого желудочка у контрольной и экспериментальной групп. Последующее введение серотонина в рабочей концентрации 1  $\mu\text{M}$  на фоне дантролена вызывает укорочение времени сокращения левого желудочка на 0,043 с или 11,88% в экспериментальной группе и на 0,044 с или 13,33% в контрольной ( $P \leq 0,05$ ).

Дантролен в концентрации  $10^{-3}$   $\text{мM/l}$  не оказывает существенного влияния на длительность расслабления желудочка экспериментальной и контрольной групп (таблица 15). На фоне дантролена серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu\text{M}$

вызывает укорочение расслабления левого желудочка на 0,043 сек. или 12,18% в контрольной и на 0,031 сек. или 6,87% в экспериментальной группе.

Таблица 15 – Влияние дантролена и последующего введения серотонина на длительность расслабления (t min) миокарда левого желудочка у крысят 10-дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

t min, с	Исходная	Дантролен $10^{-4}$ ММ/л	5-НТ 1,0 $\mu$ М
Контроль	0,335±0,010	0,330±0,010	0,286±0,019*
Рсра	0,371±0,009	0,362±0,005	0,319±0,012*
t min, с	Исходная	Дантролен $10^{-3}$ ММ/л	5-НТ 1,0 $\mu$ М
Контроль	0,360±0,018	0,353±0,011	0,310±0,013*
Рсра	0,434±0,012	0,454±0,012	0,423±0,009*

Примечание: 5-НТ – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine, t min –длительность расслабления, \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P\leq 0,05$ )

Серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ М вызывает укорочение длительности расслабления левого желудочка как у экспериментальной группы, так и у контрольной на 9,82% и 13,45% соответственно (таблица 16). На фоне выраженного положительного влияния серотонина дантролен в концентрации  $10^{-4}$  ММ/л не приводит к существенным изменениям длительности расслабления миокарда левого желудочка в обеих группах животных.

Далее, перед применением дантролена в более высокой концентрации  $10^{-3}$ ММ/л установили, что серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ М приводит к уменьшению длительности расслабления левого желудочка у контрольной группы крыс на 0,034 сек., у экспериментальной – 0,024 сек. ( $P\leq 0,05$ ). Реакции составили соответственно 8,71% и 5,33% (таблица 16). На этом фоне дантролен  $10^{-3}$  ММ/л не оказывает существенного влияния на длительность расслабления левого желудочка в обеих группах животных.

Таблица 16 – Влияние дантролена на фоне введенного серотонина на длительность расслабления (t min) миокарда левого желудочка у крысят 10-дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

t min, с	Исходная	5-HT 1,0 $\mu$ M	Дантролен 10 <sup>-4</sup> ММ/л
Контроль	0,357±0,001	0,309±0,009*	0,314±0,014
Рсра	0,387±0,001	0,349±0,009*	0,355±0,021
t min, с	Исходная	5-HT 1,0 $\mu$ M	Дантролен 10 <sup>-3</sup> ММ/л
Контроль	0,388±0,013	0,354±0,009*	0,359±0,040
Рсра	0,450±0,018	0,426±0,008*	0,435±0,021

Примечание: 5-HT – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine, t min – длительность расслабления, \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями (\*P≤0,05)

Таким образом, нами показано, что серотонин оказывает положительное влияние на показатели инотропной функции левого желудочка. У крысят с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде онтогенеза выявлено снижение влияния серотонина на силу сокращения и временные параметры сокращения миокарда левого желудочка. Блокатор кальциевых каналов саркоплазматического ретикулума дантролен оказывает влияние на показатели инотропной функции левого желудочка у крысят 10-дневного возраста с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде.

## 2.2.6 Влияние метоксиверапамила на инотропную функцию миокарда

крысят 7-дневного возраста с хронической блокадой

триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза

Хорошо известно, что потенциал действия запускает сокращения кардиомиоцитов через активацию мембранных L-типа кальциевых каналов. Для

блокады этого типа кальциевых каналов применили метоксиверапамил в концентрации 2,5 мМ/л. Нами установлено, что метоксиверапамил снижает силу сокращения миокарда левого желудочка на 57,1% у контрольной группы крыс, а в экспериментальной группе на 36,5%. Серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ M на фоне введенного метоксиверапамила вызывает увеличение силы сокращения на 15% в контрольной группе и на 35% в экспериментальной (рисунок 25).

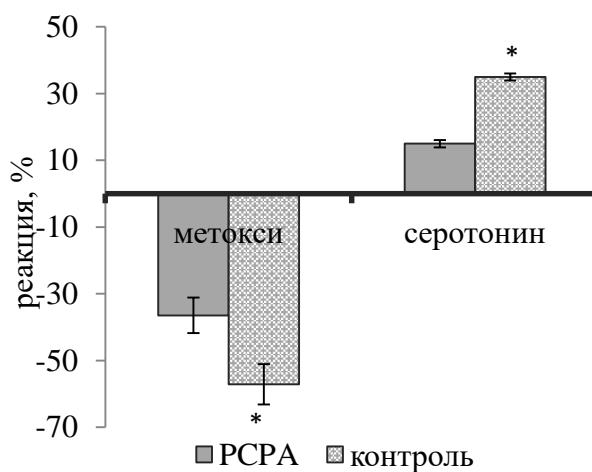


Рисунок 25 – Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка крысят 7-дневного возраста с блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде на метоксиверапамил и серотонин

Примечание: 5-HT – серотонин, Pcpa – p-chlorophenylalanine, F – сила сокращения.

\* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P \leq 0,05$ )

Показано, что реакция на метоксиверапамил и серотонин снижена у крысят 7-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде онтогенеза.

В следующей серии исследовали влияние повышающихся концентраций серотонина на силу сокращения миокарда левого желудочка 7-дневных крысят. Показано, что серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ M вызывает увеличение силы сокращения в контрольной группе на 57%, в экспериментальной на 38%.

При повышении концентрации серотонина до 10  $\mu\text{M}$  сила сокращения увеличивается до 64,2% в экспериментальной группе и до 93,4% в контрольной (рисунок 26).

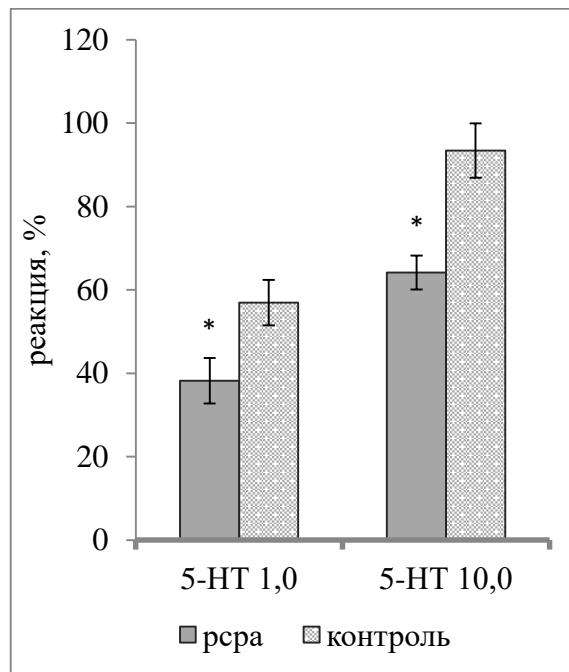


Рисунок 26 – Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка крысят 7-дневного возраста с блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде на серотонин

Примечание: 5-HT – серотонин, Pcpa – p-chlorophenylalanine, \* – статистически значимые межгрупповые различия ( $*P \leq 0,05$ )

Следовательно, наблюдается снижение положительной инотропной реакции левого желудочка на серотонин у крысят 7-дневного возраста и блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде онтогенеза.

В следующей серии исследований показали, что у 7-дневных крысят серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu\text{M}$  вызывает увеличение силы сокращения в контрольной группе на 60%, а в экспериментальной на 35%, межгрупповые различия статистически значимы ( $P \leq 0,05$ ). Последующее введение

метоксиверапамила в концентрации 2,5 мМ/л снижает силу сокращения на 45,2% в экспериментальной группе и на 83,8% в контрольной (рисунок 27).

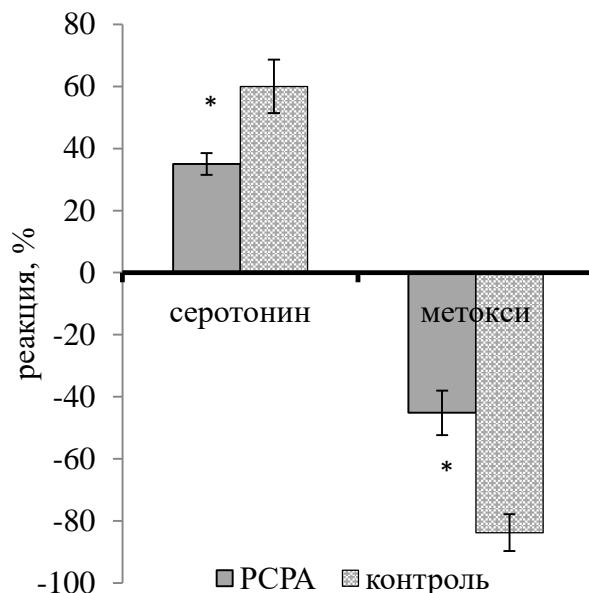


Рисунок 27 – Реакция силы сокращения миокарда левого желудочка крысят 7-дневного возраста с блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде на серотонин и метоксиверапамил

Примечание: метокси – метоксиверапамил, Рсра – p-chlorophenylalanine. \* – статистически значимые межгрупповые различия ( $*P \leq 0,05$ )

Таким образом, показано, что у 7-дневных крысят с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде онтогенеза наблюдается снижение реакции на серотонин и на блокаду L-типа кальциевых каналов.

Результаты по исследованию влияния метоксиверапамила на длительность сокращения миокарда левого желудочка 7-дневных крысят приведены в таблице 17. Нами установлено, что метоксиверапамил в концентрации 2,5 мМ/л увеличивает длительность сокращения левого желудочка у контрольной и экспериментальной групп крыс на 23,5% и 8,1% соответственно ( $P \leq 0,05$ ) (таблица 17, рисунок 28). Межгрупповые различия статистически значимы.

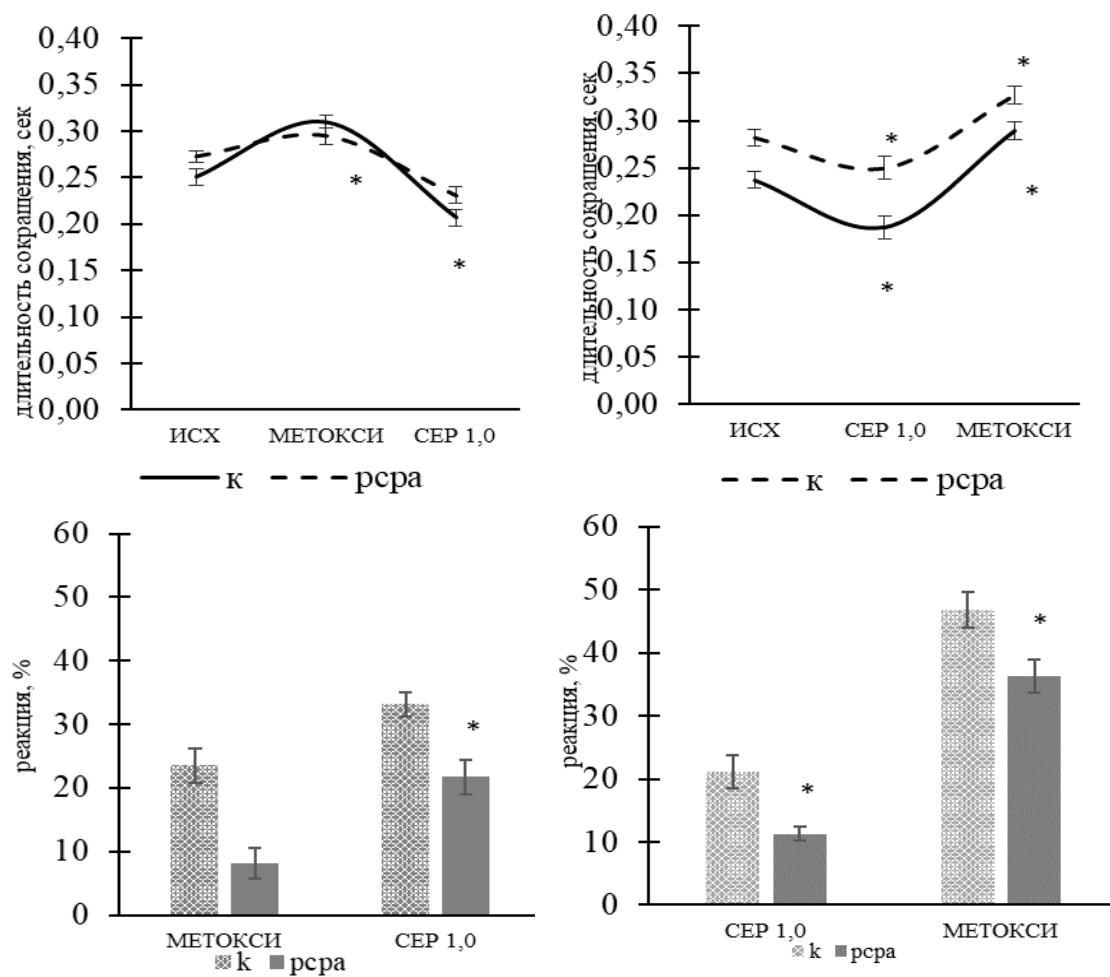


Рисунок 28 – Влияние метоксиверапамила и серотонина на длительность сокращения ( $t_{max}$ ) миокарда левого желудочка у крысят 7-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: 5-НТ – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine,  $t_{max}$  – длительность сокращения. \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P \leq 0,05$ )

На фоне введенного метоксиверапамила серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ M вызывает уменьшение длительности сокращения левого желудочка на 33,2% в контрольной группе и на 21,7% в экспериментальной ( $P \leq 0,05$ ).

В следующей серии показано, что серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ M вызывает уменьшение длительности сокращения левого желудочка (таблица 17,

рисунок 28), реакция в контрольной группе составила 21%, а в экспериментальной значительно меньше 11,3% ( $P \leq 0,05$ ). На фоне выраженного положительного влияния серотонина метоксиверапамил в концентрации 2,5 мМ/л вызвал увеличение длительности сокращения на 46,7% у контрольной и 36,3% у экспериментальной группы ( $P \leq 0,05$ ) (рисунок 28).

Таблица 17 – Влияние метоксиверапамила и серотонина на длительность сокращения ( $t_{max}$ ) миокарда левого желудочка у крысят 7-дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

$t_{max}$ , с	Исходная	Метоксиверапамил 2,5 мМ	5-НТ 1,0 $\mu$ М
Контроль	0,251±0,009	0,310±0,007*	0,207±0,009*
Рсра	0,273±0,009	0,295±0,006*	0,231±0,009*
$t_{max}$ , с	Исходная	5-НТ 1,0 $\mu$ М	Метоксиверапамил 2,5 $\mu$ М
Контроль	0,237±0,009	0,187±0,012*	0,289±0,009*
Рсра	0,282±0,009	0,250±0,011*	0,327±0,006*

Примечание: 5-НТ – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine,  $t_{max}$ , с – длительность сокращения. \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P \leq 0,05$ )

Следовательно, у 7-дневных крысят с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде наблюдается снижение реакции длительности сокращения левого желудочка на метоксиверапамил и на серотонин.

Далее нами анализируются показатели длительности расслабления миокарда левого желудочка (таблица 18). Метоксиверапамил в концентрации 2,5 мМ/л увеличивает длительность расслабления ( $t_{min}$ ) желудочка экспериментальной и контрольной групп на 23,5% и 10,5% соответственно ( $P \leq 0,05$ ) (рисунок 29). Серотонин на фоне метоксиверапамила в рабочей концентрации 1  $\mu$ М /л вызывает укорочение времени расслабления левого желудочка на 30,4% и 20,7% в экспериментальной и контрольной группах.

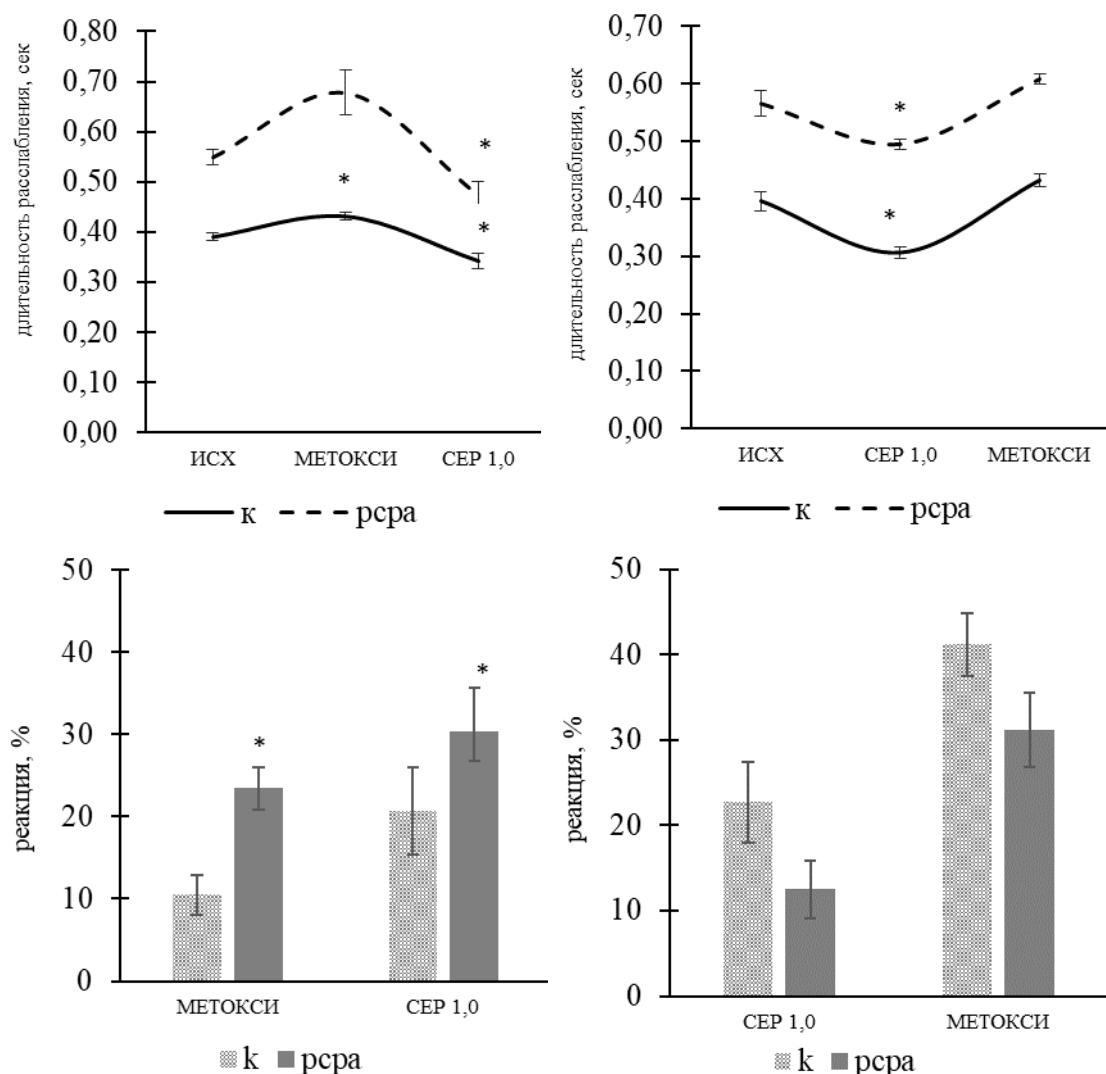


Рисунок 29 – Влияние метоксиверапамила и серотонина на длительность расслабления ( $t$  min) миокарда левого желудочка у крысят 7-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина

Примечание: 5-HT – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine,  $t$  min – длительность расслабления. \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P \leq 0,05$ )

Серотонин в рабочей концентрации 1  $\mu$ M вызывает уменьшение длительности расслабления левого желудочка как у экспериментальной группы (рисунок 29), так и у контрольной, реакции составили 12,5% и 22,7% соответственно. На фоне выраженного влияния серотонина метоксиверапамил в

концентрации 2,5 мМ/л вызвал увеличение длительности расслабления на 31,2 % у экспериментальной группы и 41,2% у контрольной.

Таблица 18 – Влияние метоксиверапамила и серотонина на длительность расслабления (t min) миокарда левого желудочка у крысят 7- дневного возраста с хроническим введением PCPA в эмбриональном периоде

t min, с	Исходная	Метоксиверапамил 2,5 $\mu$ М	5-НТ 1,0 $\mu$ М
Контроль	0,390 $\pm$ 0,008	0,431 $\pm$ 0,008*	0,342 $\pm$ 0,015*
Рсра	0,549 $\pm$ 0,015	0,678 $\pm$ 0,045*	0,472 $\pm$ 0,028*
t min, с	Исходная	5-НТ 1,0 $\mu$ М	Метоксиверапамил 2,5 $\mu$ М
Контроль	0,396 $\pm$ 0,017	0,306 $\pm$ 0,009*	0,432 $\pm$ 0,011
Рсра	0,566 $\pm$ 0,022	0,495 $\pm$ 0,009*	0,609 $\pm$ 0,009

Примечание: 5-НТ – серотонин, Рсра – p-chlorophenylalanine, t min – длительность расслабления. \* – статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ( $*P\leq 0,05$ )

Таким образом, в данной серии исследований установлено, что блокатор L-типа кальциевых каналов метоксиверапамил оказывает отрицательное инотропное действие на миокард левого желудочка 7-дневных крысят. Реакции показателей инотропной функции на метоксиверапамил снижены у крысят с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде онтогенеза. Показано, что серотонин вызывает положительный инотропный эффект, который снижен у крысят с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Серотонин (5-HT) контролирует широкий спектр биологических функций. В мозге его роль в качестве нейротрансмиттера и в контроле поведения в значительной степени задокументирована. На периферии его модулирующая роль в физиологических процессах, таких как сердечно-сосудистая функция, все еще плохо изучена, несмотря на то, что серотонин был открыт более 70 лет назад в крови как вазоконстриктор крупных сосудов [202]. Впоследствии было выявлено, что в желудочно-кишечном тракте он стимулирует моторику [93], в ЦНС является нейромедиатором [61]. Фермент, лимитирующий скорость синтеза серотонина, триптофангидроксилаза (Trh), кодируется двумя генами: хорошо охарактеризованным геном *tph1* и позднее идентифицированным геном *tph2*. На основании исследования мутантной мыши было установлено [80], что нейрональная *tph2* экспрессируется в нейронах ядер шва и мышечного сплетения, тогда как не нейрональная *tph1*, находится в шишковидной железе и энteroхромафинных клетках [80]. Анатомическое исследование мутантных мышей выявило большие размеры сердца, чем у мышей дикого типа. Гистологическое исследование показывает, что первичная структура сердечной мышцы не нарушена, однако гемодинамические исследования демонстрируют аномальную сердечную деятельность, которая в конечном итоге приводит к сердечной недостаточности у мутантных животных. Этот результат авторы связывают с нокаутом экспрессии гена *tph1* и, следовательно, снижением периферического 5-HT с фенотипом сердечной дисфункции. Мутант *tph1* -/- может быть полезен для исследования сердечно-сосудистой дисфункции, наблюдаемой при сердечно-сосудистой недостаточности у людей [80].

Следовательно, нейрогормон серотонин синтезируется серотонинергическими нейронами ЦНС и на периферии клетками APUD системы кишечника. Биосинтез серотонина осуществляется с помощью ферментов

триптофангидроксилазы и декарбоксилазы ароматических L-аминокислот. Триптофангидроксилаза кодируется двумя изоформами – *trh1*, *trh2*, которые экспрессируются в APUD-системе и в центральной нервной системе соответственно [79; 237]. Триптофангидроксилаза является маркером синтеза серотонина. Этот фермент выявлен в различных тканях: в шишковидной железе, серотонинергических нейронах ядер шва, аксоны которых проецируются во все области мозга, в энteroхромафинных клетках и в нейронах мышечных сплетений желудочно-кишечного тракта [150; 155]. В последние годы появились данные о том, что в кардиомиоцитах имеется фермент синтеза серотонина триптофангидроксилаза, которая способна синтезировать серотонин в кардиомиоцитах [195]. Однако значимость этого факта пока не ясна.

Неселективным блокатором обоих видов триптофангидроксилазы, который снижает концентрацию серотонина, является PCPA (пара-хлор-фенил-аланин). Согласно литературным данным под влиянием PCPA происходит снижение концентрации серотонина в крови от 30 до 50% [21]. Вместе с тем, в моделях животных с нокаутом фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы 1 показано, что в крови остается не более 10% серотонина, в некоторых органах до 6-8% [80]. Сердце 20-недельных мышей, нокаутных по гену *tph1*, увеличено в размерах на 26% по сравнению с диким типом мышей [80]. Частота сердцебиений, измененная по пульсовым колебаниям артериального давления, у нокаутных мышей выше, по сравнению с диким типом. Дилатированное сердце нокаутных мышей работает почти нормально в условиях покоя, но практически не способно адаптироваться к стрессовым ситуациям [80].

В нашем исследовании блокада триптофангидроксилазы проводилась введением PCPA беременным самкам, начиная с 11 дня эмбрионального развития [22; 23; 24; 25; 26; 27]. Это вызвано тем, что в эмбриональном периоде онтогенеза мышей до 10-дневного возраста источником серотонина для развивающегося организма является мать [248]. Модель развития в условиях блокады обеих изоформ триптофангидроксилазы, которая проведена в нашем исследовании,

является важной для понимания взаимосвязи развития нервной и сердечно-сосудистой систем в эмбриональном периоде онтогенеза. В нашем исследовании мы создавали дефицит серотонина хроническим введением PCPA в дозе 100 мкг/кг в течение 10 дней, то есть блокировали обе изоформы фермента триптофангидроксилазы. Установлено, что трехкратное введение PCPA по 150 мг/кг, суммарно 450 мг/кг привело к снижению концентрации серотонина в плазме крови мышей в 10 раз [252]. В другом исследовании однократное введение PCPA в дозе 300 мг/кг через три дня снижало концентрацию серотонина в гипоталамусе мышей в 5,6 раз [137]. Хроническое введение пара-хлор-фенилаланина блокирует фермент триптофангидроксилазу и приводит к снижению синтеза серотонина [210; 137; 252].

В нашем исследовании создавался дефицит серотонина за счет блокирования скорость лимитирующего фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы у беременных самок, то есть крысята развивались в условиях хронического дефицита серотонина. На это важно обратить внимание, так как установлено, что именно материнский серотонин оказывает существенное влияние на ранних стадиях развития [81]. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что у крысят 7-, 10- и 14-дневного возраста в эмбриональном периоде развития которых наблюдался дефицит 5-HT, создаваемый хроническим введением PCPA, происходит существенное снижение сократимости миокарда всех отделов сердца, снижаются реакции на серотонин, норадреналин и блокаторы кальциевых каналов. Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что у крыс, в эмбриональном периоде которых проводилась хроническая фармакологическая блокада обеих изоформ триптофангидроксилазы, наблюдаются более высокие величины частоты сердцебиений.

Влияние серотонина на клетки и органы-мишени качественно меняется в онтогенезе. У взрослых крыс он играет роль нейротрансмиттера в мозге и гормона на периферии [105; 229]. В эмбриональном периоде серотонин выступает в

качестве фактора роста и играет важную регулирующую роль в решающий период развития эмбриона, в частности развития сердечно-сосудистой системы [48; 147]. Сердечный морфогенез зависит от миграции, выживаемости и быстрого увеличения клеток нервного гребня, которые регулируются серотонином, в основном через 5-HT<sub>2B</sub> рецепторы [178; 176]. 5-HT оказывает сильное сосудосуживающее действие и поддерживает оптимальный маточно-плацентарный кровоток [103; 178].

Серотонин выявляется в период раннего развития мозга, что свидетельствует о его вовлечении в пролиферацию, миграцию и дифференциацию нейронов [147]. Следует отметить, что более 95% периферического серотонина, синтезированного в желудочно-кишечном тракте [108], при активации tph, запасается в тромбоцитах и принимает участие в свертывании крови и поддержании гомеостаза.

В сердце, серотонин способен вызывать аритмию [134] и гиперплазию клапанов [205]. На нокаутных по 5-HT<sub>2B</sub> рецептору мышах показано, что он вовлечен в морфогенез сердца [178; 176]. Однако, механизмы влияния хронической блокады основного фермента синтеза серотонина триптофандроксилазы в эмбриогенезе на показатели частоты сердечных сокращений и ударного объема крови в раннем постнатальном периоде до сих пор не раскрыты. Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что у крыс в эмбриональном периоде которых проводилась хроническая фармакологическая блокада обеих изоформ триптофандроксилазы, наблюдаются более высокие величины частоты сердцебиений. При одновременном снижении сократимости миокарда можно предположить наличие ранних стадий формирования сердечной недостаточности у этих крысят.

Периферический серотонин играет роль в активации тромбообразования, регуляции сосудистого тонуса и артериального давления [231], сердечного ритма, силы сердечных сокращений [180; 19; 249; 32]. Серотонинергическая система является звеном патогенеза атеросклероза, артериальной гипертензии, легочной

гипертензии, ишемической болезни сердца, фибрилляции предсердий, сердечной недостаточности [134; 103; 21; 32]. Возможно, что дилатационная и гипертрофическая кардиомиопатия являются результатом генетических поломок данной нейрогормональной системы [178; 176; 177].

Приведенные литературные данные свидетельствуют о том, что серотонин относится к важнейшим сигнальным молекулам, участвующим в регуляции развития мозга, сердечно-сосудистой системы и ряда других мишеней. Однако, до сих пор практически отсутствуют данные о влиянии нарушенного метаболизма серотонина в эмбриональном периоде развития на регуляцию инотропной функции различных отделов сердца в постнатальном онтогенезе. Ответ на данный вопрос важен с точки зрения концепции внутриутробного программирования заболеваний, в том числе и сердечно-сосудистой системы. Все чаще приходит понимание того, что проблемы в функционировании сердечно-сосудистой системы в постнатальном онтогенезе кроются в «ошибках» развития организма в пренатальном периоде. В этом процессе роль серотонина как морфогенетического фактора очень высока.

Возможно, недостаток серотонина в эмбриональном периоде вызывает структурные перестройки кальциевых каналов, недостаточное их формирование, снижение чувствительности рецепторов или уменьшение их количества как на мембране кардиомиоцитов, так и на поверхности СПР, что выражается значительно более низким ответом кардиомиоцитов на введение блокатора L-типа кальциевых каналов метоксиверапамила. Следовательно, необходимо свести к минимуму воздействие на метаболизм серотонина в эмбриональном периоде развития в связи с влиянием на инотропную функцию сердца и ее регуляцию через метаботропные рецепторы в постнатальном онтогенезе.

Мы вводили крысам норадреналин для оценки чувствительности и реактивности ударного объема крови. Нами выявлена более высокая чувствительность инотропной функции сердца экспериментальных крысят 14-дневного возраста к норадреналину по сравнению с контрольными животными.

Установлено, что у экспериментальных крысят максимальная реакция ударного объема крови наблюдается на норадреналин в концентрации 0,1  $\mu\text{M}$ , а при увеличении концентрации до 1  $\mu\text{M}$  и 10  $\mu\text{M}$  происходит его значительное снижение, в то время как у животных в контроле наблюдается дозо-зависимое повышение положительной реакции ударного объема крови на норадреналин.

На основании полученных нами данных установлено, что ударный объем крови у 14-дневных крысят, развивавшихся при дефиците центрального и периферического серотонина, в условиях нарастающей фармакологической нагрузки норадреналином увеличивается меньше чем в контроле, и не способен обеспечить необходимый уровень минутного объема кровообращения.

Серотониновый рецептор второго типа (5-HT<sub>2B</sub> рецептор) ответственен за развитие сердца в эмбриональный и постэмбриональный периоды. В постнатальном онтогенезе крыс серотонин вызывает увеличение силы сокращения миокарда правых предсердия и желудочка, и реакции миокарда предсердий и желудочек на серотонин выше у взрослых крыс по сравнению с новорожденными [36; 32]. Следует отметить, что в 14-дневном возрасте наблюдается самая низкая реакция миокарда желудочек на серотонин, но в условиях блокады адренорецепторов положительное инотропное действие серотонина на миокард возрастает [29; 36]. Это свидетельствует о наличии перекрестных взаимодействий серотонина и катехоламинов в регуляторных влияниях, реализуемых через серотониновые и адренорецепторы в сердце. В предсердиях 14-дневных крысят агонист 5-HT<sub>2</sub> рецепторов вызывает положительный люзитропный эффект [29; 36]. Как уже было отмечено выше, серотонин оказывает морффункциональное воздействие на клетки и органы-мишени и его роль существенно меняется в онтогенезе. В постнатальном периоде крыс серотонин увеличивает силу сокращения миокарда предсердий и желудочек [29], что показано и в нашем исследовании. Однако, у крысят с пониженным содержанием серотонина в период эмбрионального развития, наблюдается существенное снижение реакции силы сокращения на серотонин.

Вероятно, одной из причин может быть снижение количества ИТФ-чувствительных кальциевых каналов СПР, через активацию которых реализуется эффект серотонина или происходит нарушение их структуры.

Доказано, что накопление серотонина в местах сосудистого повреждения ведет к пролиферации эндотелия гладкомышечных клеток, что является важным звеном в патогенезе артериальной и легочной гипертензии, атеросклероза [61; 110; 136; 29; 19]. У пациентов, с ишемической болезнью сердца по мере прогрессирования заболевания происходит повышение концентрации серотонина в плазме крови и уменьшение ее в тромбоцитах, что вероятно связано с нарушением захвата серотонина в тромбоциты мембранным переносчиком серотонина. Обсуждается роль мембранныго переносчика серотонина, который экспрессируется не только в тромбоцитах, но и в кардиомиоцитах, в качестве маркера сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе у детей [29; 19; 28; 32].

У мутантных 5-HT<sub>2B</sub> рецепторам мышей наблюдается беспорядочное расположение миоцитов в сердце, дилатация левого желудочка, снижение диастолической функции сердца [176]. У крысят 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина в эмбриональном периоде, показано изменение кровеносного микроциркуляторного русла [M. Zh. Ahmetova, R.R. Nigmatullina, D.E. Tsyplyakov et al., 2022, в печати]. Выявленные морфологические изменения свидетельствуют о начале развития сердечной недостаточности.

Известно, что основными показателями насосной функции сердца являются ударный объем крови, частота сердечных сокращений, минутный объем кровообращения [30]. Исследование реакции показателей насосной функции сердца на норадреналин у животных с измененным метаболизмом серотонина в эмбриональном периоде развития позволит оценить взаимосвязь норадренергических и серотониновых влияний. Несмотря на то, что 5-HT относится к важнейшим сигнальным молекулам, до сих пор практически отсутствуют данные о влиянии нарушенного метаболизма серотонина в эмбриональном периоде развития на норадренергическую регуляцию показателей

насосной функции сердца в постнатальном онтогенезе. Нами не выявлено значимых различий по величине ударного объема крови у 14-дневных крысят, в эмбриональном периоде развития которых хронически вводили блокатор триптофангидроксилазы, по сравнению с контролем. Однако в условиях нарастающей фармакологической нагрузки норадреналином существенного роста показателей ударного объема крови не происходит, и он не способен обеспечить необходимый уровень минутного объема кровообращения по сравнению с величинами у животных контрольной группы.

Исследовано влияние блокаторов кальциевых каналов метоксиверапамила и дантролена на инотропную функцию миокарда левого желудочка сердца у 7- и 10-дневных крысят, в эмбриональном периоде развития которых наблюдался дефицит серотонина. Дантролен дозозависимо снижает силу сокращения левого желудочка на 26-32% в экспериментальной группе, в контрольной группе не выявлено статистически значимых изменений на дантролен. Последующее введение серотонина увеличивает сократимость миокарда левого желудочка на 44-62% у крысят с дефицитом серотонина, однако реакции меньше, чем в контрольной группе. Эти данные могут служить косвенным подтверждением формирования сердечной недостаточности в экспериментальной группе крысят, так как у здоровых животных дантролен не имеет сайтов связывания с рианодиновыми рецепторами второго типа, которые экспрессируются в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов.

В здоровом миокарде имеется сопряжение L-типа кальциевых каналов на мембране Т-трубочек и рианодиновых рецепторов СПР. Вероятно, в условиях блокады синтеза серотонина в эмбриональном периоде происходит нарушение этого взаимодействия. Нами показано, что метоксиверапамил снижает силу сокращения левого желудочка в контроле на 57% и в эксперименте на 37%, последующая реакция на серотонин существенно снижена у крысят с измененным метаболизмом серотонина и составляет соответственно 35 и 15%.

На фоне введенного серотонина блокаторы кальциевых каналов дантролен и метоксиверапамил также снижают силу сокращения левого желудочка. Нами установлено, что отрицательное инотропное действие дантролена на силу сокращения миокарда левого желудочка проявляется только у крыс с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде.

Следовательно, доказано влияние 5-НТ как на формирование сердечно-сосудистой системы в эмбриональном периоде [178; 176; 177; 40], так и на функции сердца в различные периоды постнатального онтогенеза [48; 178; 176; 177; 19; 6; 36; 28; 32]. Действие 5-НТ осуществляется через серотониновые рецепторы. В регуляции сократимости миокарда крыс участвуют метаботропные 5-НТ<sub>2</sub> и 5-НТ<sub>4</sub> рецепторы [176]. Наиболее чувствительны к серотонину 5-НТ<sub>4</sub> рецепторы. Их активация вызывает положительный инотропный, хронотропный, люзитропный эффекты, а также тахикардию и фибрилляцию предсердий [21] посредством движения ионов кальция через кальциевые каналы в кардиомиоцитах.

Кальциевые каналы Т-типа экспрессируются в эмбриональных клетках, а также в зародышевом сердце [124], что свидетельствует об их участии в клеточном росте и пролиферации [18]. Серотонин, взаимодействуя с 5-НТ<sub>4</sub> рецепторами, вызывает каскад внутриклеточных реакций через G<sub>s</sub>-белок [147; 35], в результате которого происходит стимуляция цАМФ-зависимой киназы. Последняя фосфорилирует β2-субъединицу L-типа кальциевых каналов миокарда, что ведет к открытию каналов и входу ионов кальция в клетку, повышению сократимости миокарда [240].

На мемbrane саркоплазматического ретикулума находятся внутриклеточные кальциевые каналы [133; 18]. Их активация приводит к выходу ионов кальция из СПР, что в свою очередь увеличивает силу сокращения миокарда. К ним относятся рианодиновые рецепторы инозитол-1,4,5-трифосфата (IP3-рецепторы) [239; 47].

Таким образом, выявлено влияние снижения концентрации серотонина в эмбриональном периоде онтогенеза за счет хронической блокады фермента синтеза серотонина на инотропную функцию миокарда в раннем постнатальном онтогенезе крысят. Выявлено снижение реакции инотропной функции на серотонин, норадреналин, метоксиверапамил.

## Выводы

1 Сила сокращения миокарда правого и левого желудочков, правого и левого предсердий и длительность их сокращения уменьшается, а длительность их расслабления увеличивается у крысят 7- и 14-дневного возраста, в эмбриональном периоде развития которых наблюдалось воздействие блокатора фермента синтеза серотонина.

2 Острое воздействие пара-хлор-фенил-аланина не изменяет силу сокращения миокарда правого предсердия и желудочка, левого предсердия и желудочка, а также временные параметры сокращения.

3 Норадреналин увеличивает сократимость миокарда левого желудочка, реакция силы и длительности сокращения миокарда левого желудочка на норадреналин в концентрациях 0,1  $\mu$ M и 10  $\mu$ M снижена в два раза у крысят 7- и 14-дневного возраста с блокадой синтеза серотонина по сравнению с одновозрастным контролем.

4 Показатели частоты сердечных сокращений крысят 14-дневного возраста с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза существенно увеличены по сравнению с животными контрольной группы.

5 Норадреналин в концентрации 0,1  $\mu$ M увеличивает ударный объем крови, реакция снижена в 2 раза у крысят 14-дневного возраста с дефицитом

серотонина в эмбриональном периоде. Увеличение концентрации норадреналина не приводит к росту показателей УОК в экспериментальной группе крысят.

6 Дандролен вызывает снижение силы сокращения миокарда левого желудочка у крысят 10-дневного возраста с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде. На фоне дандролена реакция на серотонин снижена в экспериментальной группе.

7 Метоксиверапамил вызывает снижение силы сокращения миокарда левого желудочка, реакция у 7-дневных крысят с дефицитом серотонина в эмбриональном периоде меньше, чем в контроле. Последующее введение серотонина оказывает положительный инотропный эффект и увеличивает силу сокращения, реакция в экспериментальной группе снижена.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абзалов, Н.И. Регуляция резервов насосной функции сердца развивающегося организма при гипо- и гиперкинезии: автореферат диссертации на соискание доктора биологических наук. – Ульяновск, 2015. – 41 с.
2. Абзалов, Р.А. Механизмы регуляций насосной функции сердца развивающегося организма в условиях различных двигательных режимов / Р.А. Абзалов // Вестник казанского государственного педагогического университета. – 2004. – № 2. – С. 192-204.
3. Аникина, Т.А. Взаимодействие адрено- и пуринорецепторов в регуляции сократимости миокарда крыс в постнатальном онтогенезе / Т.А. Аникина, А.А. Зверев, Ф.Г. Ситдиков [и др.] // Онтогенез. – 2013. – Т. 44. – № 6. – С. 396.
4. Анисимова, И.Н. Роль Р2У-рецепторов в регуляции сократимости миокарда крыс в постнатальном онтогенезе: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Казань, 2011. – 22 с.
5. Афлятумова, Г.Н. Клинико-диагностическое значение дисфункции эндотелия и уровня серотонина в крови при эссенциальной артериальной гипертензии у подростков: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – Казань. 2019. – 23 с.
6. Ахметзянов, В.Ф. Возрастные особенности инотропного влияния серотонина на миокард крыс / В.Ф. Ахметзянов, А.Ф. Якупова, Р.Р. Нигматуллина // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т. 91. – № 4. – С. 467-471.
7. Ватаева, Л.А. Влияние дефицита серотонина в различные сроки пренатального онтогенеза на поведение взрослых самок и самцов крыс / Л.А. Ватаева, В.С. Кудрин, Е.А. Вершинина [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2008. – Т. 58. – № 3. – С. 359-367.

8. Вахитов, И.Х. Изменения частоты сердечных сокращений и ударного объема крови у юных спортсменов после выполнения мышечной нагрузки малой мощности / И.Х. Вахитов, Б.И. Вахитов // Теория и практика физической культуры. – 2009. – № 10. – С. 23-24.

9. Гарипов, Т.В. Определение функциональных возможностей механизма срочной адаптации у собак разного возраста методом адреналиновой нагрузки / Т.В. Гарипов, Л.А. Уразаева // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2013. – Т. 216. – С. 74-78.

10. Зверев, А.А. Влияние нейропептида  $Y$  на генерацию потенциала действия рабочих кардиомиоцитов правого предсердия крыс / А.А. Зверев, Т.А. Аникина, Н.Г. Искаков [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 165. – № 5. – С. 550-552.

11. Зефиров, А.Л. Современные направления исследований казанской физиологической школы / А.Л. Зефиров, Д.В. Самигуллин // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2019. – Т. 105. – № 10. – С. 1199-1202.

12. Зефиров, Т.Л. Возрастные особенности сократительной активности миокарда крыс при блокаде токов, активируемых гиперполяризацией / А.Е. Гибина, А.М. Сергеева, Н.И. Зиятдинова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144 – № 9. – С. 244-247.

13. Зиятдинова, Н.И. Возрастные особенности влияния блокады гиперполяризационных токов на механизмы регуляции работы сердца: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Казань. 2001. – 22 с.

14. Каримова, Р.Г. Функциональное состояние изолированного сердца лягушки под влиянием бензофуроксанов / Р.Г. Каримова, Т.В. Гарипов // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2011. – Т. 206. – С. 98-102.

15. Кириллова, В.В. Серотонин и катехоламины в регуляции инотропной функции миокарда при диастолической и систолической сердечной недостаточности: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Казань. 2009. – 20 с.
16. Лысов, В.Ф. Принцип функциональной взаимосвязи и взаимозависимости серотонин-, гистамин- и адренергической систем у животных в онтогенезе / В.Ф. Лысов, В.А. Гудин, С.В. Гудин // Сельскохозяйственная биология. – 2006. – Т. – 41. – № 6. – С. 1-15.
17. Максимов, В.И. Возрастная динамика катехоламинов в органах физиологически зрелых и незрелых ягнят / В.И. Максимов, Н.С. Шевелев // Известия тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2000. – № 4. – С. 151-159.
18. Мельников, К.Н. Кальциевые каналы возбудимых мембран / К.Н. Мельников // Научные обзоры. – 2007. – Т. 5. – № 1. – С. 28.
19. Мустафин, А.А. Серотонинергическая система в патогенезе формирования легочной артериальной гипертензии у детей с врожденными пороками сердца / А.А. Мустафин, Л.М. Миролюбов, Р.Р. Нигматуллина // Казанский медицинский журнал. – 2009. – Т. 90. – № 3. – С. 309-313.
20. Мухамедьяров, М.А. Ионные и молекулярные механизмы деполяризации скелетных мышечных волокон мыши под действием β-амилоидного пептида / М.А. Мухамедьяров, Е.М. Волков, А.В. Леушин [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – № 8. – С. 795-803.
21. Насырова, Д.И. Развивающийся мозг как эндокринный источник серотонина у крыс в онтогенезе: автореф. дис. канд. биол. наук. – М., 2007. – 31 с.
22. Недорезова, Р.С. Влияние норадреналина на сократимость миокарда у крысят с хронической блокадой триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде онтогенеза / Р.С. Недорезова, Р.Н. Файзрахманов, Р.Р. Нигматуллина //

Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2022. – Т. 250. – № 2. – С. 160-163.

23. Недорезова, Р.С. Изменение метаболизма серотонина в эмбриональном периоде влияет на инотропную функцию сердца в постнатальном онтогенезе / Р.С. Недорезова, Т.В. Гарипов, Г.Н. Афлятумов [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – № 8-3 (39). – С. 25-27.

24. Недорезова, Р.С. Влияние блокаторов кальциевых каналов дантролена и метоксиверапамила на инотропную функцию миокарда крысят с измененным уровнем серотонина / Р.С. Недорезова, Т.В. Гарипов, Р.Р. Нигматуллина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 240. – № 4. – С.123-127.

25. Недорезова, Р.С., Влияние блокатора триптофангидроксилазы в эмбриональном периоде на насосную функцию сердца крыс в раннем постнатальном онтогенезе / Р.С. Недорезова, Р.Г. Каримова, Р.Р. Нигматуллина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 243. – № 3. – С. 176-181.

26. Недорезова, Р.С. Влияние пара-хлор-фенил-аланина *in vitro* на показатели инотропной функции сердца 14-дневных крысят / Р.С. Недорезова, Р.Н. Файзрахманов, Р.Р. Нигматуллина // «Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК». Сборник материалов международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной памяти академиков М.П. Тушнова и А.З. Равилова. – Казань, Казанская ГАВМ, 2022. – Т. 1. – С.226-229.

27. Нигматуллина, Р.Р. Влияние блокатора кальциевых каналов L-типа метоксиверапамила на инотропную функцию миокарда крысят с измененным метаболизмом серотонина / Р.Р. Нигматуллина, Р.С. Недорезова // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Т. 27. – С.49-50.

28. Нигматуллина, Р.Р. Влияние блокатора мембранныго переносчика серотонина флуоксетина на инотропную функцию миокарда в онтогенезе крыс / Р.Р. Нигматуллина, В.Л. Матвеева, М.Д. Чибирова // Российский физиологический журнал имени Сеченова. – 2014. – Т. 100. – №. 3. – С.348-359
29. Нигматуллина, Р.Р. Клеточно-молекулярные механизмы функционирования и регуляции сердца / Р.Р. Нигматуллина [и др.]; под. ред. А.Л. Зефирова. – Казань: КГМУ, 2004. – 100 с.
30. Нигматуллина, Р.Р. Насосная функция сердца развивающегося организма и ее регуляция при мышечных тренировках: автореферат диссертации на соискание доктора биологических наук. – Казань, 1999. – 40 с.
31. Рощевская, И.М. Структурно-физиологические основы "вспышечного" возбуждения желудочков сердца / И.М. Рощевская, А.С. Гуляева, М.П. Рощевский // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2013. – № 2 (44). – С. 51-54.
32. Садыкова, Д.И. Роль серотонинергической системы в развитии заболеваний сердца и сосудов у детей / Д.И. Садыкова, Р.Р. Нигматуллина, Г.Н. Афлятумова // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96. – № 4. – С. 665-669.
33. Ситдиков, Ф.Г. Вагусная регуляция развивающегося сердца / Ф.Г. Ситдиков, А.Р. Гиззатуллин, Н.И. Зиятдинова. – Казань: ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет", 2016. – 234 с.
34. Тарасова, О.С. Регуляция продукции оксида азота эндотелием сосудов при физической нагрузке: роль тиреоидных гормонов / О.С. Тарасова, С.И. Софонова, Д.К. Гайнуллина, А.А. Борзых, А.А. Мартынов // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2015. – Т. 49. – № 2. – С. 55-62.
35. Ткачук, В.А. Молекулярные механизмы сопряжения белков с мембранными рецепторами и системами вторичных посредников / В.А. Ткачук, А.Э. Авакян // Российский физиологический журнал. – 2003. – Т. 89. – № 12. – С. 1478-1490.

36. Якупова, А.Ф. Влияние агонистов серотониновых рецепторов на сократимость миокарда в постнатальном онтогенезе крыс: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – Казань, 2011. – 20 с.

37. Abdouh, M. 5-HT1Amediated promotion of mitogen-activated T and B cell survival and proliferation is associated with increased translocation of NF-kappaB to the nucleus / M. Abdouh, P.R. Albert, E. Drobetsky [et al.] // Brain, Behavior and Immunity. – 2004. – Vol. 18. – N. 1. – P. 24-34.

38. Abdouh, M. Transcriptional mechanisms for induction of 5-HT1A receptor mRNA and protein in activated B and T lymphocytes / M. Abdouh, J.M., Storring, M. Riad [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2001. – Vol. 276. – N. 6. – P. 4382-4388.

39. Acharya, S.B. Uterine and placental 5-HT profile in different gestational period of albino rats / S.B. Acharya, N.G. Goswami, P.K. Debnath // Indian Journal of Experimental Biology. – 1989. – Vol. 27. – I. (6). – P. 505-509.

40. Ahmet, U.U. Ca<sup>2+</sup>-Currents in human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes effects of two different culture conditions / U.U. Ahmet, M. Ingra, B. Kaja, [et al.] // Front Pharmacol. – 2016. – Vol. 7. – P. 300.

41. Aix, E. Postnatal telomere dysfunction induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through p21 activation / E. Aix, O. Gutierrez-Gutierrez, C. Sanchez-Ferrer [et.al] // J. Cell Biol. 2016. –Vol. 213. – N. 5. – P. 571–583.

42. Alpert, N.R. Molecular mechanics of mouse cardiac myosin isoforms / N.R. Alpert, C. Brosseau, A. Federico // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2002. – Vol. 283. – I. 4. – P. 1446-1454.

43. Alpert, N.R. The Heart and Cardiovascular System / N.R. Alpert, L.A. Mulieri, G. Hasenfuss // Raven Press, New York, 1991. – P. 111-128.

44. Altshuler, I. The evolutionary history of sarco (endo) plasmic calcium ATPase (SERCA) / I. Altshuler, J.J. Vaillant, S. Xu [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 11. – I. 7. – P. 1-18.

45. Amireault, P. Serotonin and its antidepressant-sensitive transport in mouse cumulus–oocyte complexes and early embryos / P. Amireault, F. Dubé // *Biology of Reproduction*. – 2005. – Vol. 73. – I. 2. – P. 358-365.
46. Andersson, K.B. Mice carrying a conditional Serca2flox allele for the generation of Ca<sup>2+</sup> handling-deficient mouse models / K.B. Andersson, A.V. Finsen, C. Sjaland // *Cell Calcium*. – 2009. – Vol. 46. – I. 3. – P. 219-225.
47. Ather, S. Alterations in ryanodine receptors and related proteins in heart failure / S. Ather, J.L. Respress, N. Li [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2013. – Vol. – 1832. – I. 12. – P. 2425-31.
48. Azmitia, C. Plasticity of fetal and adult CNS serotonergic neurons: role of growth-regulatory factors / C. Azmitia, M. Frankfurt, M. Davila [et al.] // *Ann N Y Acad Sci*. – 1990. – Vol. 600. – P. 343-363.
49. Badawy, A.A.-B. Animal liver tryptophan pyrrolases – absence of apoenzyme and of hormonal induction mechanism from species sensitive to tryptophan toxicity / A.A.-B. Badawy, M. Evans // *Biochem. J.* – 1976. – Vol. 158. – P. 79-88.
50. Badawy, A.A.-B. Effects of pregnancy on tryptophan metabolism and disposition in the rat / A.A.-B. Badawy // *Biochem. J.* – 1988. – Vol. 255. – P. 369-372.
51. Badawy, A.A.-B. Kynurenone Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects / A.A.-B. Badawy // *Int J Tryptophan Res*. – 2017. – Vol. 10. – P. 1-20.
52. Badawy, A.A.-B. Perspective: plasma free tryptophan revisited: what you need to know and do before measuring it / A.A.-B. Badawy // *J. Psychopharmacol*. – 2010. – Vol. 24. – P. 809-815.
53. Badawy, A.A.-B. Tryptophan metabolism in alcoholism / A.A.-B. Badawy // *Nutr. Res. Rev.* – 2002. – Vol. 15. – P. 123-152.
54. Badawy, A.A.-B. Tryptophan: the key to boosting brain serotonin synthesis in depressive illness / A.A.-B. Badawy // *J. Psychopharmacol*. – 2013. – Vol. 27. – P. 878-893.

55. Banasr, M. Serotonin-Induced Increases in Adult Cell Proliferation and Neurogenesis Are Mediated Through Different and Common 5-HT Receptor Subtypes in the Dentate Gyrus and the Subventricular Zone / M. Banasr, M. Hery, R. Printemps [et al.] // *Neuropsychopharmacology*. – 2004. – Vol. 29. – P. 450-460.
56. Banerjee, S.K. Actin-activated adenosine triphosphatase activity of native and N-ethylmaleimide-modified cardiac myosin from normal and thyrotoxic rabbits / S.K. Banerjee, E. Morkin // *Circ. Res.* – 1977. – Vol. 41. – N. 5. – P. 630-634.
57. Banerjee, S.K. Enzymatic properties of the heavy meromyosin subfragment of cardiac myosin from normal and thyrotoxic rabbits / S.K. Banerjee, E.G. Kabbas, E. Morkin // *J. Biol. Chem.* – 1977. – Vol. 252. – N. 18. – P. 6925-6929.
58. Bar, C. Telomerase expression confers cardioprotection in the adult mouse heart after acute myocardial infarction / C. Bar, B. Bernardes de Jesus, R. Serrano [et al.] // *Nat. Commun.* – 2014. – Vol. 5. – P. 1-14.
59. Barany, M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening / M. Barany // *J. Gen. Physiol.* – 1967. – Vol. 50. – I. 6. – P. 197-218.
60. Beard, N.A. Calsequestrin and the calcium release channel of skeletal and cardiac muscle / N.A. Beard, D.R. Laver, A.F. Dulhunty // *Prog Biophys Mol Biol.* – 2004. – Vol. 85. – I. 1. – P. 33-69.
61. Beitz, A.J. The sites of origin brain stem neurotensin and serotonin projections to the rodent nucleus raphe magnus / A.J. Beitz // *J Neurosci.* – 1982. – Vol. 2. – N. 7. – P. 829-842.
62. Bengel, D. Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (“ecstasy”) in serotonin transporter-deficient mice / D. Bengel, D.L. Murphy, A.M. Andrews [et al.] // *Molecular Pharmacology*. – 1998. – Vol. 53. – I. 4. – P. 649-655.
63. Bockaert, J. Piperazine Derivatives Including the Putative Anxiolytic Drugs, Buspirone and Ipsapirone, Are Agonists at 5-HT1A Receptors Negatively Coupled With Adenylate Cyclase in Hippocampal Neurons / J. Bockaert // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 1987. – Vol. 335. – P. 588-592.

64. Bogdanov, K.Y. Sinoatrial nodal cell ryanodine receptor and Na (+) – Ca (2+) exchanger: molecular partners in pacemaker regulation / K.Y. Bogdanov, T.M. Vinogradova, E.G. Lakatta // Circ. Res. – 2001. – Vol. 88. – P. 1254-1258.
65. Bonaventure, P. Mapping of Serotonin 5-HT (4) Receptor mRNA and Ligand Binding Sites in the Post Mortem Human Brain / P. Bonaventure, H. Hall, W. Gommeren [et al.] // Synapse. – 2000. – Vol. 36. – 35-46.
66. Borges, A. Telomerase activity during cardiac development / A. Borges, C. Liew // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1997. – Vol. 29. – I. 10. – P. 2717-2724.
67. Bovo, E. Novel approach for quantification of endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> transport / E. Bovo, R. Nikolaienko, S. Bhayani [et al.] // Am J Physiol – Hear Circ Physiol. – 2019. – Vol. 316. – N. 6. – P. H1323-H1331.
68. Brandl, C.J. Adult forms of the Ca<sup>2+</sup> ATPase of sarcoplasmic reticulum. Expression in developing skeletal muscle / C.J. Brandl, S. Deleon, D.R. Martin [et al.] // J Biol Chem. – 1987. – Vol. 262. – I. 15. – N. 8. – P. 3768-3774.
69. Brown, H. Cardiac pacemaker oscillation and its modulation by autonomic transmitters / H. Brown, D. Difrancesco, S. Noble // J. Exp.Biol. – 1979. – Vol. 81. – P. 175-204.
70. Brudeli, B. Synthesis and Pharmacological Properties of a New Hydrophilic and Orally Bioavailable 5-HT4 Antagonist / B. Brudeli, L.R. Moltzau, C.H. Nguyen [et al.] // Eur J Med Chem. – 2013. – Vol. 64. – P. 629-637.
71. Brunello, L. Decreased RyR2 refractoriness determines myocardial synchronization of aberrant Ca<sup>2+</sup> release in a genetic model of arrhythmia / L. Brunello, J.L. Slabaugh, P.B. Radwanski [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2013. – Vol. 110. – P. 10312-10317.
72. Buznikov, G.A. From oocyte to neuron: do neurotransmitters function in the same way throughout development / G.A. Buznikov, Y.B. Shmukler, J.M. Lauder [et al.] // Cellular and Molecular Neurobiology. – 1996. – Vol. 16. – I. 5. – P. 537-559.

73. Buznikov, G.A. Serotonin and serotoninlike substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis / G.A. Buznikov, H.W. Lambert, J.M. Lauder [et al.] // *Cell and Tissue Research.* – 2001. – Vol. 305. – I. 2. – P. 177-186.
74. Callewaert, G. Excitation-contraction coupling in mammalian heart cells / G. Callewaert // *Cardiovasc Res.* – 1992. – Vol. 26. – P. 923-932.
75. Cheng, H. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle / H. Cheng, W.J. Lederer, M.B. Cannell // *Science.* – 1993. – Vol. 262. – P. 740-744.
76. Clapham, D.E. Calcium signaling / D.E. Clapham // *Cell.* – 2007. – Vol. 131. – P. 1047-1058.
77. Compan, V. Attenuated Response to Stress and Novelty and Hypersensitivity to Seizures in 5-HT4 Receptor Knock-Out Mice / V. Compan, M. Zhou, R. Grailhe [et al] // *J Neurosci.* – 2004. – Vol. 24. – P. 412-419.
78. Cook, J.C. Indoleamine 2, 3-dioxygenase: a new, rapid sensitive radiometric assay and its application to the study of the enzyme in rat tissues / J.C. Cook, C.I. Pogson, S.A. Smith [et al.] // *Biochem. J.* – 1980. – Vol. 189. – P. 461-466.
79. Côté, F. Abnormal cardiac activity in mice in the absence of peripheral serotonin synthesis / F. Cote, C. Fligny, J. Mallet, G. Vodjdani // *J Soc Biol.* – 2004. – Vol. 198. – N. 1. – P. 7.
80. Côté, F. Disruption of the nonneuronal tph1 gene demonstrates the importance of peripheral serotonin in cardiac function / F. Côté, E. Thevenot, C. Fligny [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA).* – 2003. – Vol. 100. – I. 23. – P. 13525-13530.
81. Côté, F. Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development / F. Côté, C. Fligny, E. Bayard [et al.] // *Proc Natl Acad Sci. USA.* – 2007. – Vol. 104. – P. 329-334.
82. De Antoni, A. Triptofano totale e libero nel siero di madri al momento del parto e dei rispettivi neonati (serum total and free tryptophan concentration in mothers

at delivery and in their newborn babies) / A. De Antoni, N. Carretti, C. Costa // Giorn. It. Chim. Clin. – 1980. – Vol. 5. – P. 71-77.

83. Dhalla, N.S. Role of catecholamines in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy / N.S. Dhalla, P.K. Ganguly, S.K. Bhullar [et al.] // Can J Physiol Pharmacol. – 2019. – Vol. 97. – P. 815-819.

84. Diaz, ME. A measurable reduction of SR Ca<sup>2+</sup> content follows spontaneous Ca<sup>2+</sup> release in rat ventricular myocytes / M.E. Diaz, A.W. Trafford, S.C. O'Neill [et al.] // Pflügers Arch. – 1997. – Vol. 434. – P. 852-854.

85. Difrancesco, D. Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cyclic AMP / D. Difrancesco, P. Tortora // Nature. – 1991. – Vol. 351. – P. 145-147.

86. Difrancesco, D. The contribution of the ‘pacemaker’ current (if) to generation of spontaneous activity in rabbit sinoatrial node myocytes / D. Difrancesco // J. Physiol. – 1991. – Vol. 434. – P. 23-40.

87. Dimopoulos, G.J. Ca<sup>2+</sup>-dependent rapid Ca<sup>2+</sup> sensitization of contraction in arterial smooth muscle / G.J. Dimopoulos, S. Semba, K. Kitazawa // Circ Res. – 2007. – Vol. 100. – P. 121-129.

88. Dobrzynski, H. Computer three-dimensional reconstruction of the sinoatrial node / H. Dobrzynski, J. Li, J. Tellez [et al.] // Circulation. – 2005. – Vol. 111. – P. 846-854.

89. Dodd, A.N. The language of calcium signaling / A.N. Dodd, J. Kudla, D. Sanders // Annu Rev Plant Biol. – 2010. – Vol. 61. – P. 593-620.

90. Doroudgar, S. New concepts of endoplasmic reticulum function in the heart: Programmed to conserve / S. Doroudgar, C.C. Glembotski // J Mol Cell Cardiol. – 2013. – Vol. 55. – P. 85-91.

91. Ellis, K.O. A comparison of skeletal, cardiac, and smooth muscle actions of dantrolene sodium a skeletal muscle relaxant / K.O. Ellis, J.L. Butterfield, F.L. Wessels [et al.] // Arch Int Pharmacodyn Ther. – 1976. – Vol. 224. – P. 118-132.

92. Erokhina, E.L. Proliferation dynamics of cellular elements in the differentiating mouse myocardium / E.L. Erokhina // *Tsitolgiia*. – 1968. – Vol. 10. – P. 1391-1409.
93. Erspamer, V. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine / V. Erspamer, B. Asero // *Nature*. – 1952. – Vol. 169. – N. 4306. – P.800-801.
94. Fabiato, A. Simulated calcium current can both cause calcium loading in and trigger the calcium release from the sarcoplasmic reticulum of a skinned cardiac cell / A. Fabiato // *J Gen Physiol*. – 1985. – Vol. 85. – P. 291-320.
95. Fabiato, A. Time and calcium dependence of activation and inactivation of calcium-induced calcium release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of a skinned cardiac Purkinje cell / A. Fabiato // *J Gen Physiol*. – 1985. – Vol. 85. – P. 247-290.
96. Fill, M. Ryanodine receptor calcium release channels / M. Fill, J.A. Copello // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol. 82. – P. 893-922.
97. Fiorica-Howells, E. 5-HT (2A) receptors: location and functional analysis in intestines of wild-type and 5-HT (2A) knockout mice / E. Fiorica-Howells, R. Hen, J. Gingrich [et al.] // *American Journal of Physiology*. – 2002. – Vol. 282. – I. 5. – P. 877-893.
98. Fisch, R.O. Normal infant by a gestational carrier for a phenylketonuria mother: alternative therapy / R.O. Fisch, J.P. Stassart // *Molecular Genetics and Metabolism*. – 2004. – Vol. 82. – I. 1. – P. 83-86.
99. Fitzpatrick, P.F. Mechanism of aromatic amino acid hydroxylation / P.F. Fitzpatrick // *Biochemistry*. – 2003. – Vol. 42. – N. 48. – P. 14083-14091.
100. Fitzsimons, D.P., Patel, J.R., Moss, R.L. Aging dependent depression in the kinetics of force development in rat skinned myocardium / D.P. Fitzsimons, J.R. Patel, R.L. Moss // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276. – I. 5. – P. 1511-1519.

101. Flavell, S.W. Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system / S.W. Flavell, M.E Greenberg. // *Annu Rev Neurosci.* – 2008. – Vol. 31. – P. 563-590.
102. Fouquerel, E. Oxidative guanine base damage regulates human telomerase activity / E. Fouquerel, J. Lormand, A. Bose [et al.] // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2016. – Vol. 23. – P. 1092-1100.
103. Frishman, W.H. Serotonin and the heart / W.H. Frishman, P. Grewall // *Ann Med.* – 2000. – Vol. 32. – N. 3. – P.195-209.
104. Fruen, B.R. Dantrolene inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> release by direct and specific action at skeletal muscle ryanodine receptors / B.R. Fruen, J.R. Mickelson, C.F. Louis // *J Biol Chem.* – 1997. – Vol. 272. – P. 26965-26971.
105. Fuller, R.W. Role of serotonin in the hypothalamic regulation of pituitary function / R.W. Fuller, J.A. Clemens // *Adv Exp Med Biol.* – 1981. – Vol. 133. – P.431-444.
106. Gambol, P.J. Maternal phenylketonuria syndrome and case management implications / P.J. Gambol // *Journal of Pediatric Nursing.* – 2007. – Vol. 22. – I. 2. – P. 129-138.
107. Gaspar, P. The developmental role of serotonin: News from mouse molecular genetics / P. Gaspar, O. Cases, L. Maroteaux // *Nat Rev Neurosci.* – 2003. – Vol. 4. – N. 1002. – P.12.
108. Gershon, M.D. Review article: roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel / M.D. Gershon // *Aliment Pharmacol Ther.* – 1999. – Vol. 13. – I. 2. – P.15-30.
109. Ghosh, R. Effect of oxidative DNA damage in promoter elements on transcription factor binding / R. Ghosh, D.L. Mitchell // *Nucleic Acids Res.* – 1999. – Vol. 27. – I. 15. – P. 3213-3218.
110. Gratton, A. Time course analysis of para-chlorophenylalanine induced suppression of self-stimulation behavior / A. Gratton // *Pharmacol Biochem Behav.* – 1982. – N. 17. – P. 597-602.

111. Gustafsson, B.I. Serotonin and fluoxetine modulate bone cell function in vitro / B.I. Gustafsson, L. Thommesen, A.K. Stunes // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2006. – Vol. 98. – N. 1. – P. 139-151.
112. Hamstra, S.I. The role of phospholamban and GSK3 in regulating rodent cardiac SERCA function / S.I. Hamstra, K.C. Whitley, R.W. Baranowski // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2020. – Vol. 319. – I. 4. – P. 694-699.
113. Handley, S.L. Tryptophan, cortisol and peripheral mood / S.L. Handley, T. Nakamura, S. Niimi [et al.] // *Br. J. Psychiat.* – 1980. – Vol. 136. – P. 498-508.
114. Harley, C.B. Telomere loss: Mitotic clock or genetic time bomb? / C.B. Harley // *Mutation Research/DNAging*. – 1991. – Vol. 256. – I. 2-6. – P. 271–282
115. Hedlund, P.B. No hypothermic response to serotonin in 5-HT7 receptor knockout mice / P.B. Hedlund, P.E. Danielson, E.A. Thomas [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. – 2003. – Vol. 100. – I. 3. – P. 1375-1380.
116. Hegde, S.S. Peripheral 5-HT4 receptors / Hegde S.S., Eglen R.M. // *J. FASEB*. – 1996. – N. 10 (12). – P. 1398-407.
117. Holmsen, H. Secretable storage pools in platelets / H. Holmsen, H.J. Weiss // *Annu Rev Med*. – 1979. – Vol. 30. – P.119-134.
118. Homberg, J.R. Looking on the bright side of serotonin transporter gene variation / J.R. Homberg, K.P. Lesch // *Biol Psychiatry*. – 2011. – Vol. 69 – N. 513. – P. 9.
119. Homberg, J.R. New perspectives on the neurodevelopmental effects of SSRIs / J.R. Homberg, D. Schubert, P. Gaspar // *Trends Pharmacol Sci*. – 2010. – Vol. 31. – N. 60. – P. 5.
120. Hong, T.T. Cardiac t-tubule microanatomy and function / T.T. Hong, R.M. Shaw // *Physiol Rev*. – 2017. – Vol. 97. – I. 1. – P. 227-252.
121. Ibrahim, M.L. Manipulation of sarcoplasmic reticulum Ca (2+) release in heart failure through mechanical intervention / M.L. Ibrahim, A. Nader, M.H. Yacoub [et al.] // *J. Physiol*. – 2015. – Vol. 593. – I. 15. – P. 3253-3259.

122. Iftinca, M.C. Regulation of neuronal T-type calcium channels / M.C. Iftinca, G.W. Zamponi // Trends Pharmacol Sci. – 2009. – Vol. 30. – P. 32-40.
123. Ikenishi, A. Cell cycle regulation in mouse heart during embryonic and postnatal stages / A. Ikenishi, H. Okayama, N. Iwamoto [et al.] // Dev. Growth. Differ. – 2012. – Vol. 54. – I. 8. – P.731-738.
124. Izumi, T. Reinduction of T type calcium channels by endothelin 1 in failing hearts in vivo and in adult rat ventricular myocytes in vitro / T. Izumi, Y. Kihara, N. Sarai [et al.] // Circulation. – 2003. – Vol. 108. – P. 2530-2535.
125. James, T.N. Structure and function of the sinus node, AV node and his bundle of the human heart: part II–function / T.N. James // Prog.Cardiovasc.Dis. – 2003. – Vol. 45. – P. 327-360.
126. Jan, L.Y. A superfamily of ion channels / LY Jan, YN Jan // Nature. – 1990. – V. 345 – P. 672.
127. Jensen, L.J. Depolarization-induced calcium influx in rat mesenteric small arterioles is mediated exclusively via mibebradil-sensitive calcium channels / L.J. Jensen, M. Salomonsson, B.L. Jensen [et al.] // Br J Pharmacol. – 2004. – Vol. 142. – P. 709-718.
128. Jiao, Q. Sarcalumenin is essential for maintaining cardiac function during endurance exercise training / Q. Jiao, Y. Bai, T. Akaike [et al.] // Am J Physiol – Heart Circ Physiol. – 2009. – Vol. 297. – I. 2. – P. H576–H582.
129. Jung, C.B. Dantrolene rescues arrhythmogenic RyR2 defect in a patient-specific stem cell model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia / C.B. Jung, A. Moretti // EMBO Mol Med. – 2012. – Vol. 4. – P. 180-191.
130. Kadowaki, M. 5-HT4 Receptor Enhances the Propulsive Power of the Peristaltic Reflex in the Rat Distal Colon / M. Kadowaki, X.O. Wang, H. Shimatani [et al.] // Auton Neurosci. – 2002. – Vol. 99. – P. 62-65.
131. Kamimura, S. Tryptophan and its metabolite concentrations in human plasma and breast milk during the perinatal period / S. Kamimura, E. Katsuto, K. Sekiba // Acta Med. Okayama. – 1991. – Vol. 45. – P. 101-106.

132. Kanai, M. Tryptophan 2, 3-dioxygenase is a key modulator of physiological neurogenesis and anxiety-related behaviour in mice / M. Kanai, H. Funakoshi, H. Takahashi // Mol. Brain. – 2009. – Vol. 2. – P. 8.
133. Katz, A.M. Calcium channel diversity in the cardiovascular system / A.M. Katz // J. Am. Coll. Cardiol. – 1996. – Vol. 28. – P. 522-529.
134. Kaumann, A.J. 5-Hydroxytryptamine causes rate-dependent arrhythmias through 5-HT<sub>4</sub> receptors in human atrium: facilitation by chronic beta-adrenoceptor blockade / A.J. Kaumann, L. Sanders // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. – 1994. – Vol. 349. – N. 4. – P. 331-337.
135. Kawanishi, S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress / S. Kawanishi, S. Oikawa // Ann. NY. Acad. Sci. – 2004. – Vol. 1019. – I. 1. – P. 278-284.
136. Kekuda, R. Polarized distribution of interleukin-1 receptors and their role in regulation of serotonin transporter in placenta / R. Kekuda, F.H. Leibach, T.C. Furesz [et al] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2000. – Vol. 292. – P. 1032-1041.
137. Kim, D.H. Serotonin depletion enhances the intracerebroventricularly administered MK-801-induced plasma interleukin-6 levels in mice / D.H. Kim, J.S. Jung, Y.S. Moon [et al] // Biol Pharm Bull. – 2003. – Vol. 26. – N. 4. – P.547-549.
138. Kisilevsky, A.E. Presynaptic calcium channels: structure, regulators, and blockers / A.E. Kisilevsky, G.W. Zamponi // Handb Exp Pharmacol. – 2008. – V. 184. – P. 45-75.
139. Kitazawa, T. Nitric oxideinduced biphasic mechanism of vascular relaxation via dephosphorylation of CPI-17 and MYPT1 / T. Kitazawa, S. Semba, Y.H. Huh // J Physiol. – 2009. – Vol. 587. – P. 3587-3603.
140. Kobayashi, S. Dantrolene, a therapeutic agent for malignant hyperthermia, markedly improves the function of failing cardiomyocytes by stabilizing interdomain interactions within the ryanodine receptor / S. Kobayashi, M. Yano, T. Suetomi // J Am Coll Cardiol. – 2009. – Vol. 53. – P. 1993-2005.

141. Kr"oncke, K.-D. Inducible nitric oxide synthase in human tissues / K.-D. Kr"oncke, K. Fehsel, V. Kolb-Bachefen // Clin. Exp. Immunol. – 1998. – Vol. 113. – P. 147-156.
142. Kulaev, B.S. The reflex and direct actions of novocaine on the rhythm of the heart beats in rats in early postnatal ontogeny / B.S. Kulaev, L.L. Protas, A.V Bursian // IuO. Zh Evol Biokhim Fiziol. – 1995. – N. 31 (1) – P. 38-43.
143. Kulla, A. Modulation by Serotonin 5-HT (4) Receptors of Long-Term Potentiation and Depotentiation in the Dentate Gyrus of Freely Moving Rats / A. Kulla, D. Manahan-Vaughan // Cereb Cortex. – 2002. – V. 12. – I. 2. – P. 150-162.
144. Laer, S. Receptor mechanisms involved in the 5-HT-induced inotropic action in the rat isolated atrium / S. Laer, F.O. Remmers, H. Scholz [et al.] // Br J Pharmacol. – 1998. – N. 123. – P. 1182-1188.
145. Lambole, C.R. Endogenous and maximal sarcoplasmic reticulum calcium content and calsequestrin expression in type I and type II human skeletal muscle fibres / C.R. Lambole, R.M. Murphy, M.J. Mckenna [et al.] // J Physiol. – 2013. – Vol. 591. – I. 23. – P. 6053-6068.
146. Lauder, J.M. In vivo and in vitro development of serotonergic neurons / J.M. Lauder, J.A. Wallace, H. Krebs [et al.] // Brain Res. Bull. – 1982. – Vol. 9. – P. 605-625.
147. Lauder, J.M. Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers / J.M. Lauder // Trends Neurosci. – 1993. – Vol.16. – N. 6. – P.233-240.
148. Lauder, J.M. Serotonin and morphogenesis. I. Sites of serotonin uptake and binding protein immunoreactivity in the midgestation mouse embryo / J.M. Lauder, H. Tamir, T.W. Sadler // Development. – 1998. – Vol. 102. – P. 709-720.
149. Lauder, J.M. Serotonin as a differentiation signal in early neurogenesis / J.M. Lauder, H. Krebs // Dev. Neurosci. – 1978. – Vol. 1. – P. 15-30.

150. Legay, C. 5-HT metabolism in the intestinal wall of the rat-I. The mucosa / C. Legay, M. Faudon, F. Hery, J. P. Ternaux // *Neurochem. Int.* – 1983. – Vol. 5. – I. 6. – P. 721-727.
151. Lesurtel, M. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration / M. Lesurtel, R. Graf, B. Aleil [et al.] // *Science (Washington, DC)*. – 2006. – Vol. 312. – N. 5770. – P. 104-107.
152. Liao, M. Impaired dexamethasone-mediated induction of tryptophan 2, 3 - dioxygenase in heme-deficient rat hepatocytes: translational control by a hepatic eIF2\_kinase, the heme regulated inhibitor / M. Liao, M.K. Pabarcus, Y. Wang [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2007. – Vol. 323. – P. 979-989.
153. Litten, R.Z. Altered myosin isozyme patterns from pressure-overloaded and thyrotoxic hypertrophied rabbit hearts / R.Z. Litten, B.J. Martin, R.B. Low [et al.] // *Circ. Res.* 1982. Vol. – 50. – I. 6. – P. 856-864.
154. Louch, W.E. Sodium accumulation promotes diastolic dysfunction in end-stage heart failure following SERCA2 knockout / W.E. Louch, K. Hougen , H.K. Mork [et al.] // *J Physiol.* – 2010. – Vol. 588. – I. 3. – P. 465-478.
155. Lovenberg, W. Tryptophan hydroxylation: measurement in pineal gland, brainstem, and carcinoid tumor / W. Lovenberg, E. Jequier, A. Sjoerdsma // *Science*. – 1967. – Vol. 155. – I. 3759. – P. 217-219.
156. MacLennan, DH. Ca<sup>2+</sup> signalling and muscle disease / D.H. MacLennan // *Eur J Biochem.* – 2000. – Vol. 267. – P. 5291-5527.
157. Malmqvist, U.P. Cardiac myosin isoforms from different species have unique enzymatic and mechanical properties / U.P. Malmqvist, A. Aronsham, S. Lowey // *Biochemistry*. – 2004. – Vol. 43. – I. 47. – P. 15058-15065.
158. Mangoni, M.E. Genesis and regulation of the heart automaticity / M.E. Mangoni, J. Nargeot // *Physiol.Rev.* – 2008. – Vol. 88. – P. 919-982.
159. Marcantoni, A. Calcium channels in chromaffin cells: focus on L and T types / A. Marcantoni, V. Carabelli, V. Comunanza // *Acta Physiol (Oxf)*. – 2008. – Vol. 192. – P. 233-246.

160. Martonosi, A.N. Structure-function relationships in the Ca<sup>2+</sup>-ATPase of sarcoplasmic reticulum: Facts, speculations and questions for the future / A.N. Martonosi // *Biochim Biophys Acta – Bioenerg.* – 1996. – Vol. 1275. – I. 1-2. – P. 111–117.
161. Masafumi, Y. Abnormal ryanodine receptor function in heart failure / Y. Masafumi, Y. Takeshi, I. Noriaki, M. Masunori // *Pharmacol Ther.* – 2005. – Vol. 107. – I. 3. – P. 377-391.
162. Matsuda, M. Serotonin regulates mammary gland development via an autocrine-paracrine loop / M. Matsuda, T. Imaoka, A.J. Vomachka [et al.] // *Developmental Cell.* – 2004. – Vol. 6. – N. 2. – P.193-203.
163. Maughan, D. Calcium-activated muscle from hypertrophied rabbit hearts. Mechanical and correlated biochemical changes / D. Maughan, E. Low, R. Litten [et al.] // *Circ. Res.* – 1979. – Vol. 44. – N. 2. – P. 279-287.
164. Maxwell, J.T. Dantrolene prevents arrhythmogenic Ca<sup>2+</sup> release in heart failure / J.T. Maxwell, T.L. Domeier, L.A. Blatter // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2012. – Vol. 302. – P. H953-H963.
165. McCalden, T.A. Sources of activator calcium in rabbit basilar artery / T.A. McCalden, J.A. Bevan // *Am J Physiol.* – 1981. – Vol. 241. – I. 2. – P. H129-H133.
166. McKillop, D.F. Regulation of the interaction between actin and myosin subfragment 1: evidence for three states of the thin filament / D.F. McKillop, M.A. Geeves // *Biophys J.* – 1993. – Vol. 65. – P. 693-701.
167. McNicol, A. Platelet Dense Granules: Structure, Function and Implications for. Haemostasis / A. McNicol, S.J. Israels // *Throm Res.* – 1999. – Vol. 95. – I. 1. – P.18.
168. Meltzer, H.Y. Lorcaserin and Pimavanserin: Emerging Selectivity of Serotonin Receptor Subtype-Targeted Drugs / H.Y. Meltzer, B.L. Roth // *J Clin Invest.* – 2013. – N. 123. – P. 4986-4991.
169. Mengod, G. 5-HT Receptors in Mammalian Brain: Receptor Autoradiography and in Situ Hybridization Studies of New Ligands and Newly

Identified Receptors / G. Mengod, M.T. Vilaro, A. Raurich [et al.] // *Histochem J.* – 1996. – N. 28. – P. 747-758.

170. Moccia, F. Calcium as a key player in arrhythmogenic cardiomyopathy: Adhesion disorder or intracellular alteration / F. Moccia, F. Lodola, I. Stadiotti [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. 3986.

171. Molineaux, S.M. 5-HT1c Receptor Is a Prominent Serotonin Receptor Subtype in the Central Nervous System / S.M. Molineaux, T.M. Jessell, R. Axel [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1989. – N. 86. – P. 6793-6797.

172. Morita, I. Difference in the concentration of tryptophan metabolites between maternal and umbilical foetal blood / I. Morita, M. Kawamoto, H. Yoshida, // *J. Chromatogr.* – 1992. – Vol. 576. – P. 334-339.

173. Munn, D.H. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism / D.H. Munn, M. Zhou, A.J. Attwood [et al.] // *Science.* – 1998. – Vol. 281. – P. 1190-1193.

174. Nakamura, T. Multihormonal regulation of transcription of the tryptophan 2,3 -dioxygenase gene in primary cultures of adult rat hepatocytes with special reference to the presence of a transcriptional protein mediating the action of glucocorticoids / T. Nakamura, S., Niimi, K. Nawa [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262. – P. 723-733.

175. Nakanishi, T. Development of myocardial contractile system in the fetal rabbit / T. Nakanishi [et al.] // *Pediatr. Res.* – 1987. – Vol. 22. – P. 201-207.

176. Nebigil, C.G. Ablation of Serotonin 5-HT2B Receptors in Mice Leads to Abnormal Cardiac Structure and Function / C.G. Nebigil, P. Hickel, N. Messaddeq // *Circulation.* – 2001. – Vol. 103. – P. 2973-2979.

177. Nebigil, C.G. Functional consequence of serotonin 5-HT2B receptor signaling in heart. Role of mitochondria in transition between hypertrophy and heart failure / C.G. Nebigil, D. Pharm, L. Maroteaux // *Circulation.* – 2003. – Vol. 108. – P. 902.

178. Nebigil, C.G. Serotonin 2B receptor is required for heart development / C.G. Nebigil, D.S. Choi, A. Dierich [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences (USA). – 2000. – Vol. 97. – I. 17. – P. 9508-9513.
179. Nichols, D.E. Hallucinogens / D.E. Nichols // Pharmacol Ther. – 2004. – Vol. 101. – N. 131. – P.181.
180. Nigmatullina, R.R. Disrupted serotonergic and sympatho-adrenal systems in patients with chronic heart failure may serve as new therapeutic targets and novel biomarkers to assess severity, progression, and response to treatment / R.R. Nigmatullina, V.V. Kirillova, R.K. Jourjikiya [et al.] // E.J. Cardiology. – 2009. – Vol. 113. – P.277-286.
181. Nikitina, E. Voltage-dependent calcium channels of dog basilar artery / E. Nikitina, Z.D. Zhang, A. Kawashima // J Physiol. – 2007. – Vol. 580. – P. 523-541.
182. Nikitina, L.V. Investigations of Molecular Mechanisms of Actin–Myosin Interactions in Cardiac Muscle / L.V. Nikitina, G.V. Kopylova, D.V. Shchepkin [et al.] // Biochemistry. – 2015. – Vol. 80. – N. 13. – P. 1748-1763.
183. Nishimura, H. Atlas of Human Prenatal Histology. Igaku-Shoin. – Tokyo: Japan, 1983. –316 p.
184. Novotova, M. Structural variability of dyads relates to calcium release in rat ventricular myocytes / M. Novotova, A. JR. Zahradnikova, Z. Nichtova [et al.] // Sci Rep. – 2020. – Vol. 10. – N. 8076. – P. 1-14.
185. Obberghen-Schilling, V. Cloning, functional expression and role in cell growth regulation of a hamster 5-HT2 receptor subtype / V. Obberghen-Schilling, E. Vouret-Craviari, V. Haslam [et al.] // Molecular Endocrinology. – 1991. – Vol. 5. – N. 7. – P. 881-889.
186. Oh, H. Telomerase reverse transcriptase promotes cardiac muscle cell proliferation, hypertrophy, and survival / H. Oh, G.E. Taffet, K.A. Youker [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98. – №18. – P. 10308-10313.
187. Ormazabal, A. Platelet serotonin concentrations in PKU patients under dietary control and tetrahydrobiopterin treatment / A. Ormazabal, M.A. Vilaseca,

B. Perez-Duenas [et al.] // Journal of Inherited Metabolic Disease. – 2005. – Vol. 28. – I. 6. – P. 863-870.

188. Ouadid, H. Serotonin Increases Calcium Current in Human Atrial Myocytes Via the Newly Described 5-Hydroxytryptamine4 Receptors / H. Ouadid, J. Seguin, A. Dumuis [et al.] // Mol Pharmacol. – 1992. – Vol. 41. – P. 346-351.

189. Pagani, E. D., Julian F. J. Rabbit papillary muscle myosin isozymes and the velocity of muscle shortening / E. D. Pagani, F. J. Julian // Circ. Res. – 1984. – Vol. 54. – N. 5. – P. 586-594.

190. Pampalona, J. Progressive telomere dysfunction causes cytokinesis failure and leads to the accumulation of polyploid cells / J. Pampalona, C. Frías, A. Genescà // PLoS Genet. – 2012. – Vol. 8. – I. 4. – P. 1-11.

191. Paul-Pletzer, K. Probing a putative dantrolene-binding site on the cardiac ryanodine receptor / K. Paul-Pletzer, T. Yamamoto, N. Ikemoto [et al.] // Biochem J. – 2005. – Vol. 387. – P. 905-909.

192. Perez-Cruet, J. Dietary regulation of brain tryptophan metabolism by plasma ratio of free tryptophan and neutral amino acids in humans / J. Perez-Cruet, T.N. Chase, D.L. Murphy // Nature. – 1974. – Vol. 248. – P. 693-695.

193. Perez-Reyes, E. Molecular physiology of low-voltage-activated t-type Ca<sup>2+</sup> channels / E. Perez-Reyes // Physiol Rev. – 2003. – Vol. 83. – P. 117-161.

194. Pfefferkorn, E.R. Characterisation of an indoleamine dioxygenase induced by gamma interferon in cultured human fibroblasts / E.R. Pfefferkorn, S. Rebhun, M. Eckel // J. Interferon Res. – 1986. – Vol. 6. – P. 267-279.

195. Ponicke, K. On the presence of serotonin in mammalian cardiomyocytes / K. Ponicke, U. Gergs, I.B. Buchwalow [et al.] // Mol Cell Biochem. – 2012. – Vol. 365. – P. 301-312.

196. Pratelli, M. Serotonergic neurotransmission manipulation for the understanding of brain development and function: Learning from Tph2 genetic models / M. Pratelli, M. Pasqualetti // Biochimie. – 2019. – Vol. 161. – P. 3-14.

197. Primeau, J.O. The sarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase / J.O. Primeau, G.P. Armanious, M.E. Fisher [et al.] // *Subcell Biochem.* – 2018. – Vol. 87. – P. 229–258.
198. Puente, B.N. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response / B.N. Puente, W. Kimura, S.A. Muralidhar [et al.] // *Cell.* – 2014. – Vol. 157. – I. 3. – P. 565-579.
199. Qi, H. All four CatSper ion channel proteins are required for male fertility and sperm cell hyperactivated motility / H. Qi, M.M. Moran, B. Navarro // *Proc Natl Acad Sci.* – 2007. – Vol. 104. – N. 4. – P. 1219-1223.
200. Qvigstad, E. Appearance of a ventricular 5-HT4 receptor-mediated inotropic response to serotonin in heart failure / E. Qvigstad, T. Brattelid, I. Sjaastad [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2005. – Vol. 65. – P. 869-878.
201. Rapport, M.M. Crystalline Serotonin. / M.M. Rapport, A.A. Green, I.H. Page // *Science.* – 1948. – Vol. 108. – N. 2804. – P. 329-330.
202. Rapport, M.M. Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization / M.M. Rapport, A.A. Green, I.H. Page // *J Biol Chem.* – 1948. – Vol. 176. – P. 1243-1251.
203. Raymond, J.R. Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction / J.R. Raymond, Y.V. Mukhin, A. Gelasco // *Pharmacol. Ther.* – 2001. – Vol. 92. – N. 179. – P. 212.
204. Richardson, G.D. Telomerase expression in the mammalian heart / G.D. Richardson, D. Breault, G. Horrocks [et al.] // *FASEB J.* – 2012. – Vol. 26. – I. 12. – P. 4832–4840.
205. Robiolio, P.A. Carcinoid heart disease. Correlation of high serotonin levels with valvular abnormalities detected by cardiac catheterization and echocardiography / P.A. Robiolio, V.H. Rigolin, J.S. Wilson // *Circulation.* – 1995. – Vol. 92. – N. 4. – P. 790-795.
206. Roth, B.L. 5-Hydroxytryptamine2-Family Receptors (5-Hydroxytryptamine2A, 5-Hydroxytryptamine2B, 5-Hydroxytryptamine2C): Where

Structure Meets Function / B.L. Roth, D.L. Willins, K. Kristiansen, // Pharmacol Ther. – 1998. – N. 79. – P. 231-257.

207. Roth, B.L. Aortic Recognition Sites for Serotonin (5HT) Are Coupled to Phospholipase C and Modulate Phosphatidylinositol Turnover / B.L. Roth, T. Nakaki, D.M. Chuang, // Neuropharmacology. – 1984. – N. 23. – P. 1223-1225.

208. Saeki, Y. Crossbridge dynamics under various inotropic states in cardiac muscle: evaluation by perturbation analysis / Y. Saeki // Jpn. J. Physiol. – 1995. – Vol. 45. – I. 5. – P. 687-705.

209. Schwartz, K. Myosin isozymic distribution correlates with speed of myocardial contraction / K. Schwartz, Y. Lecarpentier, J. L. Martin [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1981. – Vol. 13. – I. 12. – P. 1071-1075.

210. Shopsin, B. Use of synthesis inhibitors in defining a role for biogenic amines during imipramine treatment in depressed patients / B. Shopsin, S. Gershon, M. Goldstein // Psychopharmacol Commun. – 1975. – Vol. 1. – P.239-249.

211. Simmerman, H.K. Phospholamban: Protein structure, mechanism of action, and role in cardiac function / H.K. Simmerman, L.R. Jones // Physiol Rev. – 1998. – Vol. 78. – I. 4. – P. 921-947.

212. Situdikova, G.F. Phosphorylation of bk channels modulates the sensitivity to hydrogen sulfide (h2s) / G.F. Situdikova, R. Fuchs, Kainz V. [et al.] // Frontiers in Physiology. – 2014. – T. 5. – P. 431.

213. Smith, S.A. The metabolism of L-tryptophan by isolated rat liver cells: effect of albumin binding and amino acid competition on oxidation of tryptophan by tryptophan 2,3-dioxygenase / S.A. Smith, C.I. Pogson // Biochem. J. – 1980. – Vol. 186. – P. 977-986.

214. Sommer, JR. The anatomy of the sarcoplasmic reticulum in vertebrate skeletal muscle: Its implications for excitation contraction coupling / JR. Sommer // Zeitschrift fur Naturforsch – Sect C J Biosci. – 1982. – Vol 37. – I. 7-8. – P. 665-678.

215. Soonpaa, M.H. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development / M.H. Soonpaa, K.K. Kim, L. Pajak // Am. J. Physiol. – 1996. – Vol. 271. – I. 5. – P. H2183-2189.
216. Stammers, AN. The regulation of sarco(endo)plasmic reticu-lum calcium-ATPases (SERCA) / A.N. Stammers, S.E. Susser [et al.] // Can J Physiol Pharmacol. – 2015. – Vol. 93. – N. 10. – P. 843-854.
217. Stehle, M. Isometric force kinetics upon rapid activation and relaxation of mouse, guinea pig, and human heart muscle studied on the subcellular myofibrillar level / M. Stehle, P. Kruger, K. Scherer [et al.] // Basic Res. Cardiol. – 2002. – Vol. 97. – 127-135.
218. Suetomi, T. Mutation-linked defective interdomain interactions within ryanodine receptor cause aberrant  $\text{Ca}^{2+}$  release leading to catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia / T. Suetomi, M. Yano, H. Uchinoumi [et al.] // Circulation. – 2011. – Vol. 124. – P. 682-694.
219. Sun, C. Physiology of cardiac development: From genetics to signaling to therapeutic strategies / C. Sun, M.I. Kontaridis // Current Opinion in Physiology. – 2018. – Vol. 1. – P. 123-139.
220. Sutko, J.L. Ryanodine receptor  $\text{Ca}^{2+}$  release channels: does diversity in form equal diversity in function / J.L. Sutko, J.A. Airey // Physiol. Rev. – 1996. – Vol. 76. – P. 1027-1071.
221. Tagliamonte, A. Free tryptophan in serum controls brain tryptophan level and serotonin synthesis / A. Tagliamonte, G. Biggio, L. Vargiu [et al.] // Life Sci. – 1973. – Vol. 12. – P. 277-287.
222. Talavera, K. Aspartate residues of the Glu-Glu-Asp-Asp (EEDD) pore locus control selectivity and permeation of the T-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel alpha1G / K. Talavera, M. Staes, A. Janssens // J Biol Chem. – 2001. – Vol. 276. – P. 45628-45635.

223. Talvenheimo, J. Mechanism of imipramine inhibition of platelet 5-hydroxytryptamine transport / J. Talvenheimo, P.J. Nelson, G. Rudnick // *J Biol Chem.* – 1979. – Vol. 254. – P. 4631-4635.
224. Taylor, M.W. Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism / M.W. Taylor, G.S. Feng // *FASEB J.* 1991. – Vol. 5. – P. 2516-2522.
225. Thomsen, W.J. Lorcaserin, a Novel Selective Human 5-Hydroxytryptamine 2C Agonist: in Vitro and in Vivo Pharmacological Characterization / W.J. Thomsen, A.J. Grottick, F. Menzaghi [et al.] // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2008. – N. 325. – P. 577-587.
226. Toyoshima, C. Structural changes in the calcium pump accompanying the dissociation of calcium / C. Toyoshima, H. Nomura // *Nature.* – 2002. – Vol. 418. – P. 605–611.
227. Tricklebank, M.D. Free and bound tryptophan in human plasma during the perinatal period / M.D. Tricklebank, F.J. Pickard, S.W. de Souza // *Acta Paediatr. Scand.* – 1979. – Vol. 68. – P. 199-204.
228. Uchinoumi, H. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia is caused by mutation-linked defective conformational regulation of the ryanodine receptor / H. Uchinoumi, M. Yano, T. Suetomi [et al.] // *Circ Res.* – 2010. – Vol. 106. – P. 1413-1424.
229. Ugriumov, M.V. Developing brain as an endocrine organ: a paradoxical reality / M.V. Ugriumov // *Neurochem Res.* – 2010. – Vol. 35. – P. 837-850.
230. VanBuren, P. Cardiac V1 and V3 myosins differ in their hydrolytic and mechanical activities in vitro / P. VanBuren, E. Harris D., R.A. Norman // *Circ. Res.* – 1995. – Vol. 77. – N. 2. – P. 439-444.
231. Vanhoutte, P.M. Serotonin and the vascular wal / P.M. Vanhoutte // *Int J Cardiol.* – 1987. – Vol.14. – N. 2. – P.189-203.

232. Verney, C. Changing distribution of monoaminergic markers in the developing human cerebral cortex with special emphasis on the serotonin transporter / C. Verney, C. Lebrand, P. Gaspar [et al.] // Anat Rec. – 2002. – Vol. – 267. – P. 87-93.
233. Vially, M. Cellule entreocromaffine e cellule basigranulose acidofile nei vertebrati / M. Vially, V. Ersperer // Zeitschr f Zellforsch. – 1933. – Vol. 19. – P. 743-773.
234. Villanueva, J.E. Functional recovery after dantrolene-supplementation of cold stored hearts using an ex vivo isolated working rat heart model / E. J. Villanueva, G. Ling, C. C. Hong [et al.] //Journal List PLoS One. – 2018. – Vol. 13. – P. 10.
235. Voss, J. The physical mechanism of calcium pump regulation in the heart / J. Voss, L.R. Jones, D.D. Thomas [et al.] // Biophys J. – 1994. – Vol. 67. – P. 190–196.
236. Walsh, M.P. Intracellular mechanisms involved in the regulation of vascular smooth muscle tone / M.P. Walsh, G.J. Kargacin, J. Kendrick-Jones [et al.] // Can J Physiol Pharmacol. – 1995. – Vol. 73. – P. 565-573.
237. Walther, D.J. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform / D.J. Walther, J.U. Peter, S. Bashammakh [et al.] // Science. – 2003. – Vol. 299. – P. 76.
238. Wang, R. Localization of the dantrolene-binding sequence near the FK506-binding protein-binding site in the three-dimensional structure of the ryanodine receptor / R. Wang, X. Zhong, X. Meng // J Biol Chem. – 2011. – Vol. 286. – P. 12202-12212.
239. Weiss, O. Über die Wirkungen von Blutserum-Injectionen ins Blut / O. Weiss // Archiv für die Gesamte Physiologie des Menschen und der Thiere LXV. – 1896. – P. 215-230.
240. Weiss, S.L. Regulation of cardiac Ltype  $\text{Ca}^{2+}$  channel CaV1.2 via the  $\beta$ -adrenergic-cAMP-protein kinase A pathway: old dogmas, advances, and new uncertainties / S.L. Weiss, S. Oz, A. Benmocha [et al.] // Circ Res. – 2013. – Vol. 113. – I. 5. – P. 617-31.

241. Wier, W.G. Cytoplasmic calcium in the mammalian ventricle: dynamic control by cellular processes / W.G. Wier // *Annu Rev Physiol.* – 1990. – Vol. 52. – P. 467-4854.
242. Willins, D.L. Serotonin 5-HT2A Receptors Are Expressed on Pyramidal Cells and Interneurons in the Rat Cortex / D.L. Willins, A.Y. Deutch, B.L. Roth // *Synapse.* – 1997. – N. 27. – P. 79-82.
243. Wu, T-J. Chen Mother Rotors and the Mechanisms of D600-Induced Type 2 Ventricular Fibrillation / T-J. Wu, S-F. Lin, A. Baher [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110. – I. 15. – P. 2110-2118
244. Xichun, L. Modification of distinct ion channels differentially modulates Ca<sup>2+</sup> dynamics in primary cultured rat ventricular cardiomyocytes / L. Xichun, S. Liping, Z. Fang [et al.] // *Jornal List Scientific Reports.* – 2017. – Vol. 7. – P. 40952.
245. Yamashita, H. Sliding velocity of isolated rabbit cardiac myosin correlates with isozyme distribution / H. Yamashita, S. Sugiura, T. Serizawa, [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1992. – Vol. 263. – I. 2. – P. 464-472.
246. Yamazaki, F. Human indolylamine 2, 3-dioxygenase, its tissue distribution, and characterization of the placental enzyme / F. Yamazaki, T. Kuroiwa, O. Takikawa [et al.] // *Biochem. J.* – 1985. – Vol. 230. – P. 635-638.
247. Yang, J. Molecular determinants of Ca<sup>2+</sup> channels / J. Yang, P.T. Ellinor, W.A. Sather [et al.] // *Nature.* – 1993. – Vol. 366. – P. 158-161.
248. Yavarone, M.S. Serotonin and cardiac morphogenesis in the mouse embryo / M.S. Yavarone, D.L. Shuey, H. Tamir [et al.] // *Teratology.* – 1993. – Vol. 47. – N. 6. – P.573-584.
249. Yusuf, S. Use of secondary prevention drugs for cardiovascular disease in the community in high-income, middle-income, and low-income countries: a prospective epidemiological survey / S. Yusuf, S. Islam, C.K. Chow [et al.] // *Lancet.* – 2011. – Vol. 1. – N. 378. – I. 9798. – P.1231-1243.

250. Zamiri, N. Dantrolene improves survival after ventricular fibrillation by mitigating impaired calcium handling in animal models / N. Zamiri, S. Masse, A. Ramadeen [et al.] // Circulation. – 2014. – Vol. 129. – P. 875–885.
251. Zanardo, V. Level of total and free tryptophan in maternal and in umbilical blood of infants born by vaginal delivery and by elective cesarian section / V. Zanardo, L. Casson, C. Costa [et al.] // Biol. Neonate. – 1985. – Vol. 48. – P. 346-350.
252. Zhang, J. Serotonin deficiency exacerbates acetaminophen-induced liver toxicity in mice / J. Zhang, S. Song, Q. Pang // Sci Rep. – 2015. – Vol. 5. – P. 8098.
253. Zhao, F. Dantrolene inhibition of ryanodine receptor  $\text{Ca}^{2+}$  release channels. Molecular mechanism and isoform selectivity / F. Zhao, P. Li, S.R. Chen [et al.] // J Biol Chem. – 2001. – Vol. 276. – P. 13810-13816.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- 5-HT – 5 hydroxytryptamine – серотонин
- IDO – 2,3-диоксигеназа индоламин
- NEFA – плазменные неэстерифицированные жирные кислоты
- RyR – рианодиновые рецепторы
- SERCA – кальциевая АТФ-аза саркоплазматического ретикулума
- SERT – serotonin transporter – мембранный переносчик серотонина
- TDO – 2,3 -диоксигеназа
- Thp – триптофангидроксилаза
- АВ – атриовентрикулярный узел
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- ПД – потенциал действия
- PCPA – пара-хлор-фенил-аланин
- СА – синоатриальный узел
- СПР, SR – саркоплазматический ретикулум
- цАМФ – циклический аденоzinмонофосфат
- цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**



Рисунок 1 – Направления и объем исследований

**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор по УВР и МП

ФГБОУ ВО «Казанская государственная

академия ветеринарной медицины имени

Н.Э. Баумана»

доцент Д.Н. Мингалеев

«27» апреля 2022 г.

## Акт

о внедрении в учебный процесс результатов кандидатской диссертации  
Недорезовой Регины Сергеевны на тему: «Влияние блокады синтеза  
серотонина в эмбриональном периоде на регуляцию сократимости миокарда  
в раннем постнатальном онтогенезе крыс»

Результаты диссертационной работы Недорезовой Регины Сергеевны  
используются при чтении лекций и на практических занятиях на факультете  
ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия  
ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» при изучении дисциплин  
«Физиология животных», «Основы физиологии».

Декан факультета ветеринарной медицины  
ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия  
ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана»,  
кандидат ветеринарных наук, доцент



Ф.М. Нургалиев

## Приложение 3



Акт

о внедрении в учебный процесс результатов кандидатской диссертации  
Недорезовой Регины Сергеевны на тему: «Влияние блокады синтеза  
серотонина в эмбриональном периоде на регуляцию сократимости миокарда  
в раннем постнатальном онтогенезе крыс»

Результаты диссертационной работы Недорезовой Регины Сергеевны  
используются при чтении лекций и на практических занятиях на кафедре  
нормальной физиологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России при  
изучении дисциплины «Нормальная физиология» и элективного курса  
«Особенности функционирования сердца в период эмбрионального развития  
человека».

И.о. заведующего кафедрой  
нормальной физиологии  
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ  
Минздрава России,  
доктор медицинских наук, доцент

М.А.Мухамедьяров



