

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
"Национальный исследовательский Нижегородский государственный  
университет им. Н.И. Лобачевского"

*На правах рукописи*

**КОТИХИНА ЕЛЕНА ЕВГЕНЬЕВНА**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫХ  
ХАРАКТЕРИСТИК БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ  
МИОКАРДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭПИКАРДИАЛЬНЫХ  
МИКРОЭЛЕКТРОДНЫХ МАТРИЦ**

Специальность – 1.5.5 – физиология человека и животных

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
д.б.н., проф. И.В. Мухина

Нижегород – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ	7
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Изучение биоэлектрической активности сердца методом мультиэлектродного картирования	16
1.1.1 Использование микроэлектродной техники для изучения биоэлектрической активности сердца на клеточном уровне	17
1.1.2 Мультиэлектродное картирование биоэлектрической активности миокарда	20
1.2 Изменение биоэлектрической активности сердца в зависимости от условий, влияющих на ионную проницаемость клеток миокарда	26
1.2.1 Роль потенциал-независимых депо-управляемых кальциевых каналов в регуляции биоэлектрической активности сердца	27
1.2.2 Влияние режима гипоксия/реоксигенация на состояние сердечно-сосудистой системы	31
1.2.2.1 Влияние режима гипоксия/реоксигенация на биоэлектрическую активность миокарда	32
1.2.2.2 Роль потенциал-независимых депо-управляемых кальциевых каналов в сердце в условиях гипоксии/реоксигенации	34
1.2.3 Изменение биоэлектрической активности сердца в условиях механического воздействия	35
1.2.3.1 Механоэлектрическая обратная связь в миокарде	35
1.2.3.2 Роль механочувствительных каналов в формировании механоэлектрической обратной связи	38
Глава 2. Материалы и методы	41

2.1	Общая характеристика и протокол исследования	41
2.2	Перфузия изолированного сердца крысы методом Лангендорфа	44
2.2.1	Блокировка депо-зависимого кальциевого входящего тока в изолированном сердце крысы	47
2.2.2	Моделирование условий гипоксии и реоксигенации во время перфузии изолированного сердца крысы	48
2.2.3	Моделирования растяжения правого предсердия изолированного перфузируемого сердца крысы	48
2.3	Получение первичных культур кардиомиоцитов крысы	49
2.4	Окрашивание гистологических срезов желудочков сердец крыс методом гемалаун Майера-Эозин	51
2.5	Оценка влияния гипоксии на миокард методом энзиматического определения соотношения концентраций лактат/пируват	52
2.6	Мультиэлектродное картирование биоэлектрической активности изолированного сердца крысы	53
2.6.1	Анализ ритма сердечных сокращений	58
2.6.2	Анализ временной задержки проведения волны возбуждения в миокарде с эпикардальной поверхности желудочков сердца	58
2.6.3	Анализ дисперсии реполяризации миокарда с помощью МЕА	62
2.7	Методы статистической обработки результатов исследования	64
	Глава 3. Результаты и обсуждение	65
3.1	Результаты мультиэлектродного картирования биоэлектрической активности миокарда изолированного перфузируемого сердца крысы гибкими МЕА с поверхности эпикарда	65
3.1.1	Электрограммы биоэлектрической активности миокарда, полученные с помощью МЕА с эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы	65

3.1.2 Активационные карты, полученные с помощью МЕА с эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы	67
3.1.3 Обсуждение полученных результатов	69
3.2 Исследование методом МЕА пространственно-временных и частотных характеристики электрической активности изолированного перфузируемого сердца крысы в условиях нормоксии при блокировке депо-управляемого кальциевого тока	76
3.2.1 Ритм сокращений изолированного перфузируемого сердца крысы	76
3.2.2 Латентность электрических сигналов, зарегистрированных с поверхности эпикарда	78
3.2.3 Дисперсия реполяризации миокарда	84
3.2.4 Влияние блокирования депо-зависимых кальциевых каналов на изменение характеристик ЛПП	85
3.2.5 Обсуждение полученных результатов	91
3.3 Изучение с помощью МЕА роли депо-управляемого кальциевого тока в регуляции электрической активности изолированного перфузируемого сердца крысы при гипоксии/реоксигенации	95
3.3.1 Ритм сокращений изолированного перфузируемого сердца крысы	96
3.3.2 Латентность электрических сигналов, зарегистрированных с поверхности эпикарда	99
3.3.3 Дисперсия реполяризации миокарда	101
3.3.4 Влияние блокирования депо-зависимых кальциевых каналов при гипоксии на изменение характеристик ЛПП	103
3.3.5 Обсуждение полученных результатов	105
3.4 Применение МЕА для изучения особенностей хронотропного эффекта, вызванного растяжением правого предсердия, при блокаде депо-управляемого кальциевого тока на фоне нормоксии и	107

гипоксии/реоксигенации	
3.4.1 Ритм сокращений изолированного перфузируемого сердца крысы	107
3.4.2 Латентность электрических сигналов, зарегистрированных с поверхности эпикарда	113
3.4.3 Дисперсия реполяризации миокарда	119
3.4.4 Обсуждение полученных результатов	122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	127
ВЫВОДЫ	129
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	130

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ДАГ - диацилглицерол

ДР – дисперсия реполяризации

ИМП – интервал между потенциалами

ИФ<sub>3</sub> – инозитол-3-фосфат

ИФ<sub>3</sub>P – рецептор инозитол-3-фосфата

ЛДГ - лактатдегидрогеназы

ЛПП – локальный полевой потенциал

ЛЭС - латентность электрического сигнала

МСК – механосенситивные каналы

ПД90% – 90% длительности потенциала действия

рКХ – раствор Кребса-Хензелейта

рПП – растяжение правого предсердия

сПП – стандартная механическая нагрузка на правое предсердие

СПР – саркоплазматический ретикулум

ЭКГ - электрокардиограмма

ЭПР - эндоплазматический ретикулум

2-*apb* - 2-aminoethoxydiphenyl borate, 2-аминоэтоксидифенил борат

CRAC - calcium release activated channels, каналы, активируемые выбросом ионов Ca<sup>2+</sup>

CV - coefficient of variation, коэффициент вариации

MEA – microelectrode arrays, микроэлектродные матрицы

SOCE - store-operated calcium entry, депо-управляемый входящий ток Ca<sup>2+</sup>

STIM - stromal interacting molecule, стромальная молекула взаимодействия

TRP - Transient receptor potential

TRPC - Transient receptor potential canonical

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность исследования**

Сердце является центральным органом системы кровообращения, сохранение функциональных характеристик которого влияет на жизнеспособность организма в целом. Одними из важных свойств сердца, координирующих работу как самого органа, так и всей системы кровообращения, являются автоматия и проводимость. Нарушение распространения электрического фронта в миокарде и формирование петли *re-entry* лежат в основе механизма фибрилляции желудочков, которая является наиболее частой причиной внезапной сердечной смерти (Parrone, Negro, Ciconte, 2021). В клинической практике обнаружение очагов фибрилляции проводится методом многоканального картирования (Бокерия, Шалов, 2019; Артюхина и др., 2022).

В научных исследованиях наиболее информативными в изучении пространственно-временных характеристик биоэлектрической активности миокарда являются метод оптического картирования (George, Lin, Efimov, 2022) и метод интрамуральных игольчатых электродов (Taccardi et al., 2008; Рощевская, Гуляева, Рощевский, 2013; Нужный, Киблер, Шмаков, 2018; Anderson et al., 2022).

Благодаря развитию высокотехнологичных методов в области создания микроэлектродов большие перспективы открываются в использовании микроэлектродных матриц (МЕА, *microelectrode arrays*) для картирования биоэлектрической активности сердца с небольшого участка поверхности эпикарда (Martin et al., 2018; Campos et al., 2019; Ladas et al., 2019).

Волны возбуждения в миокарде распространяются интрамурально и прорываются на поверхность эпикарда в виде вспышек (Taccardi et al., 2008; Рощевская, Гуляева, Рощевский, 2013). Поэтому для исследования биоэлектрической активности с поверхности эпикарда при помощи МЕА

необходимо, чтобы расстояние между регистрирующими электродами было соразмерно нескольким кардиомиоцитам (Johnston, Johnston, 2020), между которыми передается возбуждение. Внеклеточные локальные полевые потенциалы, зарегистрированные МЕА с поверхности миокарда, близки по форме к потенциалу действия мембраны кардиомиоцита (Melle et al., 2020). Применение метода микроэлектродного картирования с клеточным разрешением позволило бы выявить многие особенности механизма проведения возбуждения в миокарде в норме и при воздействии регулирующих факторов, таких как ионная проницаемость, гипоксия/реоксигенация, а также механическое воздействие (Salameh et al., 2020; Wang, Shi, Tong, 2021).

Биоэлектрические свойства сердца зависят от работы ионных каналов, в том числе, каналов для кальция. На сегодняшний день достаточно глубоко описана роль потенциал-зависимых кальциевых каналов в регуляции биоэлектрической активности сердца (Chen et al., 2021). Однако известно, что кроме потенциал-зависимых ионных каналов в обмене кальция принимают участие «потенциал-независимые» каналы (Eisner, 2018). Среди них интересной и малоизученной является группа каналов, обеспечивающих депо-зависимый входящий ток ионов кальция (SOCE, store-operated calcium entry). Было показано, что SOCE принимает участие в развитии аритмий (Wen et al., 2018; Bonilla et al., 2019; Njegic, Wilson, Cartwright, 2020; Rosenberg et al., 2021), изменении активности синоатриального узла (Rosenberg, Katz, Bryson, 2019), в возникновении спонтанных кальциевых токов, аритмогенных кальциевых волн, перегрузки цитоплазмы и саркоплазматического ретикулума ионами кальция и триггерной активности (Wen et al., 2018; Cacheux et al., 2019). Депо-зависимый кальциевый ток вносит вклад в развитие характерной для гипоксии и реоксигенации кальциевой перегрузки клеток миокарда (Collins et al., 2019; Nan et al., 2021). Представители ионных каналов Transient receptor potential canonical

(TRPC), участвующие в регуляции депо-зависимого кальциевого тока, также являются механочувствительными (Wang, Shi, Tong, 2021; Barbeau et al., 2021).

Гипоксия – фактор, вызывающий существенные перестройки метаболических путей, в том числе изменение ионных токов (Li et al., 2020). Необходимая с точки зрения сохранения жизнедеятельности кардиомиоцитов реоксигенация не только не способствует снижению уровня окислительного стресса, а, наоборот, провоцирует его усугубление (Heusch, 2020). Возникающий при гипоксии/реоксигенации электролитный дисбаланс отражается на электрофизиологических свойствах миокарда и приводит к нарушению работы сердца (Zhang et al., 2020b; Yoo, Kim, 2021).

Механоэлектрическая обратная связь в миокарде – это последовательность реакций, в результате которой механическая стимуляция провоцирует возникновение электрических потенциалов (Lab, 1996; Izu et al., 2020; Quinn, Kohl, 2021; Peyronnet et al., 2021). Механо-индуцированные изменения электрофизиологических процессов в сердце могут иметь важные клинические последствия (Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021; Quinn, Kohl, 2021). Особая роль в формировании механоэлектрической обратной связи в сердце отводится механочувствительным каналам (Kamkin, Kiseleva, Isenberg, 2000; Zhang, Walcott, Rogers, 2018; Quinn, Kohl, 2021). Открытым является вопрос, какую роль играют данные ионные каналы в ответе сердца на механическое воздействие.

Таким образом, с помощью МЕА в изолированном активно сокращающемся сердце можно исследовать механизмы изменения биоэлектрической активности миокарда в ответ на нарушение нормальной ионной проводимости, кислородной регуляции и механической нагрузки на предсердия без влияния регуляторных систем организма.

## **Цель работы**

Исследовать пространственно-временные параметры биоэлектрической активности миокарда перфузируемого изолированного сердца крыс в норме и при воздействии физико-химических факторов регуляции его электрофизиологических свойств методом микроэлектродного картирования эпикарда.

## **Задачи исследования:**

1. изучить с помощью микроэлектродных матриц пространственно-временные характеристики биоэлектрической проводимости миокарда левого желудочка изолированного сердца крысы в условиях нормальной перфузии крысы и при блокаде депо-зависимых кальциевых каналов;

2. проанализировать с использованием микроэлектродных матриц изменения параметров биоэлектрической активности левого желудочка изолированного перфузируемого сердца крысы при блокаде депо-зависимых кальциевых каналов в условиях гипоксии/реоксигенации;

3. исследовать с применением микроэлектродных матриц изменения пространственно-временных характеристик биоэлектрической активности левого желудочка изолированного перфузируемого сердца крысы в ответ на растяжение правого предсердия при блокаде депо-зависимых кальциевых каналов в условиях нормоксии и гипоксии/реоксигенации.

## **Научная новизна работы**

Впервые благодаря использованию многоканального картирования микроэлектродными матрицами было продемонстрировано, что совокупность таких изменений биоэлектрической активности сердца как учащение ритма сердечных сокращений, увеличение задержки распространения волны возбуждения и увеличение длительности начальной фазы и дисперсии

реполяризации локальных полевых потенциалов, предшествовали возникновению фибрилляции желудочков при блокировании депо-зависимого кальциевого тока.

Впервые с помощью многоканального картирования микроэлектродными матрицами оказалось возможным изучить изменения пространственно-временных и частотных параметров биоэлектрической активности сердца и установить, что присутствие таких факторов регуляции электрофизиологических свойств миокарда, как гипоксия и растяжение правого предсердия способны предотвращать или задерживать во времени развитие фибрилляции желудочков, спровоцированной блокировкой каналов депо-зависимого кальциевого тока. Было показано, что данное явление может быть объяснено отсутствием или задержкой во времени моментов одновременного сокращения интервалов сердечных сокращений и увеличения задержки распространения волны возбуждения, а также сокращением начальной фазы реполяризации локальных внеклеточных потенциалов при гипоксии.

Благодаря использованию гибких микроэлектродных матриц для картирования биоэлектрической активности миокарда изолированного перфузируемого сердца крысы впервые было выявлено, что положительный хронотропный эффект от растяжения правого предсердия сопровождается сокращением задержки проведения электрического сигнала в миокарде левого желудочка, а блокада механочувствительных депо-зависимых кальциевых каналов отменяет снижение интервала между сердечными сокращениями и предотвращает сопутствующее этому ускорение распространения волны возбуждения.

### **Научно-практическая значимость**

Научно-практическая значимость проведенного исследования заключается в разработке метода анализа распространения волны возбуждения

в миокарде с использованием эпикардального картирования гибкими микроэлектродными матрицами.

Апробированный на изолированных сердцах животных метод в дальнейшем может быть внедрен в практическую медицину для оценки проводимости миокарда при операциях на сердце за счет локального наложения МЕА. Особыми преимуществами перед современными системами картирования сердца является исключительная компактность и мобильность гибких МЕА (РИД «Технология мультиэлектродного картирования биопотенциалов изолированного сердца крысы в условиях аритмии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Приказ № 117-ОД от 11.04.2013).

Представленные в диссертационной работе данные фундаментальные о роли депо-зависимого кальциевого тока в поддержании биоэлектрической активности сердца, полученные с использованием МЕА, расширяют теоретические представления о регуляции таких свойств сердца как проводимость и автоматия, позволяют выявить новые мишени терапевтического воздействия при повреждениях, вызванных гипоксией/реоксигенацией и механическим растяжением миокарда правого предсердия.

Полученные данные являются фундаментальной базой для разработки инновационных терапевтических подходов к коррекции функционирования сердечной мышцы при сердечно-сосудистых патологиях с учетом роли депо-зависимого кальциевого тока.

### **Методология и методы исследования**

Исследование выполнено на экспериментальной модели изолированного сердца крысы, перфузируемого по Лангендорфу. Анализ пространственно-временных и частотных характеристик биоэлектрической активности сердца осуществлялся методом мультиэлектродного картирования эпикарда гибкими МЕА с последующей математической обработкой данных. Для подтверждения

правильности интерпретации электрограмм, полученных с помощью гибких МЕА, был проведен гистологический анализ миокарда, взятого из левых желудочков сердец. Для оценки возможности МЕА в изучении динамических показателей проводимости сердца применяли различные регуляторы биоэлектрической активности кардиомиоцитов (неспецифический блокатор потенциал-независимых депо-управляемых  $Ca^{2+}$ -каналов - 2-аминоэтоксидифенил борат (2-арб), гипоксия/реоксигенация, механическое растяжение правого предсердия).

Также использовались методы получения первичных культур кардиомиоцитов крысы для сопоставления электрических потенциалов и метод биохимического анализа тканей для оценки степени гипоксии ткани сердца.

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

1. Учащение ритма сердечных сокращений, увеличение задержки распространения волны возбуждения и увеличение длительности начальной фазы и дисперсии реполяризации локальных полевых потенциалов предшествуют возникновению фибрилляции желудочков изолированного сердца крысы при блокировании депо-зависимого кальциевого тока.

2. Условия гипоксии предупреждают вызванную блокировкой депо-зависимого кальциевого тока фибрилляцию желудочков изолированного сердца крысы за счет отсутствия одновременно возникающих явлений увеличения частоты сердечных сокращений и задержки электрического проведения в миокарде, а также сокращения длительности начальной фазы реполяризации локального полевого потенциала.

3. Положительный хронотропный эффект при растяжении правого предсердия не зависит от иннервации *n.vagus* и сопровождается более продолжительным положительным дромотропным эффектом (снижение значений латентности электрических сигналов), и оба эффекта отменяются при

блокаде механочувствительных ионных каналов, участвующих в формировании депо-зависимого кальциевого тока, а также гипоксии/реоксигенации.

### **Апробация работы**

Основные результаты исследования были представлены на 13 научно-практических конференциях и обсуждены в ходе докладов на: 10-й международной конференции, посвященной субстрат-интегрированным электродным матрицам (г. Ройтлинген, Германия, 2016 г.), VII Всероссийской школе-конференции по физиологии и патологии кровообращения (г. Москва, 2020 г.), Российских конференциях с международным участием «Экспериментальная и компьютерная биомедицина» памяти члена-корреспондента РАН В.С. Мархасина (г. Екатеринбург, 2016 г., 2021 г.), III Всероссийской (XVIII) молодежной научной конференции «Молодежь и наука на Севере» (г. Сыктывкар, 2018 г.), 68-ой ежегодной областной научной конференции студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление» (г. Н.Новгород, 2015 г.), 20-ой сессии молодых ученых (г. Н. Новгород, 2015 г.).

### **Личный вклад автора в получении научных результатов.**

При непосредственном участии автора был разработан дизайн диссертационного исследования, отработан метод многоканального картирования гибкими МЕА (Multichannel systems, Германия) проведены эксперименты, обработка и интерпретация исходных данных, были выполнены статистический анализ и сравнительное описание результатов. Также автором была проведена подготовка публикаций результатов проведенного исследования и их представление на научных конференциях. Выбор темы исследования, постановка задач и обсуждение полученных результатов проводились совместно с научным руководителем.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, главы описания и обсуждения полученных результатов, заключения и выводов. Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста.

Список цитируемой литературы содержит 12 отечественных и 213 зарубежных источников. Описание работы включает 1 таблицу и 42 рисунок.

## **Конкурсная поддержка**

Проект 0729-2021-013, выполняемый в рамках Государственного задания на выполнение научно-исследовательских работ лабораториями, прошедшими конкурсный отбор в рамках национального проекта «Наука и университеты», в отношении которых принято решение Бюджетной комиссии Минобрнауки России (от 14.09.2021 № БК-П/23) о предоставлении из федерального бюджета субсидии на финансовое обеспечение государственного задания на выполнение научно-исследовательских работ.

## **Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1 Изучение биоэлектрической активности сердца методом мультиэлектродного картирования**

Понятие биоэлектрическая активность подразумевает генерацию и проведение в миокарде электрических импульсов, которые возникают самопроизвольно или в ответ на раздражение благодаря таким свойствам сердца как автоматизм, возбудимость и проводимость. Изучение данных электрофизиологических процессов является важным объектом научного исследования для понимания принципов их формирования и причин нарушения деятельности сердца.

Для исследования биоэлектрической активности применяются системы регистрации электрических потенциалов. К принципиально важным элементам данных измерительных систем относятся электроды для регистрации и стимуляции, усилители и преобразователи биоэлектрических сигналов. В зависимости от объекта и цели научного исследования могут применяться электроды в разном количестве и разных конфигурациях (Johnston, Johnston, 2020). Со времен первых научных публикаций о получении Engelmann T.W. в 1875 г. одноканальных (Engelmann, 1875) и Lewis T. в 1915 г. многоканальных (Lewis, Rothschild, 1915) электрограмм развитие метода мультиэлектродной регистрации биоэлектрической активности сердца продолжалось параллельно ходу технологического прогресса. Внедрение в научно-исследовательское приборостроение полупроводниковых материалов обеспечило миниатюризацию регистрирующих систем, а стремительное развитие компьютерных технологий способствовало совершенствованию анализа электрограмм (Ladas et al., 2019).

Многоэлектродные матрицы используются для проведения экспериментальных исследований на таких биологических препаратах, как

культуры кардиомиоцитов (Hayes et al., 2019), сердечные срезы (Lane, Montaigne, Tinker, 2017) и изолированное сердце (Zhang et al., 2017a). Научные работы проводятся как на сконструированных непосредственно в лабораториях MEA (Imboden et al., 2020; Melle et al., 2020), так и на матрицах компаний-производителей с мировой известностью, наиболее востребованными среди которых считаются Multi-Channel Systems (Германия) (Lane, Montaigne, Tinker, 2017) и Axion Biosystems (США) (Hayes et al., 2019).

Учитывая стремительный прогресс в области компьютерных технологий, особенное значение при изучении электрофизиологии сердца, в том числе методом мультиэлектродного картирования, имеют методы математического моделирования биоэлектрической активности сердца (Petrov et al., 2019; Johnston, Johnston, 2020; Мангилева и др., 2022).

### **1.1.1 Использование микроэлектродной техники для изучения биоэлектрической активности сердца на клеточном уровне**

Оптимизация использования электродов в электрофизиологических исследованиях параллельно с развитием методик выделения и культивации жизнеспособных кардиомиоцитов привели к тому, что в настоящее время возможно изучать биоэлектрическую активность сердца на клеточном уровне.

С использованием микроэлектродов могут проводиться исследования параметров потенциала действия изолированных кардиомиоцитов предсердий или желудочков (Abramochkin, Kompella, Shiels, 2021), а также кардиомиоцитов в ткани (Zverev et al., 2018; Golovko, Kozlovskaya, Gonotkov, 2019).

Методом мультиэлектродного картирования могут быть проведены исследования частотных и пространственно-временных характеристик биоэлектрической активности культуры кардиомиоцитов (Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021).

В зависимости от научной задачи в качестве объекта исследования могут быть использованы первичные культуры эмбриональных, неонатальных или плюрипотентных кардиомиоцитов, полученных из стволовых клеток. Данные культуры отличаются довольно продолжительной жизнеспособностью, но не воспроизводят в полной мере взрослый фенотип, экспрессию белковых каналов, отвечающих за проведение некоторых ионных токов. Культуры взрослых кардиомиоцитов отличаются более низкой выживаемостью и сложностью культивации (Callaghan et al., 2020). Кардиомиоциты проявляют синхронную сократительную активность в культуре благодаря клеткам экстрацеллюлярного матрикса (Asahi et al., 2018), но не способны воспроизвести свойства сердечной ткани. Несмотря на ряд недостатков, культуры кардиомиоцитов являются перспективной и актуальной моделью для решения задач в области электрофизиологических исследований методом мультиэлектродного картирования (Melle et al., 2020).

Принцип устройства МЕА для анализа биоэлектрической активности клеточных культур заключается в наличии множества (от 4 до 1 024 и более) электродов, которые могут быть регистрирующими, референтными, заземляющими и стимулирующими. Размеры, форма и материалы (металлы, полимеры, гидрогели) для изготовления матрицы должны быть оптимизированы к условиям выращивания и содержания клеточных культур и регистрации их биоэлектрической активности. Кроме коммерческих брендов, таких как Multi-Channel Systems (Германия) и Axion Biosystems (США) МЕА самостоятельно конструируются во многих лабораториях в зависимости от цели эксперимента методами микрообработки, включая горячую литографию, микропечать, 3D биопечать, электропрядение и другие (Johnston, Johnston, 2020; Melle et al., 2020; Ji, Ren, Zorlutuna, 2021).

Выращиваемые на МЕА культуры кардиомиоцитов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, активно используются в

изучении патологических процессов, действия токсинов и в доклинических исследованиях фармацевтических препаратов (Kussauer, David, Lemcke, 2019; Bai et al., 2021). Изменение биоэлектрической активности в ответ на физические, химические, молекулярные и другие виды воздействия можно оценить по параметрам полевых потенциалов и ритму их генерации кардиомиоцитами (Andrysiak, Stepniewski, Dulak, 2021).

Полевой потенциал формируется за счет трансмембранных ионных токов и, как и потенциал действия, возникает за счет смены заряда на плазматической мембране кардиомиоцитов. Так как полевой потенциал регистрируется электродом вне клетки, то кривая зависимости значения напряжения от времени отклоняется в сторону отрицательных значений, а не положительных, как в случае с мембранным потенциалом действия. На формирование полевого потенциала будут влиять электрическое сопротивление и емкость между клеточной мембраной и поверхностью электрода. Было экспериментально установлено, что длительности полевого потенциала и потенциала действия совпадают (Halbach et al., 2003; Asahi et al., 2018; Schaefer et al., 2022). В настоящее время предпринимаются попытки решить проблему избыточного сопротивления в области контакта клеток с электродами матрицы за счет увеличения его площади (MEA с грибовидными электродами) или за счет использования матриц, перфорирующих клеточные мембраны (Hayes et al., 2019; Spira et al., 2019; Melle et al., 2020).

Полевой потенциал культуры кардиомиоцитов эквивалентен и потенциалу действия клеточной мембраны, и интервалу Q-T электрокардиограммы (ЭКГ). Так, удлинение продолжительности полевого потенциала соответствует удлинению интервала Q-T, что является известным маркером некоторых сердечных патологий и предиктором аритмий (Ando et al., 2017). Такое же значение имеет обнаружение ранних и задержанных постдеполяризаций (Asahi et al., 2018).

В качестве параметров биоэлектрической активности культуры кардиомиоцитов с помощью МЭА-систем могут быть проанализированы значения длительности и частоты возникновения полевого потенциала. За счет наличия множества электродов в матрице возникает возможность сопоставления во времени и пространстве моментов возникновения полевых потенциалов на разных электродах. Таким образом, появляется возможность исследовать скорость распространения электрической волны возбуждения (Wells et al., 2019; Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021). Одной из наиболее интересных задач, решение которой тесно связано с анализом данного параметра, является изучение щелевых контактов в регуляции межклеточной проводимости синцития миокарда (Kiss et al., 2022).

### **1.1.2 Мультиэлектродное картирование биоэлектрической активности миокарда**

Для анализа показателей ритма сократительной активности кардиомиоцитов, сердца или его структур достаточно одного регистрирующего электрода. При увеличении количества регистрирующих электродов в измерительной системе открывается возможность исследования биоэлектрической активности сердца в пространственно-временном разрешении.

Метод картирования биоэлектрической активности сердца множеством электродов активно используется в клинической практике. С помощью данного метода возможно выявление аритмогенных участков, анатомических субстратов для возникновения *re-entry*, оценки параметров распространения электрического возбуждения в сердце (Бокерия, Шалов, 2019; Orini et al. 2020; Proietti et al., 2021; Артюхина и др., 2022). Метод мультиэлектродного картирования позволяет анализировать такие параметры работы сердца, как

скорость проведения электрического возбуждения и дисперсия реполяризации, существенные изменения которых являются предикторами жизнеугрожающих аритмий (Martin et al., 2018; Campos et al., 2019; Bernikova et al., 2021).

Преимущество данного метода перед методом оптического картирования, который также позволяет изучать биоэлектрическую активность сердца в пространственно-временном разрешении, заключается в отсутствии необходимости использования потенциал-чувствительных красителей и вынужденного фармакологического прекращения сократительной активности сердца. Красители по некоторым данным могут быть токсичными, а препятствующие мышечным сокращениям вещества могут вызывать изменения биоэлектрических потенциалов (Kappadan et al., 2020; Swift et al., 2021; Zhu et al., 2022). При этом стоит отметить уникальные возможности метода оптического картирования одновременной регистрации биоэлектрической активности миокарда, динамики кальциевых токов и НАДН (George, Lin, Efimov, 2022).

Сердечной ткани свойственна анизотропия по скорости электрического проведения (Spach et al., 1981; van Schie et al., 2021). Данная особенность будет отражаться на результатах, полученных в ходе регистрации биоэлектрической активности сердца с поверхности миокарда. Например, в работе Arisi G. с соавторами в ходе экспериментов с электрической стимуляцией желудочка сердца собаки было сформулировано понятие «primary area» - распространение волны возбуждения эллипсоидной формы с разницей в скорости проведения вдоль и поперек фибрилл. Кроме того, наблюдаемая разница в скорости проведения волны возбуждения за пределами «primary area» объяснялась авторами присутствием в области проведения волокон Пуркинье (в случае ускорения) или межжелудочковой перегородки (в случае замедления) (Arisi et al., 1992). Те же наблюдения зависимости скорости от анатомических участков сердца были сделаны Taccardi V. et al., а также были описаны эллиптические

изохроны вблизи от точки эпикардиальной стимуляции с асимметричными выступлениями. Выступы на изохронах были объяснены авторами наличием электротонического притяжения со стороны спиралевидной субэпикардиальной части фронта волны, а асимметрия максимумов эпикардиальных потенциалов и смещение областей прорывов при более глубокой стимуляции - наклоном интрамуральных мышечных волокон в эпи-эндокардиальном направлении (Taccardi et al., 2008).

Большой вклад в изучение кардиоэлектрического поля разных видов животных был сделан научной группой Роцевской И.М. Исследователями была подробно изучена архитектура рабочего миокарда желудочков крыс методом послойного расщепления, и было показано, что миокард левого желудочка представлен тремя слоями – поверхностным (субэпикардиальным), средним и глубоким (субэндокардиальным). Было показано, что по отношению к продольной оси сердца миокардиальные волокна в поверхностном слое в основном располагаются параллельно в левом желудочке и перпендикулярно – в правом. Основная масса левого желудочка представлена средним слоем кольцевых волокон. В многочисленных экспериментальных исследованиях кардиоэлектрического поля сердец крыс авторами наблюдалась довольно сложная картина охвата возбуждением желудочков сердца, которая не имела четкой прямой связи с расположением миокардиальных пучков в субэпикарде. По мнению авторов, последовательность деполяризации миокарда зависит от строения и расположения терминалей проводящей системы сердца, расположения и направления мышечных пучков под электродами. Но, электрическое поле на поверхности желудочков сердца отражает не только изменение потенциалов в области отводящих электродов, но и электрическую активность нижележащих слоев миокарда (Роцевская, 2008).

Биоэлектрическая активность кардиомиоцитов различается в зависимости от локализации в сердце, от вида и возраста животного. Было установлено, что

распространение возбуждения по миокарду отличается у разных линий лабораторных крыс. Также, расхождения в результатах, полученных в ходе регистрации биоэлектрической активности сердца, могут быть обусловлены отличиями в методах исследования, принятых в разных лабораториях (Рощевская, 2008).

Одной из причин анизотропии является продолговатая форма кардиомиоцитов и разность в количестве щелевых контактов между латеральными поверхностями кардиомиоцитов и интеркалярными дисками (Hoyt, Cohen, Saffitz, 1989; Kléber, Jin, 2021). В миокарде кардиомиоциты объединяются в мышечные пучки, которые корганизованы в листы толщиной в несколько клеток. Между данными листами образуются пространства, в которых кардиомиоциты взаимодействуют друг с другом в сравнительно меньшей степени. Листы повернуты друг относительно друга, и закручиваются против часовой стрелки, выполняя толщу ткани между эндокардом и эпикардом (Johnston, Johnston, 2020). Рощевской И.М. с соавторами было показано, что скорость распространения волны возбуждения в интрамуральных слоях миокарда напрямую зависит от размера и количества проводящих волокон в миокардиальной стенке (Рощевская, Гуляева, Рощевский, 2013).

Учитывая особенности анатомического строения, возбудимости и проводимости миокарда принято считать, что для изучения скорости распространения фронта возбуждения в миокарде требуется проанализировать данный параметр в трехмерном разрешении (Cantwell et al. 2015; Johnston, Johnston, 2020; Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021). Для решения данной задачи используются игольчатые интрамуральные электроды с множественными отведениями. Электроды погружаются перпендикулярно поверхности в толщу миокарда (Taccardi et al., 2008; Рощевская, Гуляева, Рощевский, 2013; Нужный, Киблер, Шмаков, 2018; Anderson et al., 2022). Данный метод отличается травматичностью и может оказаться неприемлемым для решения ряда

экспериментальных задач (Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021). Благодаря разработанной в 1975 году д.б.н. Роцевским М.П. и д.б.н. Шмаковым измерительной системе, включающей многоканальный усилитель и множественные интрамуральные игольчатые электроды, было проведено обширное исследование, посвященное сравнительно-физиологическому анализу распространения возбуждения в сердце животных разных видов. Результаты исследования показали эволюционное разнообразие в характере проведения электрической волны в миокарде – от более примитивного «последовательного» до «многофокального», и сложного «вспышечно-последовательного» (Чермных, Шмаков, 2018).

Электрическое возбуждение, поступающее из глубины, может достигать эпикарда в одном или нескольких участках и затем распространяться во всех направлениях до столкновения с анатомической границей или фронтом другой волны. В том случае, если расстояние между электродами матрицы превышает 2 мм, один или несколько участков эпикардального прорыва могут быть не зарегистрированы (Taccardi et al., 2008). Согласно Johnston В.М. приемлемое для поверхностного картирования биоэлектрической активности миокарда расстояние между электродами составляет порядка 500 мкм (Johnston, Johnston, 2020). В современных МЕА, например, сконструированных Multichannel Systems (Германия), электроды располагаются на расстоянии друг от друга 300-750 мкм. На сегодняшний день опубликованы работы с применением подобных МЕА на изолированном сердце мыши с применением внешней электрической стимуляции, которая может влиять на электрофизиологические параметры сердца (Jungen et al., 2017; Jungen et al., 2018).

Методом поверхностного внеклеточного мультиэлектродного картирования осуществляется регистрация локальных полевых потенциалов (ЛПП). Термин «ЛПП» чаще применяется при описании биоэлектрической активности мозга или нейрональных культур и представляет собой

внеклеточные потенциалы - слабые токи и колебания напряжения, регистрируемые во внеклеточном матриксе, сформированные совокупностью ионных токов, протекающих на мембранах клеток ткани (Tomasello, Sive, 2020; Sinha, Narayanan, 2022).

Общепринято, что вариабельность сердечного ритма отражает динамику изменений функционального состояния организма, а именно, активность регуляторных механизмов, нейрогуморальной регуляции сердца, соотношение между симпатическим и парасимпатическим отделами вегетативной нервной системы (Баевский и др., 2002). Анализ вариабельности сердечного ритма – это мощный инструмент исследования реакции организма на изменение внешних и внутренних условий, например, при оценке реакции на стресс (Некрасова и др., 2019). Данный анализ не применим в изучении активности сердца вне организма. Но за счет анализа ритма генерации электрических потенциалов в препаратах изолированного сердца или тканей можно исследовать механизмы пейсмекерной активности (Golovko, Kozlovskaya, Gonotkov, 2019). Вне влияния регуляторных систем организма сердце способно отвечать изменением ритма сокращений на внешние воздействия также за счет деятельности интракардиальной нервной системы (Косицкий, 1975; Achanta et al., 2020).

Сопоставление частоты возникновения, формы и продолжительности ЛПП с отдельно взятых электродов МЕА матрицы и временной разницы между возникновениями данных потенциалов в пределах МЕА на миокарде существенно расширяет представление об электрической активности миокарда (Taccardi et al., 2008). Величина данной временной разницы, или задержки, – латентность электрического сигнала (ЛЭС) – представляет собой параметр распространения фронта возбуждения по эпикардиальной поверхности сердца. Дисперсия реполяризации обусловлена различием кардиомиоцитов в сердце по функциям, морфологии и биоэлектрической активности (Antzelevitch., 2005).

Увеличение показателя дисперсия реполяризации (ДР) может быть связано с повреждением миокарда, например, при ишемии (Bernikova et al., 2021).

Наиболее информативным методом визуализации данных, полученных путем многоэлектродного картирования, являются активационные карты – графики, интерпретирующие пространственно-временные параметры распространения возбуждения на эндокарде, эпикарде или в интрамуральных слоях миокарда (Ladas et al., 2019). Активационные карты строятся по значениям "моментов активации" (local activation times) или "локальных времен активации" (Ревешвили и др., 2016). Моменты активации соответствуют возникновению потенциалов действия в клетках в области внеклеточной регистрации биоэлектрических сигналов и на электрограмме определяются как максимум крутизны спада ЛПП (dV/dt) (Ng et al., 2019).

Задача изучения биоэлектрических волновых процессов в сердце является первостепенной в области исследования и лечения сердечно-сосудистых патологий. Так как именно нарушение распространения электрического фронта в миокарде и формирование петли *re-entry* лежит в основе механизма фибрилляции желудочков, которая становится наиболее частой причиной внезапной сердечной смерти (Pappone, Negro, Ciconte, 2021).

## **1.2 Изменение биоэлектрической активности сердца в зависимости от условий, влияющих на ионную проницаемость клеток миокарда**

Одной из задач изучения биоэлектрической активности сердца является оценка его функционирования в зависимости от изменения внешних и внутренних факторов влияния на электрофизиологические свойства миокарда. Наиболее важным из этих факторов является формирование мембранных ионных токов. Особую роль в сердце играют кальциевые токи и обеспечивающие их протекание ионные каналы (Chen et al., 2021). Состояние

данных каналов может зависеть от таких условий, как гипоксия и реоксигенация, а также механическое воздействие на миокард (Salameh et al., 2020; Wang, Shi, Tong, 2021). Поэтому интересной задачей является оценка чувствительность метода мультиэлектродного картирования с помощью МЭА к изменению электрической проводимости миокарда под влиянием факторов, регулирующих внутриклеточную кальциевую динамику в сердце.

### **1.2.1 Роль потенциал-независимых депо-управляемых кальциевых каналов в регуляции биоэлектрической активности сердца**

На сегодняшний день достаточно глубоко описана роль потенциал-зависимых кальциевых каналов в регуляции биоэлектрической активности сердца (Chen et al., 2021). Кроме потенциал-зависимых кальциевых каналов существенное значение для поддержания внутриклеточной кальциевой концентрации имеют потенциал-независимые рецептор-управляемые и депо-управляемые кальциевые каналы. В ответ на стимуляцию внеклеточных лигандов мембранных рецепторов, таких как G-белок-связанный рецептор и рецепторные тирозинкиназы, происходит активация фосфолипазы C с образованием вторичных посредников – диацилглицерол (ДАГ) и инозитол-3-фосфат (ИФ<sub>3</sub>). Рецептор-управляемый входящий кальциевый ток образуется под воздействием ДАГ. ИФ<sub>3</sub> за счет стимуляции ИФ<sub>3</sub>P провоцирует выход ионов кальция из депо эндоплазматического/саркоплазматического ретикулума (ЭПР/СПР) в цитозоль. Данное событие вызывает поступление ионов кальция в клетку из внеклеточной среды за счет SOCE (Lewis, 2020).

SOCE – входящий в клетку ток ионов кальция в ответ на снижение кальциевой концентрации в депо ЭПР/СПР (Bird, Putney, 2018). В SOCE могут принимать участие каналы, в разной степени селективные для кальция, особое место среди них занимают каналы, активируемые выбросом ионов кальция

(CRAC, calcium release activated channels). CRAC состоят из порообразующих субъединиц Orai на плазматической мембране, представленных в трех изоформах (Gudlur, Hogan, 2017). Также в  $I_{CRAC}$  задействованы чувствительные к опустошению ЭПР/СПР стромальные молекулы взаимодействия (STIM, stromal interacting molecule), которые кодируются двумя генами - STIM1 и STIM2. После снижения концентрации ионов кальция до уровня 400-800 мкмоль в ЭПР/СПР STIM1 перемещается к области взаимодействия плазматической мембраны и мембраны ЭПР/СПР, где формируется регион активации SOAR с молекулой Orai1. Orai1 переходит в открытое состояние и обеспечивает SOCE (Liou et al., 2005; Zhang et al., 2005; Lunz, Romanin, Frischauf, 2019).

К менее селективным для кальция каналам, обеспечивающим SOCE, многие исследователи относят каналы подсемейства Transient receptor potential canonical (TRPC) семейства Transient receptor potential (TRP) (Ambudkar, de Souza, Ong, 2017). Подсемейство TRPC включает семь представителей: TRPC1-TRPC7 (Samanta, Hughes, Moiseenkova-Bell, 2018). Все они, за исключением TRPC2, экспрессируются в организме человека, в том числе в сердечно-сосудистой системе. Присутствие представителей подсемейства TRPC было показано на плазматической мембране и на мембране СПР кардиомиоцитов (Hof et al., 2019; Hu et al., 2020). В зависимости от типа клетки и специфики кальциевой сигнализации каналы TRPC и молекулы CRAC могут образовывать комплексы и обеспечивать проведение кальциевого тока (Bodnar et al., 2017; Baudel et al., 2020).

SOCE обнаружен в кардиомиоцитах (Sabourin et al., 2018; Gusev et al., 2019; Shiou et al., 2019), фибробластах клеток сердца и сосудов (Ross et al., 2017; Mohis et al., 2018). SOCE присутствует в эндотелиальных клетках (Zhou et al., 2018) и клетках гладкой мускулатуры (Baudel et al., 2020).

Считается, что участие SOCE при нормальных физиологических условиях в процессах, регулирующих функционирование сердечно-сосудистой системы, невелико (Bootman, Rietdorf, 2017; Collins et al., 2019). В то же время некоторые авторы считают SOCE одним из важных механизмов регуляции внутриклеточной кальциевой концентрации и кальциевой сигнализации (Bhullar, Shah, Dhalla, 2019; Lewis, 2020). Изменения SOCE в сердечно-сосудистой системе имеют негативные последствия, способные вызывать кардиомиопатии, нарушения функции внутриклеточных органелл, в частности ЭПР, митохондрий и миофибрилл, и общей функциональной активности сердца (Parks et al., 2016; Collins et al., 2019; Petersen, Wolf, Smyth, 2020; Nan et al., 2021). Повышенная экспрессия и изменения в соотношении участников SOCE в миокарде наблюдается при сердечной недостаточности (Čendula et al., 2019). Особую роль для SOCE отводят в формировании гипертрофического ответа в кардиомиоцитах (Wu et al., 2019) за счет его участия в активации кальциневрин/NFAT механизма или при участии протеин-киназы - мишени рапамицина млекопитающих (Avila-Medina et al., 2018; Bonilla et al., 2019).

С деятельностью депо-управляемых кальциевых каналов может быть связана взаимная регуляция механизмов развития мембранного потенциала действия и внутриклеточной кальциевой сигнализации (Cacheux et al., 2019). В синоатриальном узле SOCE участвует в поддержании ионных токов клеточной мембраны и СПР, то есть «мембранных часов» и «кальциевых часов», и вносит вклад в развитие диастолической деполяризации (Hof et al., 2019). А повышение активности TRPC, участвующих в SOCE, по некоторым данным вызывает кальциевую перегрузку и аритмии (Njagic, Wilson, Cartwright, 2020).

Нарушение SOCE способствует образованию эктопических очагов, вызывает пространственную рассинхронизацию и замедление проведения возбуждения в миокарде, увеличивает предрасположенность к предсердным и желудочковым фибрилляциям и ранней смерти в результате остановки сердца

(Cacheux et al., 2019; Luo et al., 2020; Rosenberg et al., 2021). При учащенной внешней электрической стимуляции предсердий мышей с подавленным SOCE развивалась фибрилляция, за счет запуска механизма *re-entry* по причине замедления электрического проведения (Zhang et al., 2020a; Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021;).

В проведенном исследовании в качестве блокатора SOCE применялся 2-аминоэтоксидифенил борат (2-apb, 2-aminoethoxydiphenyl borate). Данное вещество является одним из наиболее часто используемых модуляторов деполяризованного кальциевого тока (Schild et al., 2020). 2-apb – искусственно синтезированное химическое соединение, изначально представленное как ингибитор ИФ<sub>3</sub>-индуцированного Ca<sup>2+</sup> релиза (Miyuyama et al., 1997). Позже было показано, что 2-apb способен модулировать кальциевые токи, возникающие без участия ИФ<sub>3</sub>P (Dobrydneva, Blackmore., 2001), в частности, SOCE (Ambudkar, de Souza, Ong, 2017; Lilliu et al., 2021). Установлено, что 2-apb может регулировать состояние участвующих в кальциевой проводимости каналов из семейств TRP (Moriyama et al., 2017; Singh et al., 2018) и CRAC (Emrich et al., 2019; Liang et al., 2021). Также существуют данные о том, что 2-apb вызывает разобщение щелевых контактов (Yang et al., 2019).

Мишень 2-apb зависит от выбранной концентрации и объекта исследования (Bakowski, Murray, Parekh, 2021). В представленной работе при концентрации 2-apb в растворе 10 мкМоль возникала фибрилляция желудочков изолированного сердца крысы. В данной концентрации 2-apb использовался другими авторами в качестве ингибитора или блокатора TRPC1 каналов (Kojima et al., 2010), ИФ<sub>3</sub>P (Uhlén et al., 2006; Wacker et al., 2009) и SOCE (Dale et al., 2018; Gusev et al., 2019). Использование блокатора в данных исследованиях препятствовало повышению внутриклеточной кальциевой концентрации в ответ на тот или иной вид биохимического воздействия в кардиомиоцитах (Wacker et al., 2009; Kojima et al., 2010), в клетках гладкой мускулатуры сосудов (Dale et al.,

2018) и фибробластах (Uhlén et al., 2006). Фибрилляция изолированного сердца крысы при использовании блокатора 2-арб (C=22 мкМоль) наблюдалась в исследованиях Wang P. с соавторами (Wang et al., 2012).

Таким образом, результаты многочисленных исследований SOCE в сердечно-сосудистой системе позволяют рассматривать данный механизм регуляции кальция как перспективный объект исследования в изучении электрофизиологии сердца.

### **1.2.2 Влияние режима гипоксия/реоксигенация на состояние сердечно-сосудистой системы**

Гипоксия – это пагубный процесс, вызывающий оксидативный стресс и существенные перестройки метаболических путей, к которым чрезвычайно чувствительны органы сердечно-сосудистой системы (Li et al., 2020). Гипоксия приводит к нарушению работы АТФ-зависимых ионных каналов. Вследствие снижения активности кальциевых насосов клеточной мембраны и мембраны СПР происходит повышение внутриклеточной кальциевой концентрации в кардиомиоцитах. Снижение активности натрий-калиевой-АТФазы, а также деятельность натрий-водородного обменника в условиях вызванного анаэробным гликолизом ацидоза, приводят к увеличению внутриклеточной натриевой концентрации. Натрий-кальциевый обменник, в связи с этим, начинает работать в реверсивном режиме. Все вышеперечисленные события способствуют развитию кальциевой перегрузки (Salameh et al., 2020).

Окислительный стресс может быть вызван гипоксией и реоксигенацией. Реоксигенация не способствует снижению уровня окислительного стресса, а, наоборот, провоцирует его усугубление (Heusch, 2020).

Гипоксия/реоксигенация может рассматриваться как отдельное явление, но также неотъемлемо сопровождает условия ишемии/реперфузии. В ходе

ишемии/реперфузии повреждение сердца возникает при возобновлении перфузии после ишемии, и характеризуется усугублением последствий ишемического воздействия вместо ожидаемого восстановления нормальной работы сердца (Wu et al., 2018). Физиологические эффекты гипоксии/реоксигенации и ишемии/реперфузии принципиально отличаются отсутствием субстратного голодания и кальциевого парадокса в первом случае. Феномен кальциевого парадокса является следствием возобновления входа ионов кальция в кардиомиоциты после периода ишемии или перфузии сердца бескальциевым раствором и выражается в контрактуре миофибрилл и клеточной смерти (Ferencik, Blankstein, Nasir, 2019). Кислородный парадокс, который наблюдается при реоксигенации, выражается в более интенсивном, чем при гипоксии, образовании активных форм кислорода (АФК) и нарушении внутриклеточных ионных концентраций (Carbone, Bonaventura, Montecusco, 2020).

Во время реоксигенации вновь поступающий в клетки кислород участвует в активации реакций электрон-транспортной цепи, провоцируя неконтролируемое образование электронов переносчиками дыхательной цепи митохондрий и продукцию АФК. Антиоксидантные системы кардиомиоцитов не справляются с резко возросшей концентрацией АФК, в связи с чем может произойти окислительное повреждение клеточных структур и потеря жизнеспособности кардиомиоцитов (Pascalet et al., 2020).

### **1.2.2.1 Влияние режима гипоксия/реоксигенация на биоэлектрическую активность миокарда**

При гипоксии/реоксигенации претерпевают изменения входящие натриевые токи, калиевый ток аномального внутреннего выпрямления, медленная компонента калиевого тока задержанного выпрямления и др. (Souza

et al., 2019). Возникающий электролитный дисбаланс приводит к нарушению нормального автоматизма, появлению триггерной активности, рассинхронизации длительностей потенциалов действия в клетках миокарда и возникновению жизнеугрожающих аритмий (Zhang et al., 2020b; Yoo, Kim, 2021). Обусловленные гипоксией/реоксигенацией нарушения состояния щелевых контактов и межклеточных взаимодействий могут негативно влиять на скорость электрического проведения в сердце и гетерогенность данного показателя, что является существенным аритмогенным фактором (Kohutova et al., 2019; Liu et al., 2020).

Эффективным методом защиты сердечно-сосудистой системы от пагубного воздействия гипоксии/реоксигенации может стать влияние на ионные каналы клеточных мембран. Известно, что такие блокаторы потенциал-зависимых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, как дилтиазем и верапамил, широко применяются в профилактике и лечении сердечно-сосудистых патологий, в том числе, связанных с нарушением кислородного режима (Santucci, Riccini, Cavallini, 2020). Фармакологическое подавление каналов позднего  $\text{Na}^+$ -тока и  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  обменника препятствует увеличению внутриклеточной  $\text{Ca}^{2+}$ -концентрации (Luo et al., 2017). Использование соединений, активирующих АТФ-зависимые  $\text{K}^+$ -каналы, может способствовать гиперполяризации мембраны и снижению возбудимости миокарда (Yang et al., 2020). Щелевые контакты можно отнести к потенциал-зависимым каналам (Rodríguez-Sinovas et al., 2021), и путем их фармакологического контроля также можно влиять на состояние сердца в условиях гипоксии/реоксигенации (Liu et al., 2017). Снижение сократительной способности клеток гладкой мускулатуры сосудов путем подавления потенциал-зависимого кальциевого тока может препятствовать избыточному сужению сосудов при реоксигенации (Minato et al., 2020).

Однако применение антагонистов потенциал-зависимых кальциевых каналов имеет ряд существенных побочных эффектов. Часто данные

соединения относят к проаритмическим препаратам (Mladěnka et al., 2018). Перспективным может стать поиск фармакологического способа функциональной регуляции, а не блокировки кальциевых каналов. Также, в качестве менее радикального способа контроля внутриклеточных ионных концентраций может быть рассмотрено воздействие на SOCE.

### **1.2.2.2 Роль потенциал-независимых депо-управляемых кальциевых каналов в сердце в условиях гипоксии/реоксигенации**

По причине того, что депо-управляемый кальциевый ток играет существенную роль в регуляции внутриклеточной кальциевой динамики, на сегодняшний день многие научные исследования посвящаются попытке установить роль SOCE в физиологических изменениях, происходящих в сердечно-сосудистой системе в результате гипоксии и реоксигенации (Avila-Medina et al., 2018; Bhullar, Shah, Dhalla, 2019; Lewis, 2020).

С SOCE связывают участие митохондрий в образовании избытка АФК и кальциевой перегрузки при гипоксии/реоксигенации (Collins et al., 2019; Nan et al., 2021). Было продемонстрировано существенное повышение экспрессии STIM1/Orai1/TRPC1 в условиях гипоксии/реоксигенации на культурах кардиомиоцитов. При этом подавление STIM1 препятствовало накоплению кальция в кардиомиоцитах во время реоксигенации и клеточному апоптозу (He et al., 2017). Полифенол растительного происхождения ресвератрол снижает повреждающее действие гипоксии/реоксигенации на кардиомиоциты за счет ингибирования экспрессии STIM1 и, таким образом, входа ионов кальция, тем самым изменяя уровень экспрессии белков апоптоза (Xu et al., 2019). Для вещества трис (1,3-дихлор-2-пропил) фосфата было показано антиапоптотическое действие на кардиомиоциты, подверженные гипоксии/реоксигенации, за счет

подавления SOCE и смягчающего кальциевую перегрузку действия (He et al., 2018).

Также участие SOCE было показано и в гипоксия-обусловленных изменениях состояния сосудов (Wang et al., 2017; Reyes et al., 2018). Существует предположение, что окислительный стресс активирует SOCE (Chen et al., 2017). За счет повышенной экспрессии компонентов SOCE при хронической гипоксии наблюдается увеличение внутриклеточной кальциевой концентрации, способствующее повышению сократимости и росту клеток гладкой мускулатуры сосудов, развитию гипертензии (Bhullar, Shah, Dhalla, 2019; Gao et al., 2021). Путем блокирования генов TRPC1 и TRPC6 у мышей с хронической гипоксией было показано снижение вероятности возникновения легочной гипертензии (Chen et al., 2020). Совместное участие TRP и Orai в осуществлении депо-управляемого кальциевого тока регулирует сокращение клеток гладкой мускулатуры сосудов легочной артерии в ответ на гипоксию (Reyes et al., 2018).

### **1.2.3 Изменение биоэлектрической активности сердца в условиях механического воздействия**

#### **1.2.3.1 Механоэлектрическая обратная связь в миокарде**

Известно, что миокард может реагировать на механическое растяжение при увеличении кровенаполнения камер сердца двумя регуляторными путями: миогенным на уровне мышечных волокон по закону Франка–Старлинга – усилением силы сокращений (инотропный эффект) в ответ на увеличение длины клеток и сопутствующим повышением сродства миофиламентов к ионам кальция (Kosta, Dauby, 2021); и рефлекторным, при котором в результате растяжения миокарда правого предсердия в области устья полых вен активируется рефлекс Бейнбриджа – адаптационный физиологический

механизм, направленный на увеличение частоты сердечных сокращений (хронотропный эффект). Бейнбридж Ф.А. показал отсутствие обнаруженного им эффекта после перерезки блуждающего нерва (Kuhtz-Buschbeck, Schaefer, Wilder, 2017).

Позднее было показано, что в экспериментах на изолированном сердце растяжение стенок или повышение давления внутри правого предсердия, также, как и растяжение выделенного предсердия, оказывали положительный хронотропный эффект в отсутствие экстракардиальной рефлекторной дуги (Kuhtz-Buschbeck, Schaefer, Wilder, 2017; Quinn, Kohl, 2021). Была выдвинута гипотеза, что в положительный хронотропный эффект при растяжении предсердия, может быть связан не только с рефлексом Бенбриджа, но и с таким феноменом как механоэлектрическая обратная связь в миокарде.

Механоэлектрическая обратная связь в миокарде – это последовательность реакций, в результате которой механическая стимуляция ткани миокарда провоцирует возникновение электрических потенциалов (Lab, 1996; Izu et al., 2020; Peyronnet et al., 2021; Quinn, Kohl, 2021). Известным примером из медицинской практики в данном случае является возникновение механоиндуцированных аритмий при коронарной катетеризации (Shaik et al., 2020; O'Neill et al., 2021) или феномен *Commotio cordis* – «сотрясение сердца» - при котором достаточно сильный удар в область сердца может вызвать остановку сердца и смерть (Patel et al., 2022).

Механическая чувствительность подтверждена у одиночных кардиомиоцитов (Kamkin, Kiseleva, Isenberg, 2000; Paci et al., 2020) и в клеточных культурах (Körner et al., 2021), на отдельных миофибриллах (Avellaneda et al., 2021), на изолированном сердце (Dor-Haim, 2017; Zhang, Walcott, Rogers, 2018), на предсердиях (Turner et al., 2021; Yan et al., 2021b) и на желудочках (Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021).

Механические стимулы провоцируют изменения в ионных токах и в работе системы вторичных мессенджеров в клетке, оказывая физиологические эффекты на сердце. Данные эффекты затрагивают электрофизиологические свойства сердца, включая возбудимость, рефрактерность и электрическую нагрузку, а также проявляются в изменении частоты и ритма сердечных сокращений, формы и продолжительности потенциала действия, электрической проводимости миокарда. Указанные события имеют важные клинические последствия, в том числе запуск или прекращение аритмий (Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021; Quinn, Kohl, 2021).

Механическое воздействие на сердце может иметь аритмогенный характер при сочетании с другими повреждающими факторами. Было показано, что в кардиомиоцитах утечка ионов кальция из СПР при окислительном стрессе связана с предрасположенности предсердий к фибрилляции в сердцах, испытывающих перегрузку давлением (Zhang et al., 2021). Повышенное давление в предсердии при наличии в нем рубца, оставшегося после радиочастотной аблации, может послужить причиной возникновения фибрилляции (Gottlieb et al., 2021).

Ионные токи, индуцированные растяжением клеточной мембраны, вносят вклад в развитие деполяризации и способны провоцировать экстрасистолы (Kamkin, Kiseleva, Isenberg, 2003). Обусловленные механическим воздействием изменения клеточного потенциала могут провоцировать триггерную активность – появление ранних и задержанных постдеполяризаций (Zhang, Walcott, Rogers, 2018; Izu et al., 2020).

Механическое воздействие на желудочки сердца вызывает изменение длительности потенциала действия (Sprenkeler et al., 2019), замедление электрической проводимости миокарда и расширение комплекса QRS ЭКГ (Quintanilla et al., 2017), длительность и дисперсию реполяризации (Orini et al., 2021).

Как хроническое, так и острое растяжение предсердий может послужить причиной развития жизнеугрожающих аритмий и возникновения фибрилляции предсердий (Thanigaimani et al., 2017). Предполагается, что учащение ритма сердечных сокращений при растяжении правого предсердия обусловлено входящим током ионов кальция, который участвует в регуляции ритма сердечных сокращений (MacDonald, Quinn, 2021).

Таким образом, механочувствительность сердечной мышцы является важным объектом научного исследования, как и роль в этом механизме деполуправляемых кальциевых каналов.

### **1.2.3.2 Роль механочувствительных каналов в формировании механоэлектрической обратной связи**

Особая роль в механизме механоэлектрической обратной связи в сердце отводится механосенситивным каналам (МСК) (Kamkin, Kiseleva, Isenberg, 2000; Zhang, Walcott, Rogers, 2018; Quinn, Kohl, 2021). МСК – это ионные каналы клеточной мембраны, которые преобразуют механические стимулы, такие как плоскостное натяжение, изменение толщины и кривизны мембраны, взаимодействие между белками внеклеточного матрикса, в электрические и биохимические сигналы (Douguet, Honoré, 2019).

В сердечно-сосудистой системе распространены такие МСК, как каналы из семейств TRP и Piezo, обеспечивающие входящий катионный ток (Wang, Shi, Tong, 2021), двухпоровые калиевые каналы (TREK, TWIK, TASK) (Herrera-Pérez et al., 2021), OSCA/TMEM63 (Murthy et al., 2018), кислото-чувствительные ионные каналы (Yan et al., 2021a) и другие.

Присутствие МСК было установлено в предсердных и в желудочковых кардиомиоцитах (Kamkin, Kiseleva, Isenberg, 2000; Hegyi et al., 2021; Turner et al., 2021), в клетках гладкой мускулатуры сосудов (Barbeau et al., 2021; Jouen-

Tachoire, Tucker, Tamaro, 2021), а также в немышечных клетках сердца, таких как фибробласты (Kamkin, Kirischuk, Kiseleva, 2010; Klesen et al., 2018) и эндотелиоциты (Wang et al., 2021).

МСК могут обладать разной степенью селективности для ионов кальция и натрия (Zhang, Walcott, Rogers, 2018; Izu et al., 2020; Wang, Shi, Tong, 2021). МСК могут вызывать входящие катионные токи в ответ на механическое воздействие, например повышение кровяного давления (Kamkin, Kiseleva, Isenberg, 2000; Chubinskiy-Nadezhdin et al., 2017; Ilkan et al., 2017). Некоторые из МСК проявляют многофункциональность. Например, каналы TRPC участвуют в проведении входящего кальциевого тока как в ответ на механическое воздействие, так и за счет участия в SOCE (Mulier, Vriens, Voets, 2017; Shi et al., 2017; Reyes et al., 2018).

В нормальных физиологических условиях и при патологии МСК могут влиять на внутриклеточную кальциевую динамику самостоятельно (Chubinskiy-Nadezhdin et al., 2017; Ilkan et al., 2017) или за счет взаимодействия с белковыми молекулами и комплексами – участниками кальциевых сигнальных механизмов (Wang, Shi, Tong, 2021). Так, Piezo взаимодействует с кальциевой АТФ-азой ЭПР в процессах миграции эндотелиальных клеток (Zhang et al., 2017b). А взаимодействие между каналами TRP и натрий-кальциевым обменником установлено в процессах регуляции сократительной дисфункции и эктопической активности (Ezeani, 2019).

МСК имеют значение при развитии сердечно-сосудистых патологий: аритмии, сердечная гипертрофия, гипертензия, атеросклероз (Kamkin, Kiseleva, Isenberg, 2000; Beech, Kalli, 2019; Wang, Shi, Tong, 2021).

На сегодняшний день существует проблема отсутствия специфического блокатора МСК (Izu et al., 2020). Для исследования роли МСК не только в сердце, но и во всем организме, широко используется блокатор GsMTx4, выделенный из яда тарантула *Grammostola spatulata* (Suchyna et al., 2000; Kaur et

al., 2020; Desplat et al., 2021). Было продемонстрировано антиаритмическое действие GsMTx4. Например, присутствие в перфузионном растворе GsMTx4 обратимо подавляло механо-индуцированную фибрилляцию в изолированном сердце кролика (Sachs, 2018). Интересно, что для D-энантиомера GsMTx4 была показана способность подавления запуска в кардиомиоцитах сигнальных механизмов в условиях ишемии/реперфузии, которые затрагивают процессы воспаления, апоптоза и энергетического метаболизма (Wang et al., 2016). Менее специфичными блокаторами МСК считаются стрептомицин и гадолиний (Zhang, Walcott, Rogers, 2018; Shim et al., 2019; Izu et al., 2020).

Деполуправляемые кальциевые ионные каналы из семейства TRP являются механочувствительными (Wang, Shi, Tong, 2021; Barbeau et al., 2021). Блокировка каналов TRPC с помощью 2-арб подавляла механо-индуцированный кальциевый ток в культуре кардиомиобластов крысы H9c2 (Takahashi et al., 2019). Поэтому интересным для изучения вопросом является участие SOCE в механизмах физиологического ответа сердца на механическое воздействие. Особенно, если учесть, что по результатам многих научных исследований, механосенситивность миокарда связывают с потенциал-независимыми кальциевыми токами (MacDonald, Quinn, 2021).

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Общая характеристика и протокол исследования

Исследование проводилось на изолированных сердцах аутбредных белых крыс стока Wistar обоих полов массой 200 – 350 г возраста от двух до шести месяцев. Первичные культуры кардиомиоцитов были получены от 1-3-дневных крыс. Содержание, уход и обращение с животными были одобрены этической комиссией ННГУ им. Н.И. Лобачевского и соответствовали руководству «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (ILAR publication, 1996, National Academy Press)», межгосударственному стандарту ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», санитарно-эпидемиологическим правилам СП 2.2.1.3218-14.

С целью исследования параметров биоэлектрической активности изолированного сердца крысы с использованием микроэлектродных матриц в зависимости от факторов влияния на ионную проводимость миокарда (подавление депо-зависимого кальциевого тока, гипоксия/реоксигенация, механическое воздействие на сердце) кроме стандартных условий перфузии были смоделированы следующие условия: (1) в перфузионный раствор добавлялся неспецифический блокатор SOCE 2-аминоэтоксидифенил борат (2-арb), (2) прекращалось насыщение перфузионного раствора кислородной смесью с последующим возобновлением, (3) осуществлялось растяжение правого предсердия (рПП).

В зависимости от экспериментальных условий перфузии изолированных сердец было выделено восемь групп, которые перечислены с указанием условных названий в таблице 1. В каждой группе протокол перфузии изолированного сердца крысы включал 3 этапа, в течение которых

моделировались определенные условия работы сердца. Общее время перфузии составляло 30 мин.

I этап (исходные условия перфузии), 10 мин. Перфузия сердец осуществлялась аэрированным рКХ стандартного состава при стандартной механической нагрузке на правое предсердие (сПП). Этап был одинаковым для всех экспериментальных групп.

II этап (изменение условий перфузии), 10 мин. На данном периоде изучали воздействие различных факторов при активных и заблокированных ионных каналах SOCE:

1. в контрольной группе «Контроль» перфузия сердец осуществлялась в условиях нормоксии аэрированным рКХ стандартного состава;

2. в экспериментальной группе «2-арb» перфузия сердец осуществлялась в условиях нормоксии аэрированным рКХ с добавлением 2-арb - блокатора ионных каналов SOCE;

3. в экспериментальной группе «Гипоксия/реоксигенация» перфузия сердец осуществлялась в условиях гипоксии неаэрированным рКХ;

4. в экспериментальной группе «2-арb+гипоксия/реоксигенация» перфузия сердец осуществлялась в условиях гипоксии неаэрированным рКХ с добавлением 2-арb - блокатора ионных каналов SOCE;

5. в экспериментальной группе «рПП» перфузия сердец осуществлялась в условиях нормоксии аэрированным рКХ с воздействием на правое предсердие механического растяжения;

6. в экспериментальной группе «2-арb+рПП» перфузия сердец осуществлялась в условиях нормоксии аэрированным рКХ с добавлением 2-арb - блокатора ионных каналов SOCE и с воздействием на правое предсердие механического растяжения;

7. в экспериментальной группе «Гипоксия/реоксигенация+рПП» перфузия сердец осуществлялась в условиях гипоксии неаэрированным рКХ с воздействием на правое предсердие механического растяжения;

8. в экспериментальной группе «2-арб+гипоксия/реоксигенация+рПП» перфузия сердец осуществлялась в условиях гипоксии неаэрированным рКХ с воздействием на правое предсердие механического растяжения с добавлением 2-арб - блокатора ионных каналов SOCE.

III этап (восстановительный), 10 мин. На данном периоде изучали обратимость/необратимость изменений, вызванных подавлением SOCE и эффект реоксигенации:

- в контрольной группе «Контроль» и в экспериментальных группах «2-арб», «Гипоксия/реоксигенация», «2-арб+гипоксия/реоксигенация», перфузия сердец осуществлялась аэрированным рКХ стандартного состава без добавления 2-арб - блокатора ионных каналов SOCE в отсутствие механического растяжения правого предсердия;

- в экспериментальных группах «рПП», «2-арб+рПП», «Гипоксия/реоксигенация+рПП», «2-арб+гипоксия/реоксигенация+рПП» перфузия сердец осуществлялась в условиях нормоксии аэрированным рКХ стандартного состава без добавления 2-арб - блокатора ионных каналов SOCE, с воздействием на правое предсердие механического растяжения.

Таблица 1

Экспериментальные протоколы

№	Группы	Этапы эксперимента		
		I этап	II этап	III этап
1	«Контроль», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)
2	«2-арб», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	<b>рКХ+2-арб</b> , нормоксия, сПП (10 мин)	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)

3	«Гипоксия/ реоксигенация», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	рКХ, <b>гипоксия</b> , сПП (10 мин)	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)
4	«2-арб +гипоксия/ реоксигенация», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	<b>рКХ+2-арб</b> , <b>гипоксия</b> , сПП (10 мин)	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)
5	«рПП», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	рКХ, нормоксия, <b>рПП</b> (10 мин)	рКХ, нормоксия, <b>рПП</b> (10 мин)
6	«2-арб+рПП», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	<b>рКХ+2-арб</b> , нормоксия, <b>рПП</b> (10 мин)	рКХ, нормоксия, <b>рПП</b> (10 мин)
7	«Гипоксия/ реоксигенация+ рПП», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	рКХ, <b>гипоксия</b> , <b>рПП</b> (10 мин)	рКХ, нормоксия, <b>рПП</b> (10 мин)
8	«2-арб +гипоксия/ реоксигенация+ рПП», n=10	рКХ, нормоксия, сПП (10 мин)	<b>рКХ+2-арб</b> , <b>гипоксия</b> , <b>рПП</b> (10 мин)	рКХ, нормоксия, <b>рПП</b> (10 мин)

Изменения в процентном отношении значений изучаемых параметров оценивались относительно последней (десятой) минуты I этапа, проведенного в нормальных условиях. Значения изучаемых параметров на десятой минуте I этапа принимались за 100%.

## 2.2 Перфузия изолированного сердца крысы методом Лангендорфа

Метод ретроградной перфузии изолированного сердца, названный в честь разработавшего его в 1895 г. Oscar Langendorff (Watanabe, Okada, 2018), на сегодняшний день широко используется в исследовании физиологии сердца. Принцип метода Лангендорфа заключается в обеспечении необходимых условий для поддержания функциональной активности сердца вне организма. При этом перфузия раствором осуществляется в ретроградном направлении –

начиная с аорты, в нормальных для организма условиях выносящей кровь из сердца. Таким образом, осуществляется перфузия коронарных сосудов, берущих начало от корня аорты над аортальным клапаном, который препятствует попаданию раствора в полости сердца.

Схема установки для перфузии изолированного сердца крысы по методу Лангендорфа представлена на рисунке 2.1. Для перфузии использовался рКХ: NaCl — 118; KCl — 4,7; CaCl<sub>2</sub> — 2; MgSO<sub>4</sub> — 1,2; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,2; NaHCO<sub>3</sub> — 20; глюкоза — 10 (ммоль/л), pH = 7,36. Заранее подогретый рКХ стандартного состава (рисунок 2.1, а) или с добавлением 2-арб в концентрации 10 мкМоль (рисунок 2.1, б) заливался в колбы Вульфа, которые размещались выше уровня перфузионных колонок (рисунок 2.1, в). Перфузионные растворы по силиконовым трубкам с колесиками-регуляторами скорости потока (рисунок 2.1, г) гравитационно поступал в колонки. Давление растворов на аорту в системе поддерживалось на уровне 80 см вод. столба (59 мм рт.ст). Перфузия изолированного сердца крысы, как правило, осуществляется при давлении в диапазоне 60-120 мм рт.ст. (Anderson et al., 1990), реже данное значение начинается от 50 мм рт.ст (Fernandez-Fernandez et al., 2014). Колонки и камера для сердца (рисунок 2.1, д) перфузионной системы выполнены из двойного стекла. Образованные между стеклами полости образуют внешний контур циркуляции воды, подогретой в бане с насосом (BM 302, NÜVE, рисунок 2.1, е), для поддержания нормальной температуры работы сердца (37,6°C). Температура раствора в системе контролировалась с помощью ртутного термометра (рисунок 2.1, ж), расположенного у входа перфузионного раствора в аорту сердца через канюлю. Растворы в колонках подвергались барботированию карбогеном (O<sub>2</sub> – 95%, CO<sub>2</sub>-5%) из баллона (рисунок 2.1, з) по силиконовым магистралям (рисунок 2.1, г).

На этапе подготовки к эксперименту включалась водяная баня, которая разогревала дистиллированную воду до 40-42°C – значения калибровались для

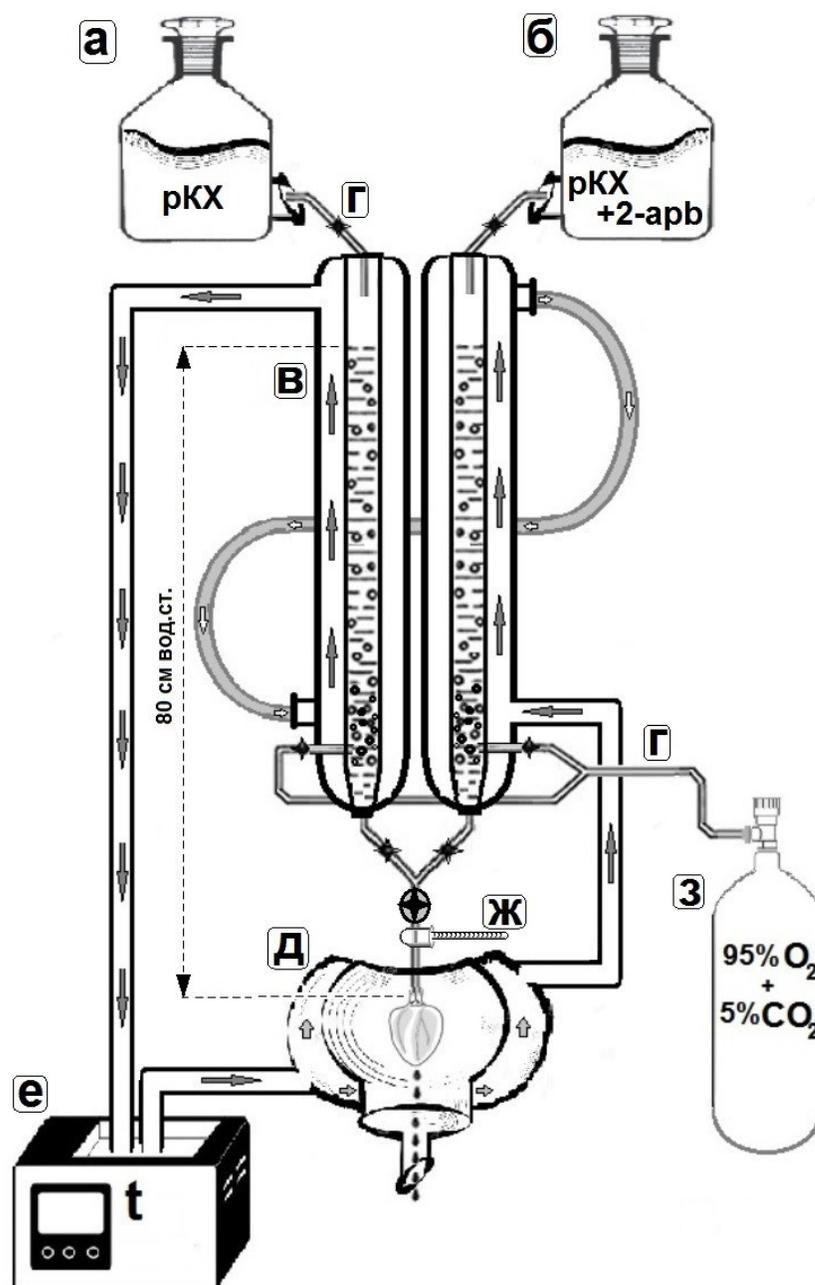


Рисунок 2.1 - Схема системы для перфузии изолированного сердца крысы методом Лангендорфа: а, б - колбы с перфузионными растворами; в - перфузионные колонки; г – силиконовые трубки с колесиками-регуляторами скорости потока жидкости/газа; д – камера для поддержания окружающей сердце температуры; е – водяная баня с насосом; ж – термометр; з – баллон с карбогеном

получения температуры перфузии сердца  $37,6^{\circ}\text{C}$ . За счет работы насоса бани подогретая вода циркулировала по внешнему контуру камеры для сердца и

колонок из двойного стекла. Перфузионные растворы готовились на магнитной мешалке с подогревом и заливались в колбы Вульфа и колонки. Затем запускалась подача карбогена из баллона в растворы, залитые в колонки. Через 10 минут с помощью рН-метра измерялся уровень рН растворов, который мог снижаться из-за оксигенации. В таком случае значение рН доводилось до 7,36 с помощью водного раствора  $\text{NaHCO}_3$  (5,6%). Перед канюлированием сердца включался слабый поток раствора, что не допускало остывания раствора, задерживающегося перед выходом в канюлю. Также предварительный запуск подачи раствора препятствовал попаданию воздуха в коронарную систему сердца.

После наркотизации животных (Золетил 100, Virbac Sante Animale, 35 мг/кг, Ксилавет, Alpha-Vet Veterinary Ltd., 4 мг/кг, в/б) торакотомически извлеченные из них сердца помещались в чашку Петри с охлажденным до 0-1°C рКХ для подавления метаболической активности на время препарирования аорты. Затем аорта сердца закреплялась при помощи лигатуры на металлической канюле, подведенной к перфузионной системе, и поток перфузии открывался полностью. Сердце окружалось теплой камерой и не подвергалось никаким манипуляциям в течение 15 минут для стабилизации сократительной активности. Затем на поверхность левого желудочка накладывалась МЕА, зафиксированная вместе с предусилителем на штативе.

### **2.2.1 Блокировка депо-зависимого кальциевого входящего тока в изолированном сердце крысы**

Для исследования возможности изучения с помощью МЕА изменений биоэлектрической активности миокарда, вызванных блокировкой SOCE, в перфузионный раствор добавлялся 2-арб (Sigma, США) в концентрации 10 мкМоль путем переключения перфузии сердца рКХ стандартного состава на

рКХ с содержанием 2-арб на 10 минут. Затем следовал 10-минутный этап возобновления перфузии стандартным рКХ для исследования эффекта отмены действия 2-арб на работу изолированного сердца на фоне нормоксии, гипоксии/реоксигенации либо растяжения правого предсердия.

Для сравнения эффекта блокатора 2-арб на сердце с эффектами блокаторов потенциал-зависимых кальциевых каналов были проведены дополнительные эксперименты с добавлением верапамила в перфузионный раствор в концентрации 7 мкМоль (Авва Рус ОАО, Россия).

### **2.2.2 Моделирование условий гипоксии и реоксигенации во время перфузии изолированного сердца крысы**

Для обеспечения тканей сердца кислородом перфузионный раствор барботировался газовой смесью карбогеном ( $O_2$  – 95%,  $CO_2$  – 5%). Для моделирования в эксперименте условий гипоксии сердце перфузировалось рКХ, который не подвергался барботированию карбогеном. Условия реоксигенации создавались путем повторного переключения тока перфузии на насыщаемый карбогеном рКХ.

### **2.2.3 Моделирования растяжения правого предсердия изолированного сердца крысы**

Механическое растяжение правого предсердия осуществлялось с помощью латексного баллончика. Баллончик погружался в полость правого предсердия (рисунок 2.2, А). Затем объем баллончика увеличивался (рисунок 2.2, Б) за счет наполнения водой при помощи шприца через трубку до размеров, превышающих объем полости правого предсердия в полтора раза.

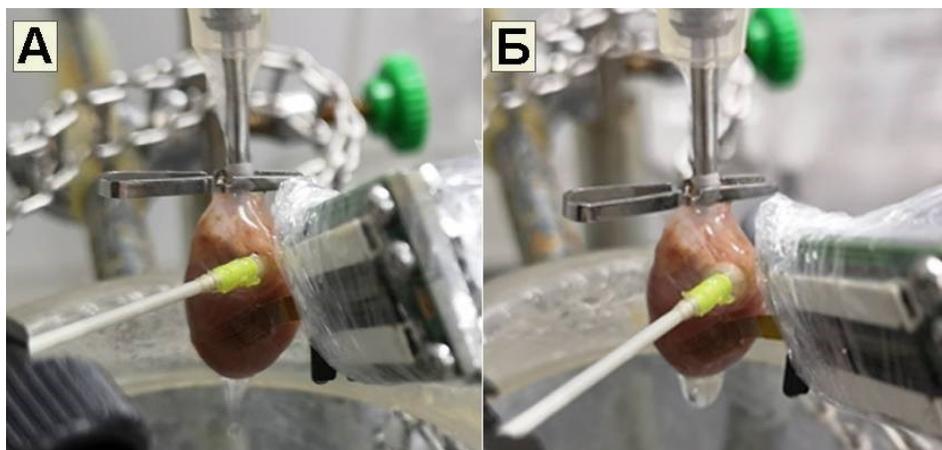


Рисунок 2.2 - Растяжение правого предсердия изолированного перфузируемого сердца крысы с помощью латексного баллончика во время регистрации биоэлектрической активности миокарда левого желудочка гибкой МЕА: А – погружение сдутого баллончика в полость правого предсердия; Б – увеличение объема баллончика за счет заполнения его водой через трубку из шприца

### 2.3 Получение первичных культур кардиомиоцитов крысы

Для подтверждения правильности оценки изменения параметров ЛПП методом МЕА на поверхности эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы мы изучали ЛПП первичной культуры кардиомиоцитов.

Для первичных культур кардиомиоцитов (n=5) использовались сердца 1-3-дневных крыс разного пола, весом в среднем 11 г, взятых от одной самки.

После декапитации животных осуществлялась торакотомия, сердца извлекались и помещались в чашку Петри на льду, где отсекались предсердия, а желудочки измельчались механическим способом при помощи ножниц. Все манипуляции в ходе приготовления клеточных культур производились с использованием стерильных хирургических инструментов и лабораторной посуды.

В ламинарном шкафу к измельченной ткани добавлялась отфильтрованная (размер пор фильтра - 0,22 мкм) смесь 93 мг коллагеназы II

типа (C6885, Sigma, США) и 93 мг панкреатина (P3292, Sigma, США) в 20 мл охлажденного раствора Хэнкса без кальция и магния (Sigma, США). Ферментация сердечной ткани осуществлялась при инкубировании в водяной бане-шейкере при температуре 37 С° в четыре этапа по 5-8 минут с добавлением раствора ферментов и перемешиванием пипеткой Пастера между этапами.

Полученная суспензия после разбавления охлажденной питательной средой (среда Игла в модификации Дульбекко с содержанием фетальной бычьей сыворотки, 10%, Sigma, США) три раза центрифугировалась в течение пяти минут на скорости 1,7 оборотов/мин при температуре 4 С°. Между подходами осуществлялись повторное добавление к осадку среды и его ресуспензирование. По окончании центрифугирования к полученному осадку снова добавлялась среда и следовала инкубация 2 часа в СО<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре 37 С° и газовой смеси, содержащей 5% СО<sub>2</sub>.

После инкубации культуру переносили на матрицы MEA60 (Multichannel Systems, Германия) предварительно стерилизованные ультрафиолетовым облучением и обработанные полиэтиленмином. Посадка культур осуществлялась с плотностью  $4 \times 10^5$  клеток/см<sup>2</sup>. Подсчет клеток производился с помощью гемацитометра и трипанового синего для определения жизнеспособности клеток. MEA, покрытые культурой кардиомиоцитов, содержались в СО<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре 37 С° и газовой смеси, содержащей 5% СО<sub>2</sub> для поддержания жизнеспособности клеток, которая также оценивалась визуально с помощью микроскопа IX-70 (Olympus, Япония). В жизнеспособных культурах кардиомиоцитов можно было наблюдать сократительную активность. Исследование биоэлектрической активности культур осуществлялось на третий-шестой день после их посадки.

Матрицы MEA60 (Multichannel Systems, Германия) включали 60 электродов (59 регистрирующих) диаметром 10 мкм и расстоянием между электродами 200 мкм. Для визуализации и регистрации с целью последующего

анализа биоэлектрической активности культур кардиомиоцитов использовалось программное обеспечение MC Rack (Multichannel systems, Германия).

#### **2.4 Окрашивание гистологических срезов желудочков сердец крыс методом гемалаун Майера-Эозин**

Для оценки влияния расположения миокардиальных волокон на характер распространения зарегистрированной с помощью МЕА волны возбуждения, был проведен гистологический анализ миокарда, взятого из левых желудочков сердец. Картина распространения фронта электрического возбуждения, регистрируемого электродами матриц, сопоставлялась с расположением мышечных волокон, которое устанавливалось методом окрашивания гистологических препаратов.

Десять изолированных сердец крыс по окончании эксперимента, в ходе которого сердца подвергались перфузии рКХ и регистрации биоэлектрической активности, были взяты для проведения гистологического анализа.

До изготовления гистологических срезов сердца фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Перед заливкой в парафин сердца подвергались подготовке в несколько стадий. После извлечения из формалина проводилась суточная промывка сердец под проточной водой. Затем следовала стадия обезвоживания в спиртах восходящей концентрации: 50%, 60%, 70%, 80%, 96%, 100% по одному часу и в 100% спирте на ночь. Далее проводилось двукратное термостатирование продолжительностью по 40 мин в двух порциях 10% хлороформа при температуре 37 С°. Затем сердца погружались в «кашу», состоящую из хлороформа и формалина в соотношении 1:1, на 1,5 часа при 37 С°. После подготовки сердца заливались в парафин и оставлялись в термостате при температуре 57 С° на 3 часа.

Парафиновые срезы миокарда толщиной 7 мкм изготавливались на микротоме SM 2000R (Leica, Австрия). Полученные срезы расправлялись на поверхности теплой дистиллированной воды и наносились на чистые обезжиренные предметные стекла, которые затем выдерживались в термостате при температуре 37С°. Для удаления парафина стекла со срезами выдерживались по две минуты в двух порциях ксилола, в двух порциях спирта 96% и в дистиллированной воде.

Для окрашивания на срезы наносилось по капле гемалауна Майера на 5-10 минут. Затем стекла со срезами погружались в горячую водопроводную воду на 10 минут. Далее на срезы наносился эозин на 0,5-1 минуту. После окрашивания стекла со срезами проводились через 70% спирт, две порции 96% спирта и две порции ксилола с продолжительностью выдерживания 1 минута. Покрашенные срезы заключали в канадский бальзам и покрывали покровным стеклом.

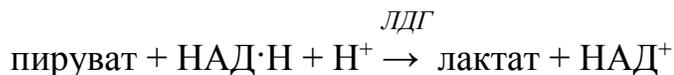
## **2.5 Оценка влияния гипоксии на миокард методом энзиматического определения соотношения концентраций лактат/пируват**

Состояние гипоксии миокарда при снижении снабжения перфузируемых сердец кислородом подтверждалось биохимическим методом оценки по соотношению концентраций молочной и пировиноградной кислот в гомогенате ткани сердца крыс.

В аэробных условиях пируват в результате окислительного декарбоксилирования преобразуется в ацетил-КоА, который затем участвует в цикле Кребса и синтезе АТФ. В анаэробных условиях пировиноградная кислота восстанавливается в молочную кислоту. Повышение концентрационного соотношения лактат/пируват является признаком усиленного гликолиза и гипоксии в ткани.

*Принцип энзиматического определения пирувата в тканях сердца крыс.*

В присутствии лактатдегидрогеназы (ЛДГ) пируват восстанавливается до лактата:



Количество вступившего в реакцию пирувата приравнивается количеству НАДН·Н, снижение которого регистрировалось спектрофотометрически при длине волны 340 нм.

*Принцип энзиматического определения лактата в тканях сердца крыс.*

В присутствии ЛДГ молочная кислота переходит в пировиноградную кислоту, окислению лактата при этом способствует связывание образующегося пирувата в реакции с гидразин-глициновым буфером:



Количество окисленного лактата, эквимольное образованному НАД·Н, регистрировалось спектрофотометрически при длине волны 340 нм.

## **2.6 Мультиэлектродное картирование биоэлектрической активности изолированного сердца крысы**

Принцип метода заключается в исследовании биоэлектрической активности сердца с помощью множества микроэлектродов, заключенных в единый корпус матрицы (рисунок 2.3, А). МЕА накладывалась на поверхность левого желудочка (рисунок 2.3, Б). В состав МЕА входят регистрирующие, заземляющие и референтные электроды (рисунок 2.3, В). Зарегистрированные потенциалы визуализировались в виде электрограмм и сохранялись в файловом формате. Для изучения ритма сердечных сокращений может быть достаточно электрограммы с отдельно взятого электрода (рисунок 2.3, Г). С большего

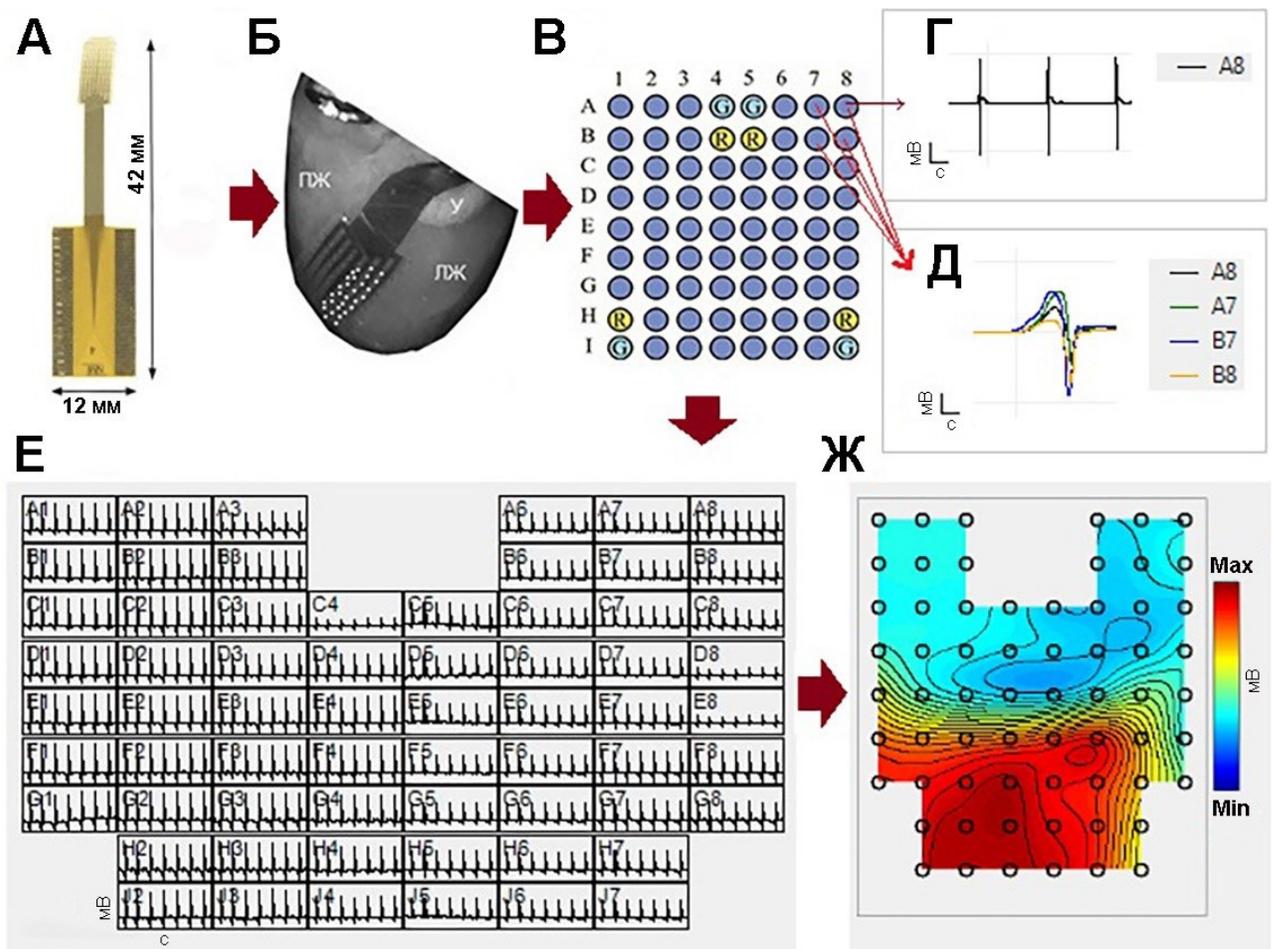


Рисунок 2.3 - Принцип мультиэлектродной регистрации биоэлектрической активности изолированного сердца крысы на примере использования FlexMEA72: А — FlexMEA72; Б — расположение гибкой MEA на поверхности левого желудочка изолированного сердца крысы; В — матрица регистрирующих, референтных «R», и заземляющих «G» электродов; Г – электрограмма с одного электрода MEA; Д – электрограммы с четырех электродов MEA; Е — матричная визуализация электрограмм; Ж – изохронная карта значений напряжения на электродах MEA; ЛЖ – левый желудочек, ПЖ - правый желудочек, У - ушко

количества электродов (рисунок 2.3, Д) или со всех регистрирующих электродов может быть получена матрица электрограмм (рисунок 2.3, Е), на основе которой возможны анализ и визуализация биоэлектрической активности миокарда в пространственно-временном разрешении, в том числе, с помощью построения изохронных карт (рисунок 2.3, Ж).

Регистрация электрической активности сердца осуществлялась с помощью гибких матриц FlexMEA72 и EcoFlexMEA36 (Multichannel systems, Германия). FlexMEA72 представляет собой комплекс из шестидесяти четырех регистрирующих, четырех референтных и четырех заземляющих электродов из нитрида титана диаметром 100 мкм (рисунок 2.4, А). Проводящие дорожки и контактные площадки FlexMEA72 выполнены из золота, а корпус - из полиимидной пленки. EcoFlexMEA36 включает 36 электродов, из которых 32 – регистрирующих, 2 – референтных и 2 – заземляющих (рисунок 2.4, Б). Корпус EcoFlexMEA36 изготовлен из каптона, а электроды диаметром 50 мкм - из золота.

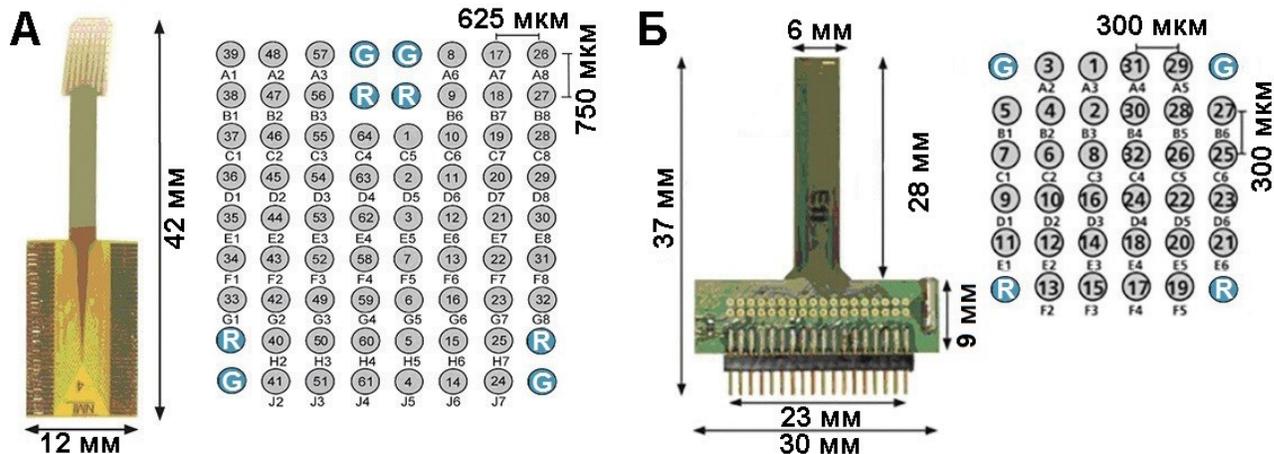


Рисунок 2.4 - Гибкие MEA и схемы расположения в них микроэлектродов (G – заземляющий электрод, R – электрод сравнения): А - FlexMEA72; Б - EcoFlexMEA36

Конструкция обеих MEA обеспечивает достаточно плотный и устойчивый контакт с поверхностью активно сокращающегося сердца (рисунок 2.5, А). Зарегистрированные микроэлектродами матриц электрические сигналы с помощью предусилителя МРА32I, дифференциального усилителя с фильтром FA64I и устройства сбора данных с аналого-цифровым конвертером USB-ME 128-System (Multichannel systems, Германия) подвергались усилению (50-кратному), фильтрации (1-300 Гц) и оцифровке (16 бит).

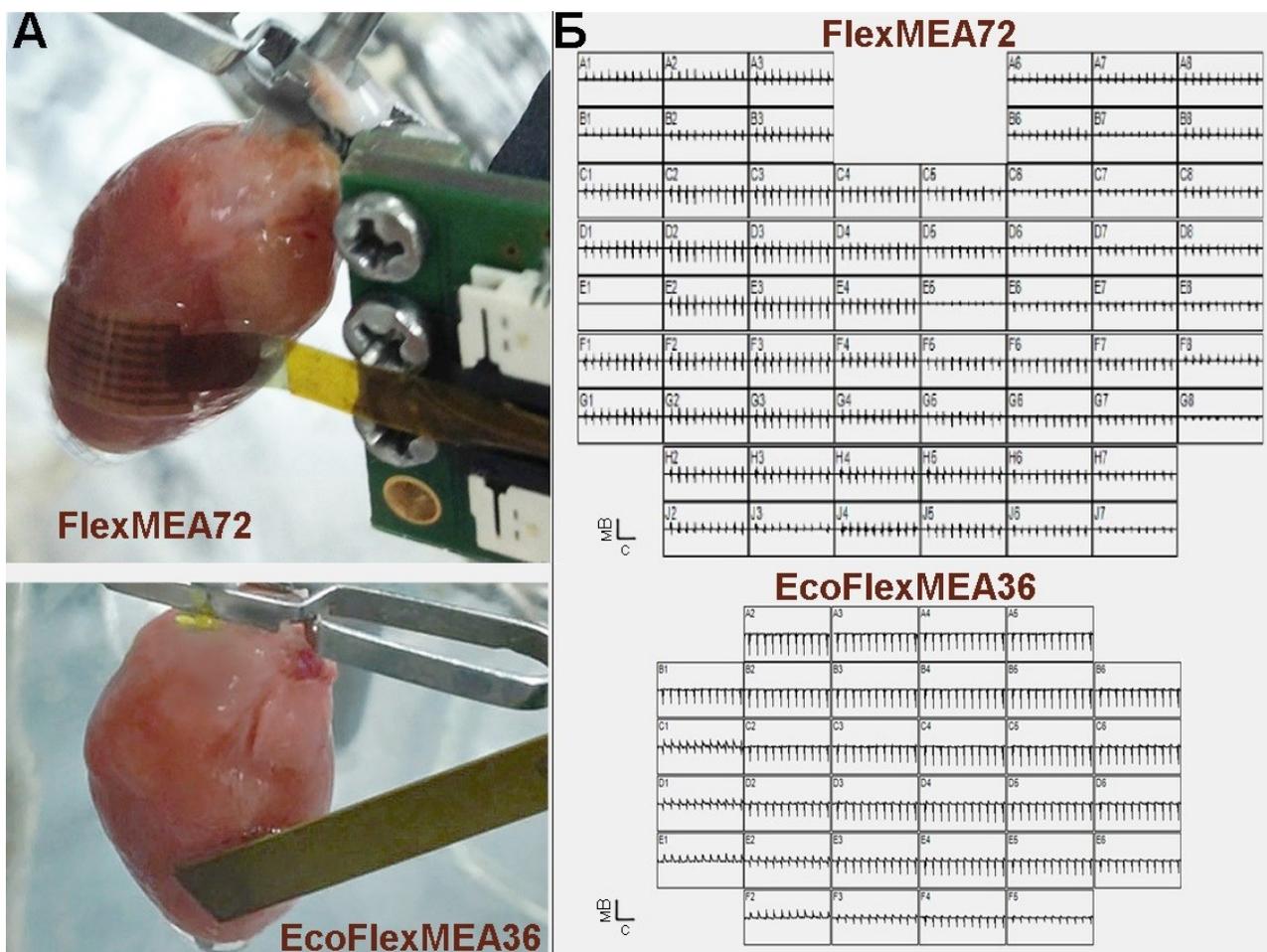


Рисунок 2.5 - Регистрация биоэлектрической активности с поверхности изолированного сердца крысы: А - аппликация FlexMEA72 и EcoFlexMEA36 на поверхность левого желудочка разных сердец; Б - визуализация зарегистрированных электрических сигналов в программах Cardio2D/2D+

Для визуализации и сохранения электрограмм в файловом формате с частотой дискретизации записи 40 кГц использовалось программное приложение Cardio2D (Multichannel systems, Германия). Для последующего детального анализа электрограмм использовалось приложение Cardio2D+ (Multichannel systems, Германия). Визуализация электрограмм позволяла контролировать состояние сердца и процесс регистрации биоэлектрической активности в режиме реального времени по графикам зависимости изменения напряжения от времени на всех электродах МЕА (рисунок 2.5, Б).

Совокупность ионных токов, протекающих на мембранах клеток миокарда, формирует слабые токи и колебания напряжения, регистрируемые во внеклеточном пространстве. Интерпретация данных внеклеточных потенциалов, так называемых ЛПП, несет информацию о пиковой активности кардиомиоцитов, окружающих место регистрации (Sinha, Narayanan, 2022). При записи внеклеточных потенциалов действия процесс деполяризации среды выражается на графике электрограммы в виде отрицательного отклонения от изолинии - спада, соответствующего положительному нарастанию потенциала действия клеточной мембраны при деполяризации клеточной мембраны (de Bakker, Belterman, Coronel, 2021).

Регистрируемые ЛПП могут быть охарактеризованы такими параметрами, как амплитуда, минимальное и максимальное значения времени спада (по аналогии со временем нарастания потенциала действия) (рисунок 2.6), длительностью реполяризации.

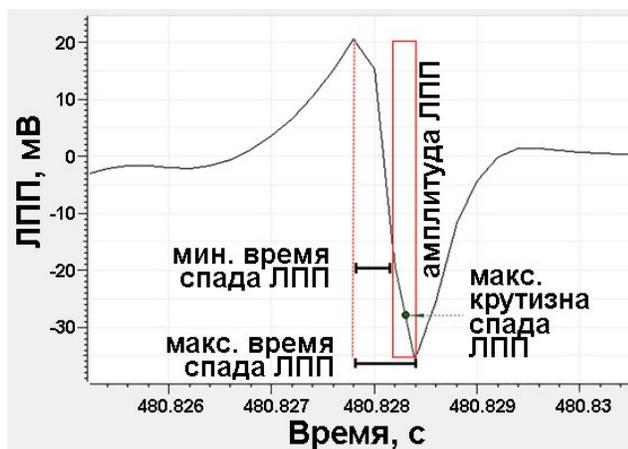


Рисунок 2.6 - Принцип идентификации ЛПП на электрограмме в программе Cardio 2D/2D+: возникновение ЛПП может быть установлено по максимальному, макс., значению крутизны спада ЛПП (зеленая точка) на электрограмме в пределах красного прямоугольника, который представляет собой область поиска, заданную тремя характеристиками – значениями минимального, мин., максимального, макс., времени спада ЛПП и амплитудой ЛПП

По причине высокой чувствительности метода поверхностного картирования к внешним условиям значения каждой из взятой в отдельности вышеперечисленных характеристик могут оказаться малоинформативными при описании электрофизиологических процессов, происходящих в структурах миокарда. Совокупный же анализ таких параметров электрического потенциала, как амплитуда и крутизна спада, позволяют определить возникновение ЛПП на электрограмме. А также автоматизировать данный процесс в приложениях Cardio2D/2D+ (Multichannel systems, Германия).

### **2.6.1 Анализ ритма сердечных сокращений**

Определение времен возникновения ЛПП, зарегистрированных на одном электроде матрицы, позволяет рассчитать значение временных интервалов между потенциалами (ИМП) и, соответственно, частоту и стабильность ритма сокращений изолированного сердца. Был проведен анализ изменений длительности ИМП (рисунок 2.7), вычисляемых программным приложением Cardio2D+ по обнаруженным ЛПП. Стабильность ритма сердечных сокращений оценивалась по коэффициенту вариации ИМП ( $CV_{\text{ИМП}}$ , %):

$$CV_{\text{ИМП}} = \frac{CO_{\text{ИМП}}}{M_{\text{ИМП}}} \times 100\%,$$

где  $CO_{\text{ИМП}}$  – стандартное отклонение значений продолжительности ИМП,  $M_{\text{ИМП}}$  – среднее значение продолжительности ИМП (Баевский и др., 2002).

### **2.6.2 Анализ временной задержки проведения волны возбуждения в миокарде с эпикардальной поверхности желудочков сердца**

Достаточное количество, конфигурация электродов и межэлектродное расстояние в МЕА обеспечивают пространственно-временное разрешение,

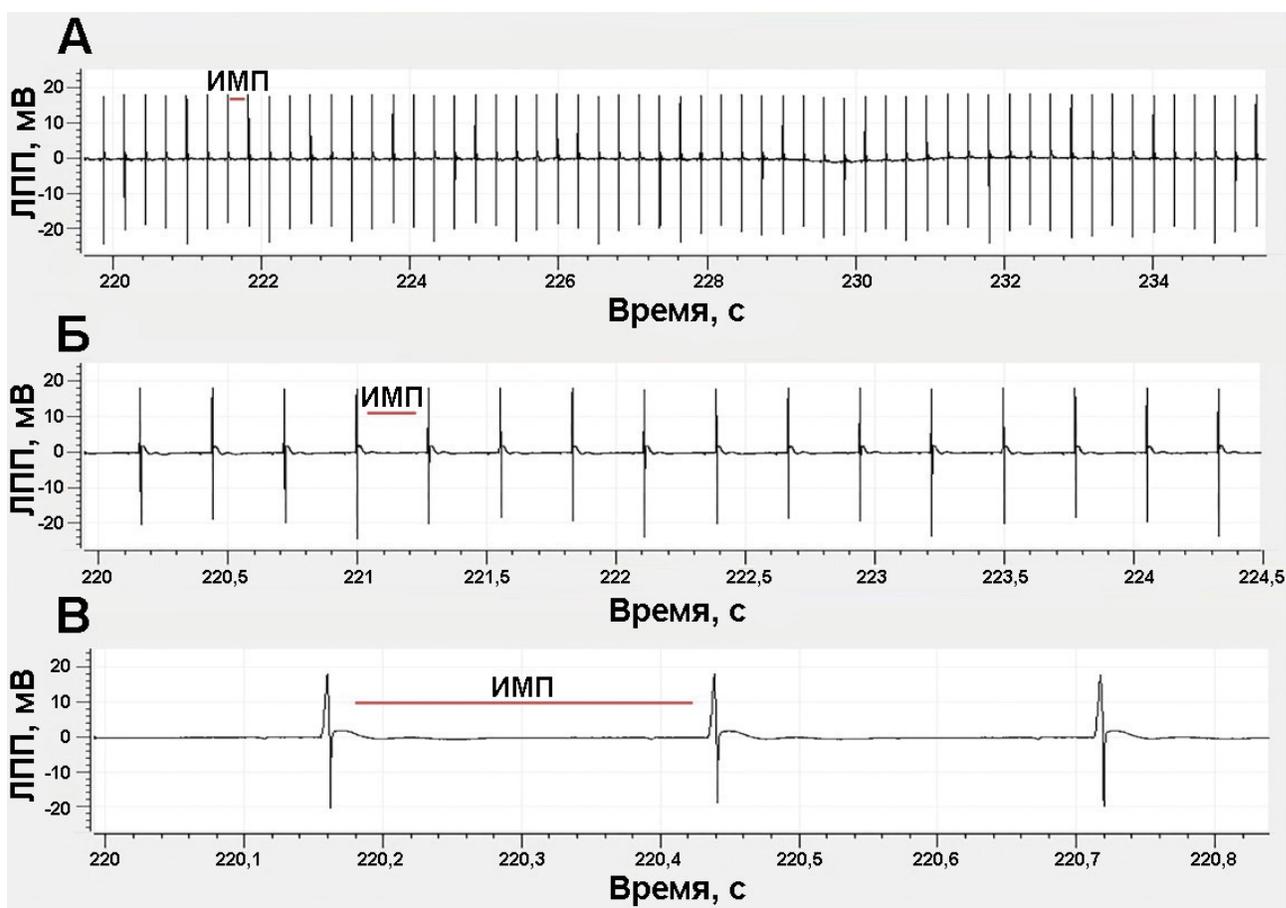


Рисунок 2.7 - Визуализация биоэлектрической активности изолированного сердца крысы в виде электрограмм с интервалами (ИМП) между двумя следующими друг за другом ЛПП в трех вариантах временного разрешения: А – 2 секунды; Б - 0,5 секунды; В - 0,1 секунды

позволяющее оценить временную задержку распространения фронта возбуждения по эпикардиальной поверхности левого желудочка – ЛЭС.

Таким образом, под ЛЭС подразумевается задержка между моментами активации на двух выбранных электродах. Показатель ЛЭС обратно пропорционален скорости распространения волны возбуждения, зависящей от электрической проводимости миокарда.

Таким образом, по результатам одновременной регистрации достаточного большого количества электрограмм (рисунок 2.8) становится возможным оценить не только характеристики ЛПП, но и параметры распространения волны возбуждения по эпикардиальной поверхности сердца.

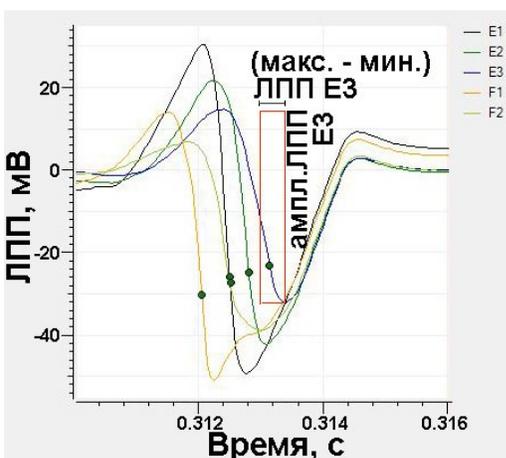


Рисунок 2.8 – Идентификация ЛПП на электрограммах, зарегистрированных на пяти электродах гибкой MEA с поверхности изолированного сердца крысы во время одного сердечного сокращения. Красным прямоугольником обозначена область поиска ЛПП на примере электрода E3, заданная тремя характеристиками – значениями минимального, мин., максимального, макс., времен спада и амплитудой, ампл., ЛПП; зеленые точки соответствуют максимальным значениям крутизны спада ЛПП, обнаруженных на электродах E1, E2, F1 и F2 по аналогии с E3

Исходя из литературных данных (Taccardi et al., 2008; Ng et al., 2019; Boonstra et al., 2022), за время возникновения ЛПП следует принимать максимальную крутизну спада ЛПП (рисунок 2.8). Тем самым определяются значения времен активации для построения активационных карт распространения фронта возбуждения.

Электроды для оценки ЛЭС выбирались исходя из сгенерированной в программе Cardio2D+ активационной карты (рисунок 2.9, А). Миокарду свойственна анизотропия - различие скорости электрического проведения в зависимости от направления (параллельно длине мышечных волокон быстрее, чем поперек них) (Kotadia et al., 2020). Считается, что анизотропия обусловлена продолговатой формой кардиомиоцитов и разностью в количестве щелевых контактов между латеральными поверхностями кардиомиоцитов и интеркалярными дисками (Kléber, Jin, 2021).

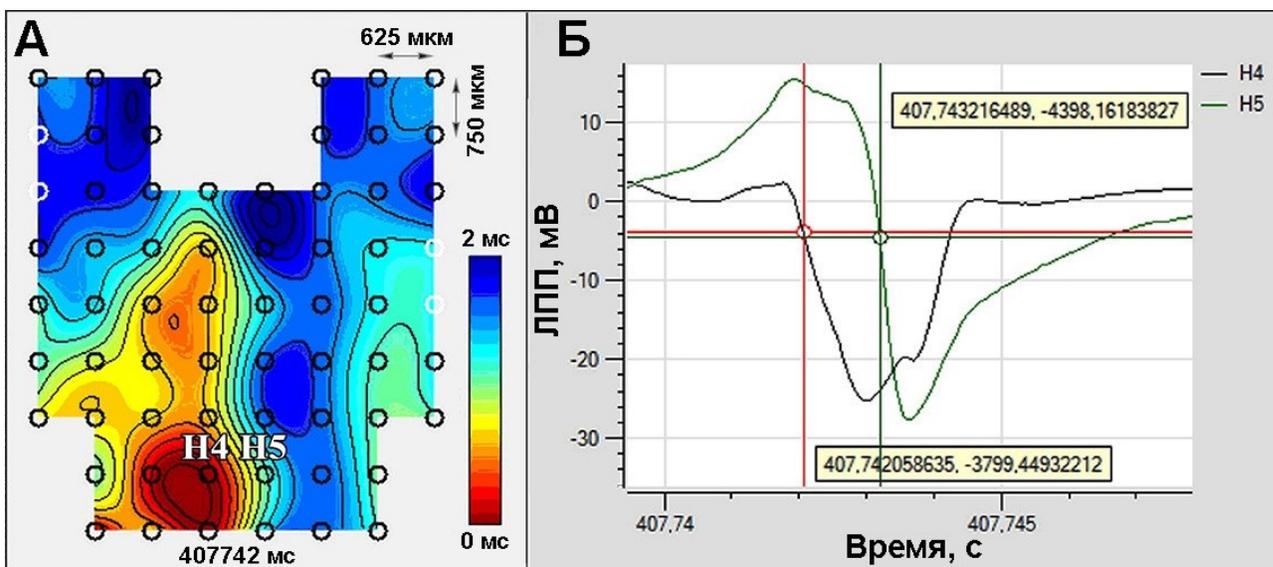


Рисунок 2.9 - Принцип определения временной задержки распространения возбуждения с поверхности изолированного сердца крысы на примере использования FlexMEA72: А – активационная карта распространения ЛПП, зарегистрированных на всех электродах MEA, H4 и H5 – электроды, на которых регистрируются ЛПП в пределах одной области прорыва фронта возбуждения на поверхность эпикарда; Б - времена активации, соответствующие максимумам крутизны спада ЛПП, зарегистрированных на электродах H4 и H5, автоматически определенные программой Cardio2D+ по заданным характеристикам

В данной работе внешняя электрическая стимуляция сердца не использовалась и четкой эллипсоидной картины распространения электрического фронта не наблюдалось. Тем не менее, ориентируясь на изохроны активационных карт, выбиралась пара близко расположенных электродов с самой продолжительной временной задержкой в пределах единого фронта. Так, на рисунке 2.9 в качестве примера выбранной для определения ЛЭС пары электродов приведены электроды H4 и H5. Таким образом, оценивалось изменение поперечной проводимости миокарда на одной и той же паре электродов для каждого сердца в зависимости от времени и условий эксперимента. Моменты активации на электродах определялись по максимальной крутизне спада производной напряжения по времени ЛПП (рисунок 2.9, Б) (Boonstra et al., 2022).

Считается, что расстояние между электродами более 2 мм может искажать представление о значении скорости проведения, так как фронт электрического возбуждения с глубинных слоев миокарда может прорываться на поверхность эпикарда несколькими вспышками. Приемлемым считается расстояние порядка 500 мкм (Taccardi et al., 2008; Johnston, Johnston, 2020). В наших исследованиях электроды в гибких МЕА расположены друг к другу достаточно близко (300 – 750 мкм относительно центров электродов, диаметр которых 50-100 мкм), что позволяет оценить скорость распространения электрической волны без артефактов.

### **2.6.3 Анализ дисперсии реполяризации миокарда с помощью МЕА**

Продолжительность реполяризации ЛПП, соответствующая длительности потенциала действия на уровне девяноста процентов реполяризации (ПД90%), определялась как временной интервал между минимумом ЛПП и зубцом ЛПП, который находился в соответствии с ожидаемым для окончания потенциала действия временем (рисунок 2.10) (Halbach et al., 2003). Время окончания реполяризации предполагалось исходя из литературных данных о длительности потенциала действия крысы 100-150 мс (Роцевская, 2008; Varró et al., 2021) в норме и с учетом изменения длительности ИМП в зависимости от условий эксперимента. Данный сегмент, аналогичный Т-зубцу ЭКГ мог быть инвертирован.

ДР на поверхности миокарда и изменения данного показателя оценивались с шести выбранных электродов МЕА по формуле:

$$ДР = CO_{рлпп} / M_{рлпп} \times 100\%,$$

где  $CO_{рлпп}$  — стандартное отклонение длительности реполяризации ЛПП, зарегистрированных на шести электродах;

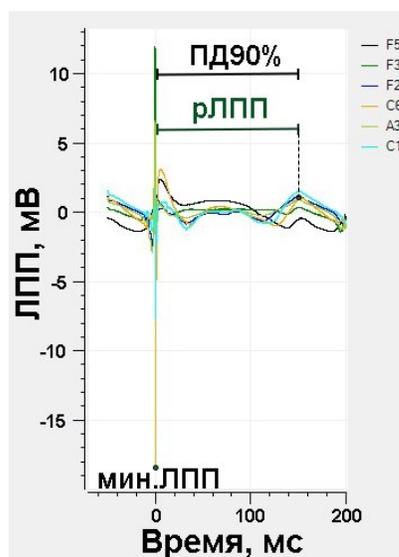


Рисунок 2.10 - ЛПП на электрограмме, зарегистрированной с поверхности изолированного сердца крысы: длительность реполяризации, рЛПП, определяется временным интервалом от минимума, мин., ЛПП до зубца ЛПП соответствующего значению ПД90%

$M_{рЛПП}$  - среднее значение длительности реполяризации ЛПП, зарегистрированных на шести электродах.

**Таким образом,** для количественного и качественного описания изменений биоэлектрической активности левого желудочка за счет определения моментов активации на ЛПП проводился анализ характеристик ритмической активности сердца:

1. ИМП (интервал между потенциалами, мс) - значение временного интервала между двумя ЛПП, характеризующее интервал между двумя сердечными сокращениями, и обратно пропорциональное частоте сердечных сокращений в единицу времени;

2.  $CV_{ИМП}$  (coefficient of variability, %) =  $SD_{ИМП}/M_{ИМП} \times 100\%$  - коэффициент вариации ИМП, позволяющий оценить стабильность ритма возникновения ЛПП и сердечных сокращений в отсутствии нервной регуляции сердца.

А также использовались характеристики электрической проводимости миокарда:

1. ЛЭС (латентность электрического сигнала, мс) - временная задержка между моментами активации на двух выбранных электродах. Показатель обратно пропорционален скорости распространения электрической волны, зависящей от электрической проводимости миокарда;

2. ДР (дисперсия реполяризации, %), оцениваемая по формуле:  $DR = \frac{SD_{rLPP}}{M_{rLPP}} \times 100\%$ . Длительность реполяризации ЛПП определялась как временной интервал между минимумом ЛПП и зубцом ЛПП, который находился в соответствии с ожидаемым для окончания потенциала действия кардиомиоцита временем.

## **2.7 Методы статистической обработки результатов исследования**

Статистическая обработка данных осуществлялась в программе GraphPadPrism 6 (GraphPad Software, США). Для проверки выборки на нормальность распределения использовался критерий Шапиро-Уилка. Для сравнения данных, полученных внутри экспериментальных групп на последовательных этапах измерения, использовался критерий Фридмана для повторных измерений. Для сравнения двух зависимых выборок с нормальным распределением использовался W-критерий Вилкоксона по причине небольшого объема выборок. Для сравнения двух независимых выборок использовался критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Полученные в результате проведенного исследования данные представлены графически боксплотами. «Усами» показан размах вариации, границами - межквартильный размах (нижний и верхний квартили), поперечной полосой - медиана выборки.

## **Глава 3. Результаты исследования и их обсуждение**

### **3.1 Результаты мультиэлектродного картирования биоэлектрической активности миокарда изолированного перфузируемого сердца крысы гибкими МЕА с поверхности эпикарда**

#### **3.1.1 Электрограммы биоэлектрической активности миокарда, полученные с помощью МЕА с эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы**

Результаты регистрации биоэлектрической активности миокарда изолированного перфузируемого сердца крысы с помощью МЕА визуализировались в виде электрограмм – графиков зависимости напряжения от времени (рисунок 3.1). Началу каждого сердечного цикла соответствовало появление ЛПП на электрограмме с выраженной амплитудой относительно изолинии. Наиболее отчетливо в период реполяризации ЛПП можно было выделить его начальную фазу и характерный для завершения реполяризации пик, соответствующий ПД90% и аналогичный Т-зубцу ЭКГ. На панелях А, Б и В рисунка 3.1 представлены электрограммы трех разных сердец. Видно, что более отчетливо фазы ЛПП выявлялись на графиках при рассмотрении ЛПП одновременно с нескольких электродов МЕА. ЛПП при этом могли отличаться друг от друга по амплитуде, направлению и форме пиков. Также характеристики ЛПП изменялись в зависимости от условий эксперимента. Так, на панелях В, Г и Д рисунка 3.1 показано увеличение продолжительности начальной фазы реполяризации ЛПП ( $p_1$ ЛПП) на третьей и седьмой минутах на фоне блокатора депо-зависимых кальциевых каналов при регистрации биоэлектрической активности миокарда левого желудочка одного сердца.

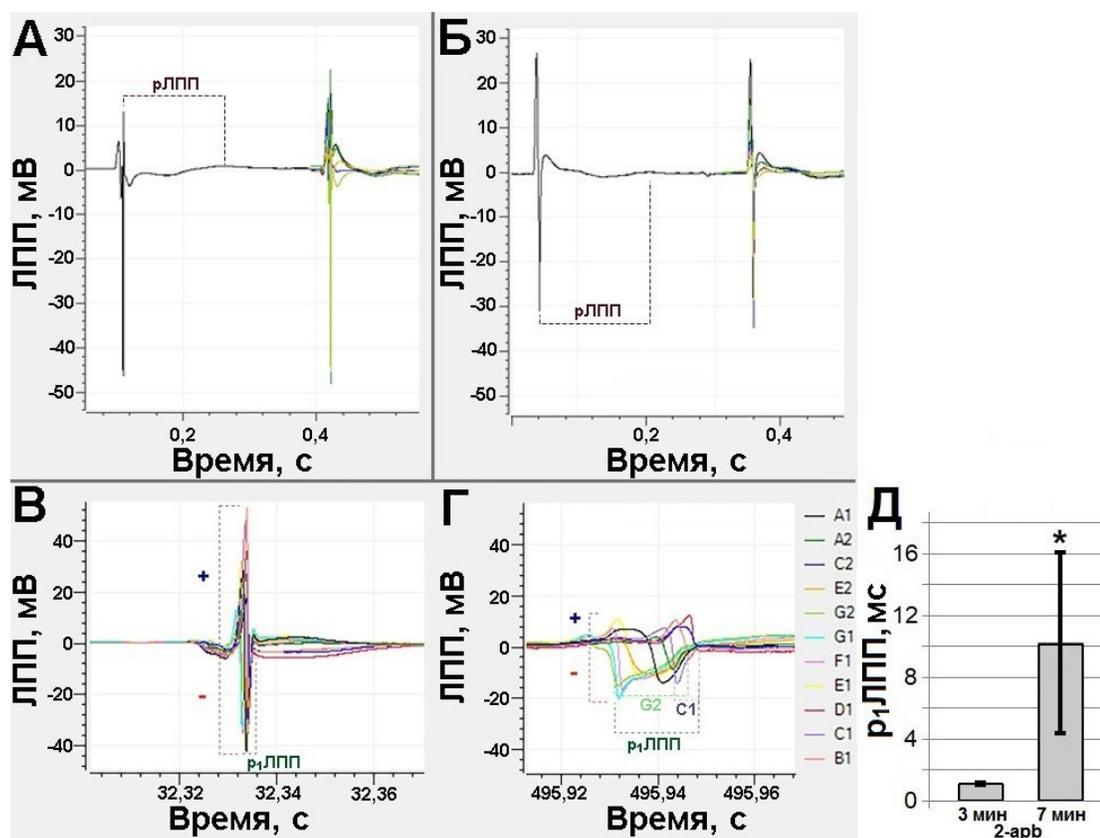


Рисунок 3.1 – Визуализация и интерпретация результатов регистрации эпикардальными МЕА биоэлектрической активности миокарда левого желудочка изолированного перфузируемого сердца крысы: А, Б – электрограммы двух сердец с одного и пяти электродов, обозначенные разными цветами, полученные в нормальных условиях перфузии; В и Г - электрограммы, зарегистрированные на одиннадцати электродах МЕА с одного сердца при воздействии блокатором депо-зависимого кальциевого тока (2-арб) на первой (В) и на седьмой (Г) минутах; Д – графическое представление увеличения продолжительности начальной фазы реполяризации на одиннадцати электродах сердца, электрограммы которого представлены на панелях В и Г; рЛПП – общая длительность реполяризации ЛПП и р<sub>1</sub>ЛПП - длительность ее начальной фазы; плюсом и минусом обозначены позитивная и негативная фазы амплитуды ЛПП соответственно; \* - наличие статистически значимых различий по W-критерию Вилкоксона ( $p < 0,05$ )

**Таким образом,** было показано, что методом регистрации гибкими МЕА с эпикарда возможна оценка биоэлектрической активности миокарда левого желудочка изолированного перфузируемого сердца крысы за счет визуализации

электрограмм и оценки изменения параметров ЛПП в зависимости от условий эксперимента. При этом некоторые отличия характеристик ЛПП во времени, а также на разных электродах или на разных сердцах наблюдается в норме.

### **3.1.2 Активационные карты, полученные с помощью МЕА с эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы**

Для оценки влияния расположения волокон миокарда на характер распространения возбуждения было проведено сопоставление активационных карт (рисунок 3.2, А), построенных на основе данных, полученных с помощью EcoFlexМЕА36 и FlexМЕА72, которые размещались на левых желудочках изолированных перфузируемых сердец крыс (рисунок 3.2, Б), с окрашенными гистологическими срезами миокарда (рисунок 3.2, В). Подвергшиеся перфузии изолированные сердца характеризуются избыточным содержанием воды, что можно наблюдать на гистологических срезах в виде увеличения интерстициального пространства. Распространение возбуждения, визуализируемое градиентной картой, имело анизотропный характер по скорости, но было более выражено по направлению вдоль волокон кольцевого слоя миокарда, которым представлена основная масса левого желудочка крысы.

Был проведен анализ зависимости результатов мультиэлектродного картирования от расстояния между электродами при регистрации биоэлектрической активности миокарда с поверхности эпикарда (рисунок 3.3). Для этого осуществлялось сравнение значений ЛЭС, полученных с помощью EcoFlexМЕА36 (n=5) и FlexМЕА72 (n=5) с расстоянием между электродами 300 мкм и 625-750 мкм соответственно, в условиях нормальной перфузии и через 3 минуты перфузии рКХ, содержащим 2-арб (10 мкМоль). В нормальных условиях значения ЛЭС между двумя соседними электродами составляли  $0,4 \pm 0,1$  мс для EcoFlexМЕА36 и  $1,2 \pm 0,3$  мс для FlexМЕА72. Присутствие

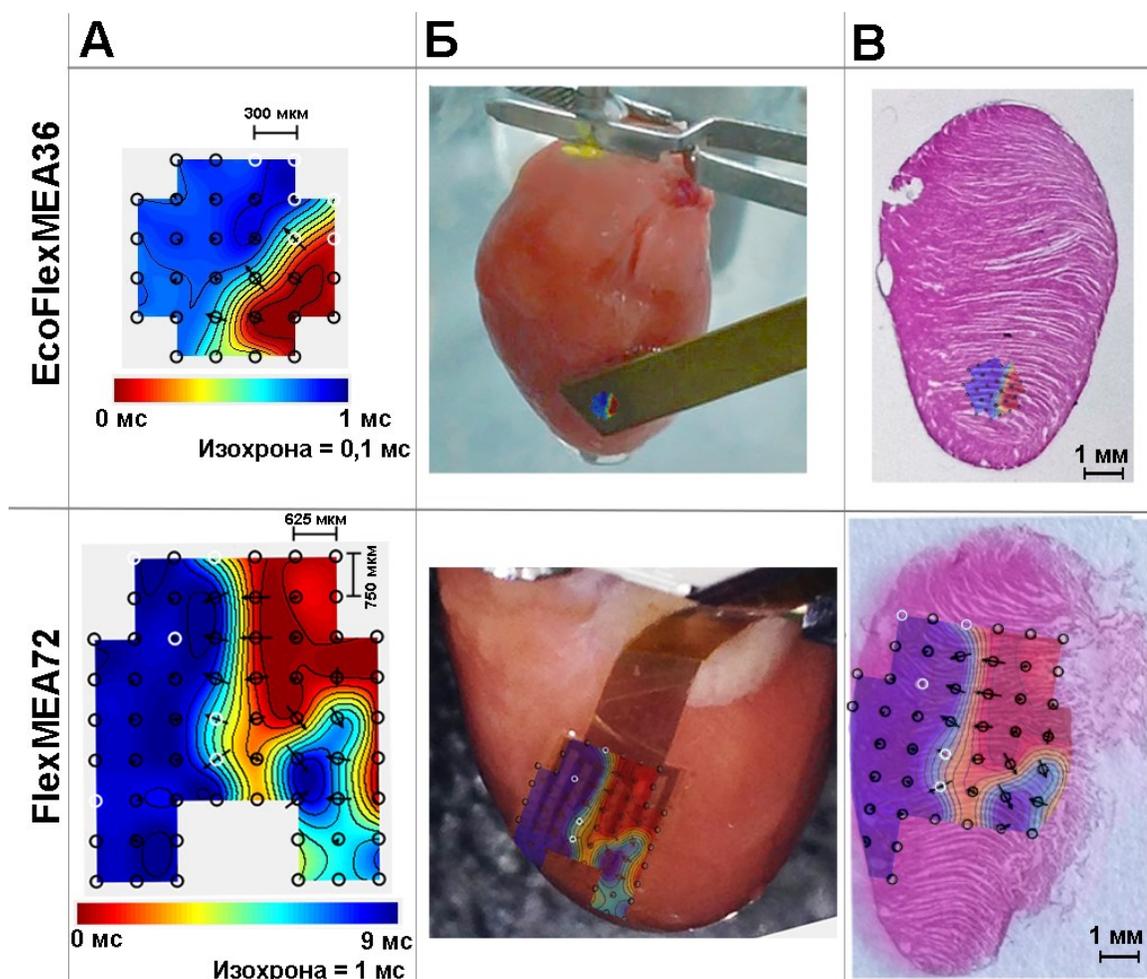


Рисунок 3.2 - Сопоставление расположения мышечных волокон в миокарде и карт распространения возбуждения, зарегистрированных EcoFlexMEA36 и FlexMEA72 с эпикарда двух изолированных перфузируемых сердец крыс: А – градиентные активационные карты, отображающие распространение волны возбуждения в направлении от электродов, на которых ЛПП были детектированы раньше (0 мс, красный цвет), к электродам, на которых ЛПП были обнаружены позже (синий); Б – проекция активационных карт (А) на желудочках сердец в областях наложения MEA; В - проекции активационных карт (А) на срезах миокарда сердец в области наложения MEA; черные и белые окружности – электроды, на которых анализировались и не анализировались изменения биоэлектрической активности соответственно

2-арб в перфузионном растворе вызвало статистически значимое увеличение ( $P < 0,05$ ) значений ЛЭС до  $0,9 \pm 0,2$  мс и  $2 \pm 0,5$  мс, полученных с использованием EcoFlexMEA36 и FlexMEA72 соответственно.

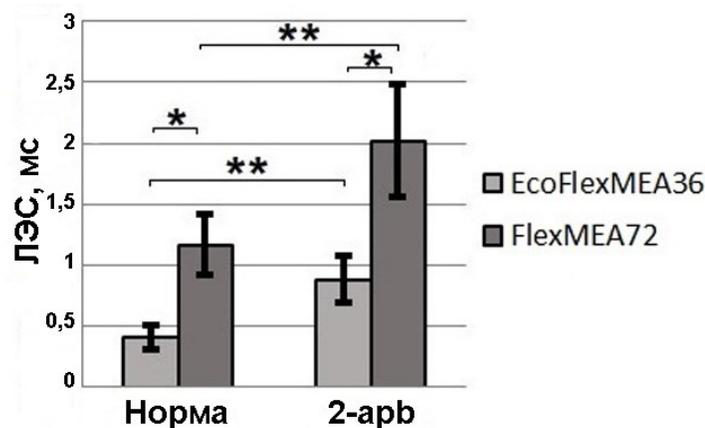


Рисунок 3.3 - Значения ЛЭС в нормальных условиях перфузии и в присутствии 2-arp, рассчитанные в результате картирования биоэлектрической активности сердца крысы матрицами EcoFlexMEA36 и FlexMEA72; \* - наличие статистически значимых различий по критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ); \*\* - наличие статистически значимых различий по W-критерию Вилкоксона ( $p < 0,05$ )

**Таким образом,** скорость и направление распространения волны возбуждения на поверхности эпикарда зависели от расположения миокардиальных волокон под электродами MEA. Было показано, что значение ЛЭС зависит от расстояния между электродами MEA, и использование MEA с величинами расстояния между электродами от 300 до 750 является адекватным способом оценки пространственно-временных параметров биоэлектрической активности миокарда при эпикардиальном картировании.

### 3.1.3 Обсуждение полученных результатов

В ходе изучения биоэлектрической активности миокарда изолированного перфузируемого сердца крысы методом многоканальной регистрации гибкими MEA следовало учитывать ряд особенностей, связанных как с объектом исследования, так и со спецификой используемого метода.

Форма ЛПП зависит от биоэлектрической активности нескольких клеток. Поэтому она не может полностью совпадать с потенциалом действия, зарегистрированного методом patch-clamp на мембране кардиомиоцита. Также регистрируемые электрограммы не являются разновидностью ЭКГ, полученной по установленной методике с определенных отведений сердца. При этом логично, что фазы полевых потенциалов с клеточных культур кардиомиоцитов (рисунок 3.4) или срезов миокарда (рисунок 3.5) совпадают во времени с фазами потенциала действия клеточной мембраны и элементами ЭКГ.

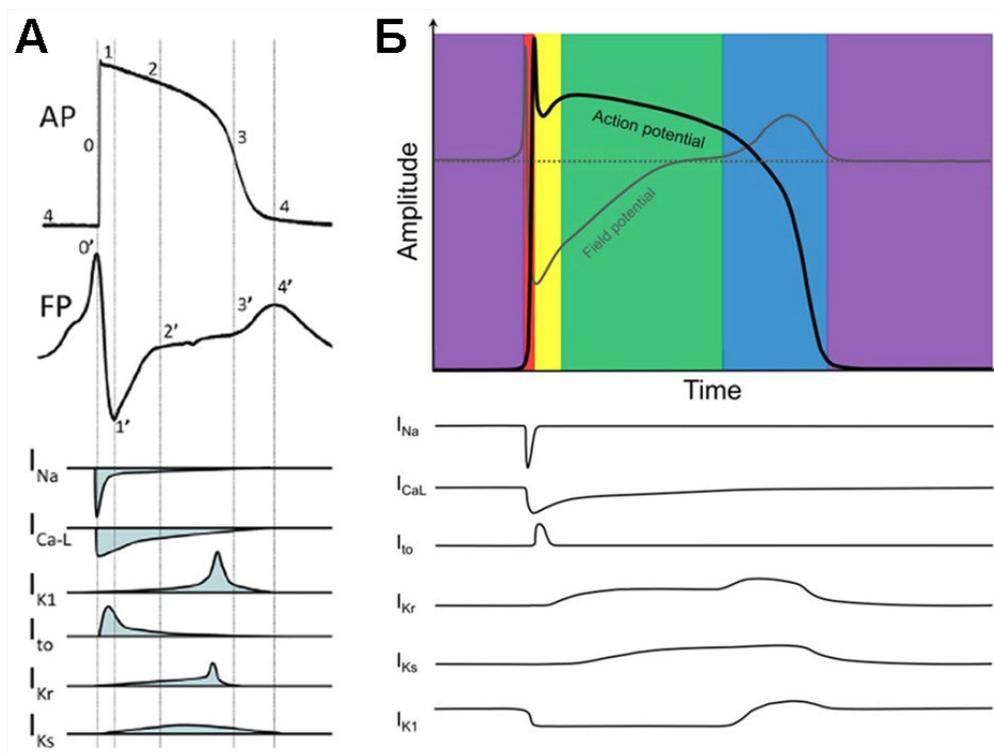


Рисунок 3.4 – Сопоставление графиков потенциала действия кардиомиоцитов и полевых потенциалов, полученных методом регистрации биоэлектрической активности культуры кардиомиоцитов из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека, по результатам исследований: А- Tertoolen L.G.J. и др., (Tertoolen et al., 2018); Б – Jung A. (Jung, 2021); пять фаз потенциала действия отмечены цифрами (А) или цветом (Б: 0- красный, 1 - желтый, 2 - зеленый, 3 - синий, 4 – фиолетовый, пунктирная линия = 0 мВ); AP – потенциал действия кардиомиоцита, FP – полевой потенциал культуры кардиомиоцитов; также показаны основные входящие и выходящие ионные токи

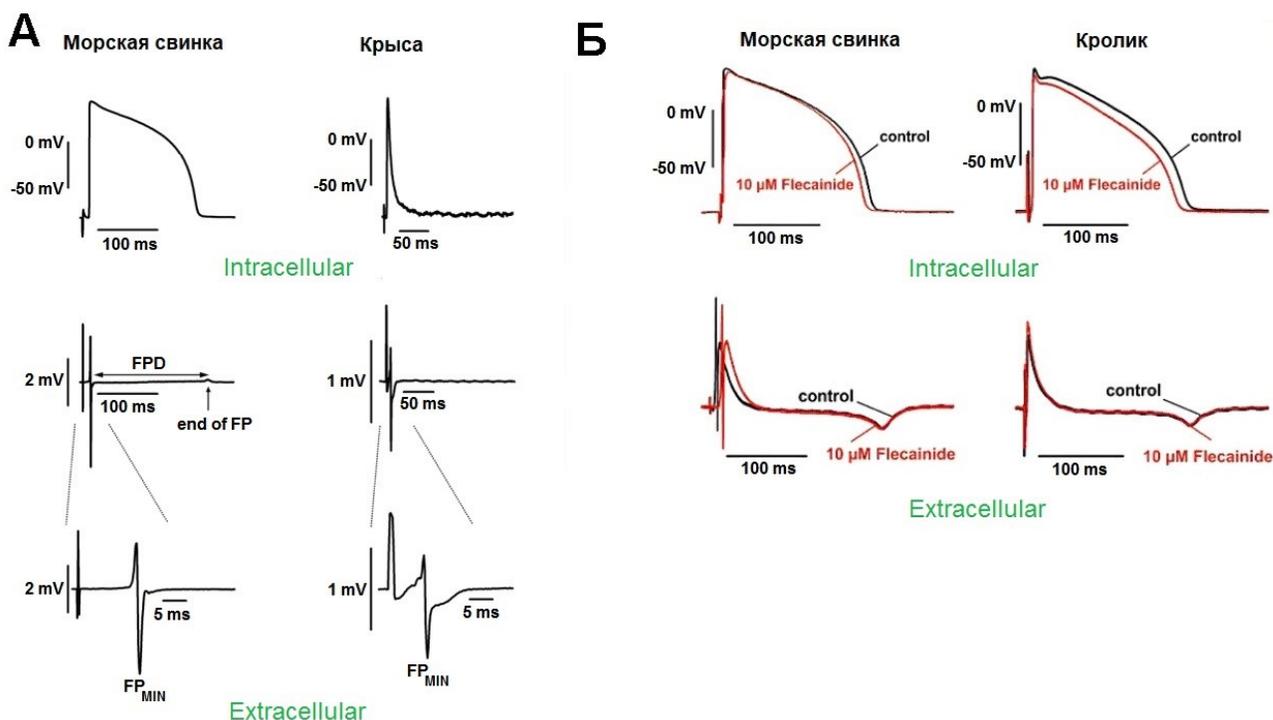


Рисунок 3.5 –Сопоставление графиков потенциалов действия кардиомиоцитов и полевых потенциалов, полученных методом регистрации биоэлектрической активности срезов миокарда животных разных видов, по результатам исследований: А – Bussek A. и др. (Bussek et al., 2009); Б - Himmel H.M. и др. при изучении действия флекаинида на биоэлектрическую активность сердца (Himmel et al., 2012); FPD – длительность полевого потенциала, FP, от минимального пика до конца реполяризации, FP<sub>MIN</sub> - первый негативный пик полевого потенциала

На рисунках 3.4 и 3.5 представлены результаты исследований других авторов. Стоит отметить, что полученные в разных лабораториях результаты регистрации электрических потенциалов различаются в зависимости от препарата исследования - культуры кардиомиоцитов или срезов миокарда. Для клеточных культур характерна более выраженная сегментация полевого потенциала.

Для описания проведенной нами работы используется термин ЛПП с целью подчеркнуть соотношение микроэлектрода с органом, сердцем, по аналогии с ЛПП мозга (Tomasello, Sive, 2020; Sinha, Narayanan, 2022). Важно,

что по результатам анализа ЛПП возможно сделать предположение о вкладе конкретного ионного тока в формирование зарегистрированного потенциала.

Для биоэлектрической активности миокарда сердца крысы характерны некоторые специфичные характеристики. С высокой частотой сердечных сокращений крысы (400-600 ударов в минуту) и других мелких грызунов связана относительно короткая продолжительность сердечного цикла (*in vivo* 100-150 мс). В потенциале действия рабочего кардиомиоцита желудочка сердца крысы, в отличие от других видов, отсутствует выраженное «плато» (рисунок 3.6). Данная особенность связана с повышенным вкладом реполяризирующих калиевых трансмембранных токов по сравнению с некоторыми более крупными животными и человеком (Varró et al., 2021).

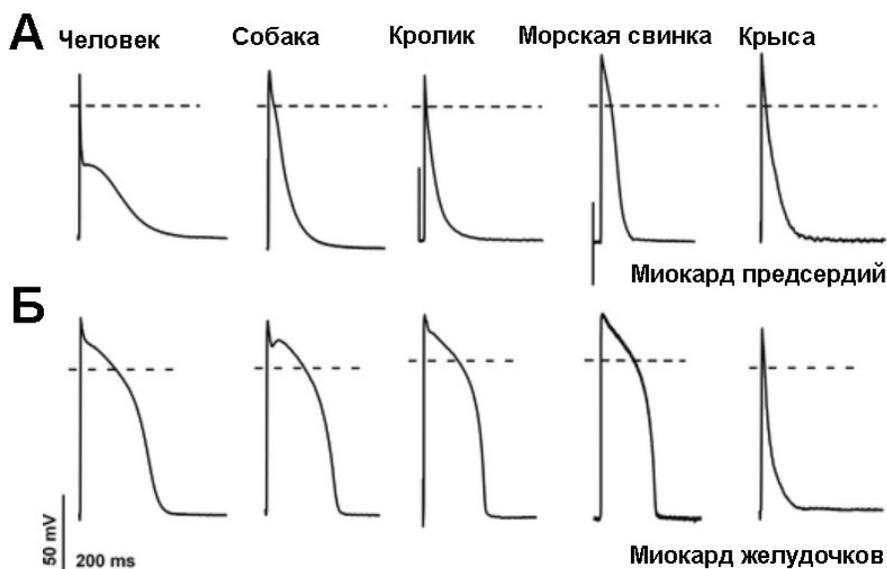


Рисунок 3.6 - Видоспецифичные различия потенциала действия кардиомиоцитов: А – предсердий; Б – желудочков, зарегистрированные методом patch-clamp (Varró et al., 2021)

Наиболее детальное исследование биоэлектрической активности клеток миокарда может быть осуществлено путем регистрации мембранных потенциалов действия с использованием техники patch-clamp на изолированных кардиомиоцитах (Abramochkin, Kompella, Shiels, 2021). Существует необходимость получения максимально близких по параметрам потенциалов

при регистрации биоэлектрической активности клеток в миокарде, сохраняя структуру ткани (Melle et al., 2020). Это могло бы существенно расширить возможности изучения роли ионных токов в работе сердца. Одним из методов решения данной задачи является метод регистрации монофазных потенциалов действия, который используется уже более ста лет, но получаемые потенциалы существенно отличаются от потенциалов действия клетки (Iravanian et al., 2020). Решить задачу повышения графического сходства регистрируемых внеклеточных и клеточных потенциалов можно путем развития метода микроэлектродной техники (Melle et al., 2020). Поэтому применение в данной диссертационной работе метода картирования гибкими МЕА биоэлектрической активности миокарда в норме и при воздействии физико-химическими факторами имеет большое значение в развитии методов изучения электрофизиологии сердца.

На рисунке 3.7 продемонстрированы результаты одного из двух исследовательских коллективов, научные публикации которых удалось обнаружить в общедоступных литературных источниках, и которые используют такие же, как и в представленной диссертационной работе, МЕА (EcoFlexМЕА36) для анализа биоэлектрической активности сердца мыши (рисунок 3.7, А). В данном исследовании использовалась внешняя электрическая стимуляция сердечной активности, воздействие которой можно наблюдать в начале электрограммы (рисунок 3.7, Б). По этой причине распространение регистрируемой волны возбуждения имело довольно однородный характер по скорости и направлению (рисунок 3.7, В), который, вероятно, не совпадает с картиной охвата возбуждением миокарда при собственном ритме сокращений сердца.

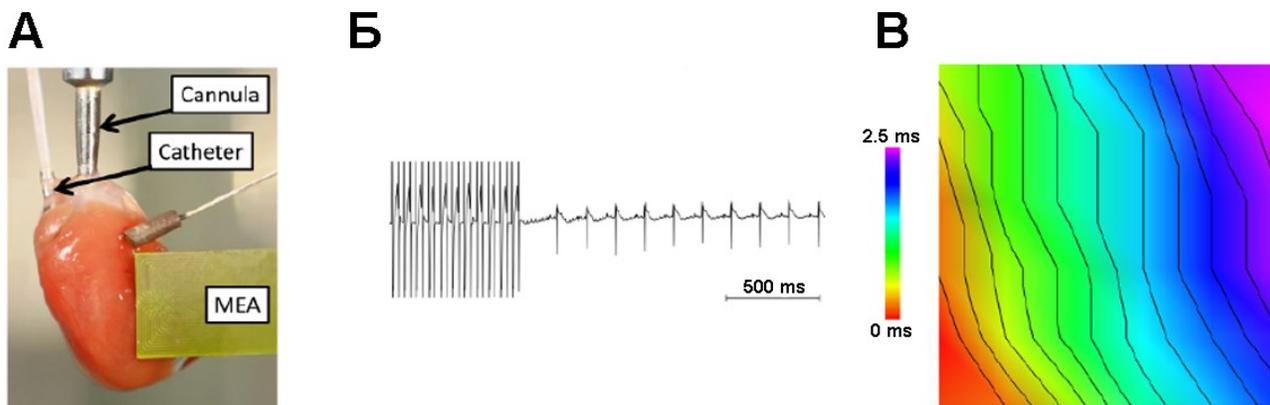


Рисунок 3.7 – Результаты исследований Jungen С. и др. (Jungen et al., 2017) биоэлектрической активности изолированного сердца мыши с помощью матрицы EcoFlexMEA36 (Multichannel Systems, Германия): А – изолированное перфузируемое сердце мыши с подведенными к правому предсердию стимулирующим электродом и MEA к правому желудочку; Б – ЛПП, регистрируемые MEA в ходе сокращения сердца и внешней электрической стимуляции; В – визуализация с помощью самостоятельно разработанного программного обеспечения результатов анализа скорости распространения волны возбуждения; изохрона = 2 м/с

Распространение волны возбуждения миокарда, которое было изучено в рамках представленного диссертационного исследования, характеризовалось неоднородностью скорости распространения по направлениям. Скорость распространения волны возбуждения зависит от гистологических особенностей миокарда (Hoyt, Cohen, Saffitz, 1989; Kléber, Jin, 2021). Основная масса левого желудочка сердца крысы представлена волокнами кольцевого слоя миокарда, расположенными поперечно сердечной оси сердца. Проведение возбуждения по расположенным вдоль сердечной оси волокнам субэпикардального слоя (Рощевская, 2008) ближе к электродам MEA также должно было вносить вклад в результаты картирования движения волны деполяризации. Совокупное влияние биоэлектрической активности кардиомиоцитов из разных слоев миокарда могло определить анизотропный характер охвата возбуждением желудочка сердца, регистрируемого с эпикарда. При этом сопоставление картины распространения возбуждения на активационных картах с

расположением окрашенных волокон срезов миокарда взятых в эксперимент желудочков сердец крыс показало более четкую выраженность движения фронта вдоль миокардиальных волокон кольцевого слоя.

На окрашенных срезах миокарда изолированного перфузируемого сердца крысы можно было наблюдать избыток воды в ткани в виде увеличения интерстициального пространства. Данное явление описано в литературе, отмечается, что в остальном кардиомиоциты и другие клеточные компоненты сердца сохраняют нормальную морфологию (Anderson et al., 1990).

Также было показано, что значения ЛЭС пропорциональны значениям межэлектродного расстояния 300 или 625-750 мкм в EcoFlexMEA36 и FlexMEA72 соответственно, и это подтверждает адекватность их использования.

**Таким образом,** в настоящей работе впервые для интерпретации электрограмм, полученных в результате многоканального картирования эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы гибкими MEA без использования внешней электрической стимуляции:

- 1). был проведен сравнительный анализ характеристик зарегистрированных ЛПП с характеристиками клеточных и внеклеточных потенциалов, описанных в литературных источниках;

- 2). была установлена зависимость скорости и направления распространения фронта волны возбуждения от гистологических особенностей миокарда;

- 3). было проведено сравнительные исследования результатов, полученных при помощи MEA с разным пространственным разрешением (300 мкм и 625-750 мкм).

Полученные характеристики позволяют доказательно утверждать, что картирование биоэлектрической активности миокарда с поверхности эпикарда

гибкими МЕА является адекватным методом исследования электрофизиологических параметров сердца на клеточном уровне.

### **3.2 Исследование методом МЕА пространственно-временных и частотных характеристик электрической активности изолированного перфузируемого сердца крысы в условиях нормоксии при блокировке депо-управляемого кальциевого тока**

#### **3.2.1 Ритм сокращений изолированного перфузируемого сердца крысы**

«Контроль». В нормальных условиях перфузии сердца значения продолжительности ИМП интервалов и значения  $CV_{ИМП}$  со временем статистически значимо не изменялись ( $p > 0,05$ ) (рисунок 3.8, А; рисунок 3.9, А), и в среднем составляли  $246,2 \pm 20,1$  мс и  $1,9 \pm 1,2\%$  соответственно.

«2-арб». Подавление депо-зависимого кальциевого тока за счет перфузии сердец с блокатором SOCE-каналов, вызывало снижение длительности ИМП и развитие фибрилляции желудочков сердца через 7-9 минут перфузии с 2-арб. Состояние фибрилляции устанавливалось по признакам, основанным на принятых в клинической электрокардиографии: беспорядочные, разной формы, амплитуды и продолжительности волны с частотой, превышающей норму в 4-5 раз; отсутствие дифференцируемых комплексов, сегментов и зубцов (Латфуллин, Богоявленская, Ахмерова, 2002).

В 10% случаев перед фибрилляцией наблюдалось снижение длительности ИМП до 33% от нормы. При отмене блокатора 2-арб фибрилляция прекращалась к четвертой минуте, продолжительность ИМП при этом оставалась сниженной, а с пятой-шестой минуты восстанавливалась до первоначальных значений (рисунок 3.8, Б). Возникновению фибрилляции

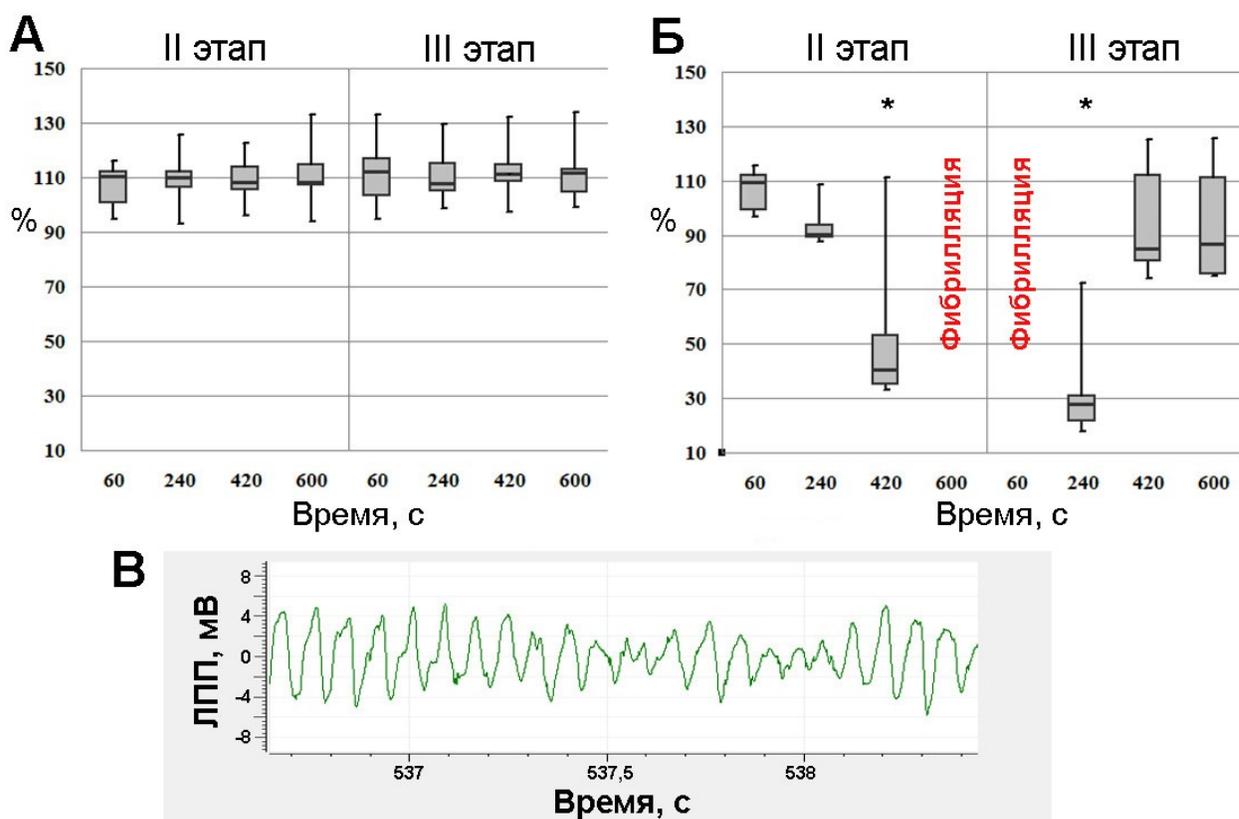


Рисунок 3.8 - Изменение длительности ИМП (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б – «2-арб»; В – электрограмма, зарегистрированная в период фибрилляции желудочков; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

желудочков предшествовало увеличение  $CV_{ИМП}$  до 34,1% в 10% случаев. После прекращения фибрилляции на этапе отмены блокатора SOCE  $CV_{ИМП}$  оставался повышенным максимум до 14,7% в 10% случаев (рисунок 3.9, Б).

**Таким образом,** в условиях нормоксии ритмическая функция изолированного сердца стабильна по параметрам, регистрируемым МЭА, блокировка депо-зависимых кальциевых каналов вызывала нарушение ритма сердечных сокращений и фибрилляцию.

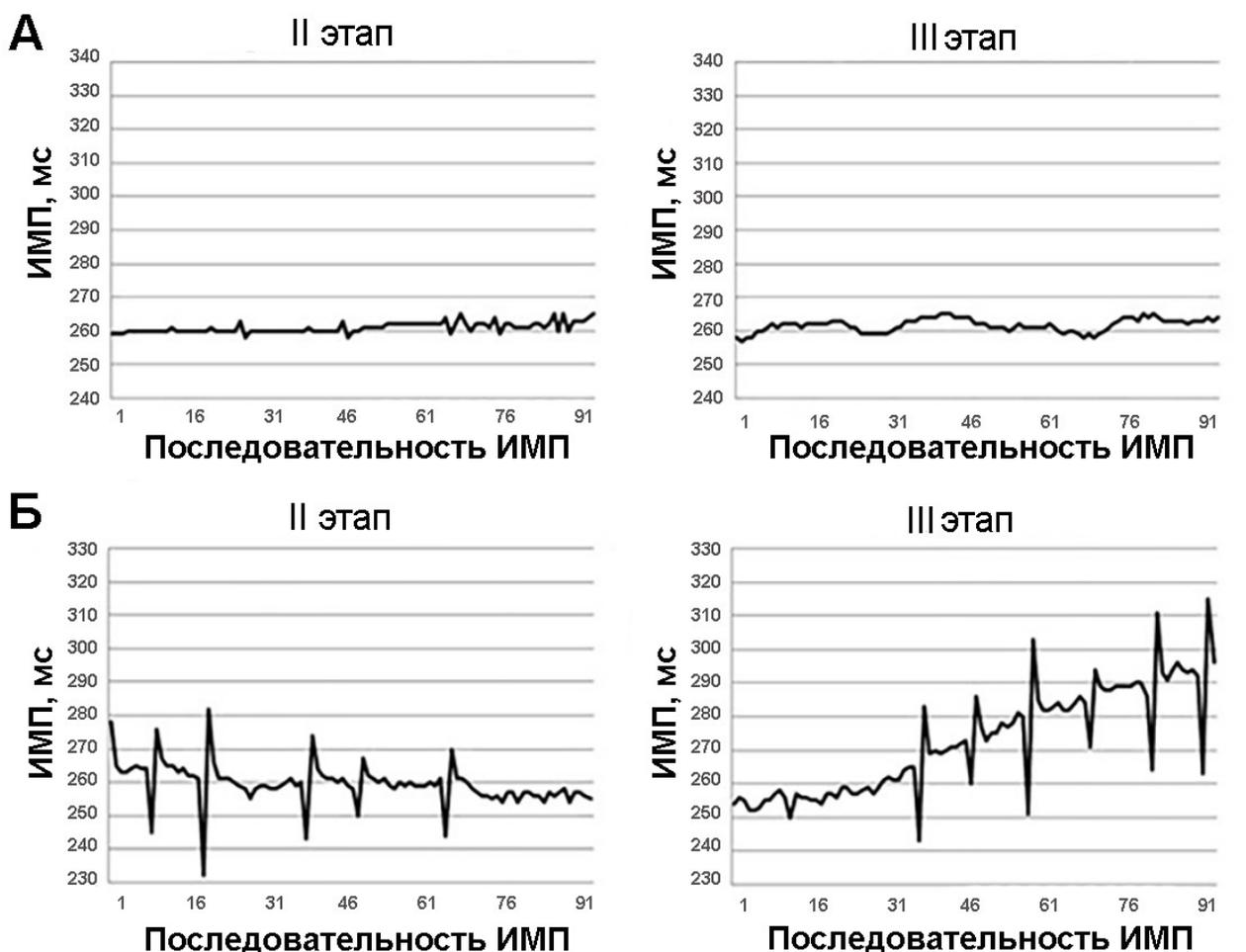


Рисунок 3.9 - Интервалограммы, которые показывают значения временной длительности (ось Y) последовательных ИМП (ось X) на седьмой минуте второго этапа и третьей минуте третьего этапа эксперимента в отдельно взятых сердцах из экспериментальных групп: А – «Контроль»; Б – «2-арб»

### 3.2.2 Латентность электрических сигналов, зарегистрированных с поверхности эпикарда

«Контроль». В стандартных условиях перфузии значения ЛЭС между двумя соседними электродами составляли  $0,4 \pm 0,1$  мс для EcoFlexMEA36 (300 мкм) и  $1,2 \pm 0,3$  мс для FlexMEA72 (625-750 мкм) и не изменялись в ходе эксперимента ( $p > 0,05$ ) (рисунок 3.10, А).

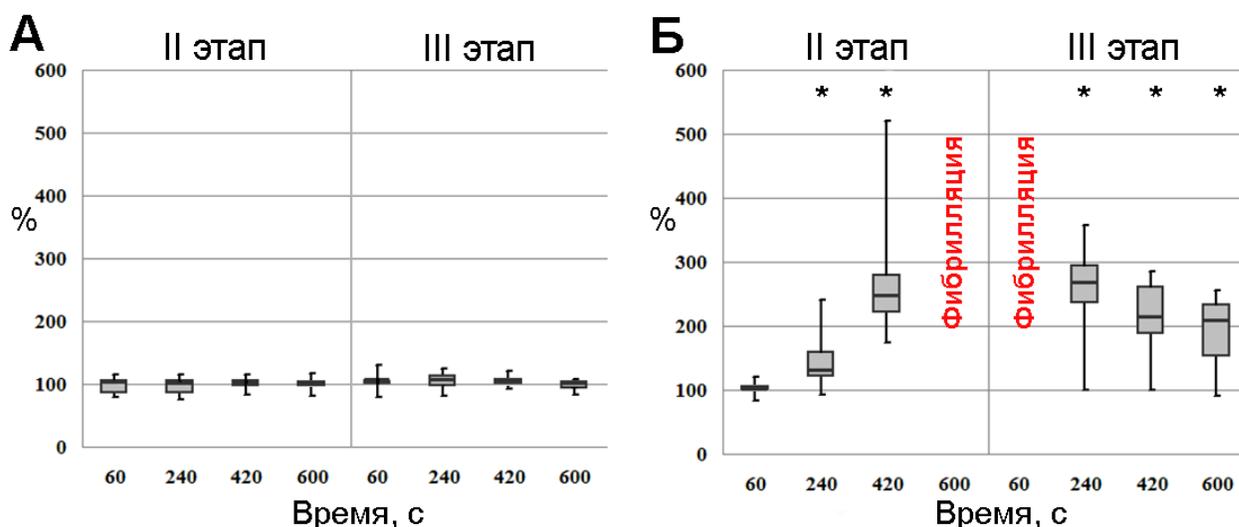


Рисунок 3.10 - Изменение значения ЛЭС (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б – «2-арб»; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

«2-арб». Развитию сердечной фибрилляции предшествовало увеличение значения ЛЭС в 10% сердец в 2-5,5 раз (рисунок 3.10, Б). После прекращения фибрилляции значение ЛЭС оставалось статистически значимо выше нормы ( $p < 0,05$ ).

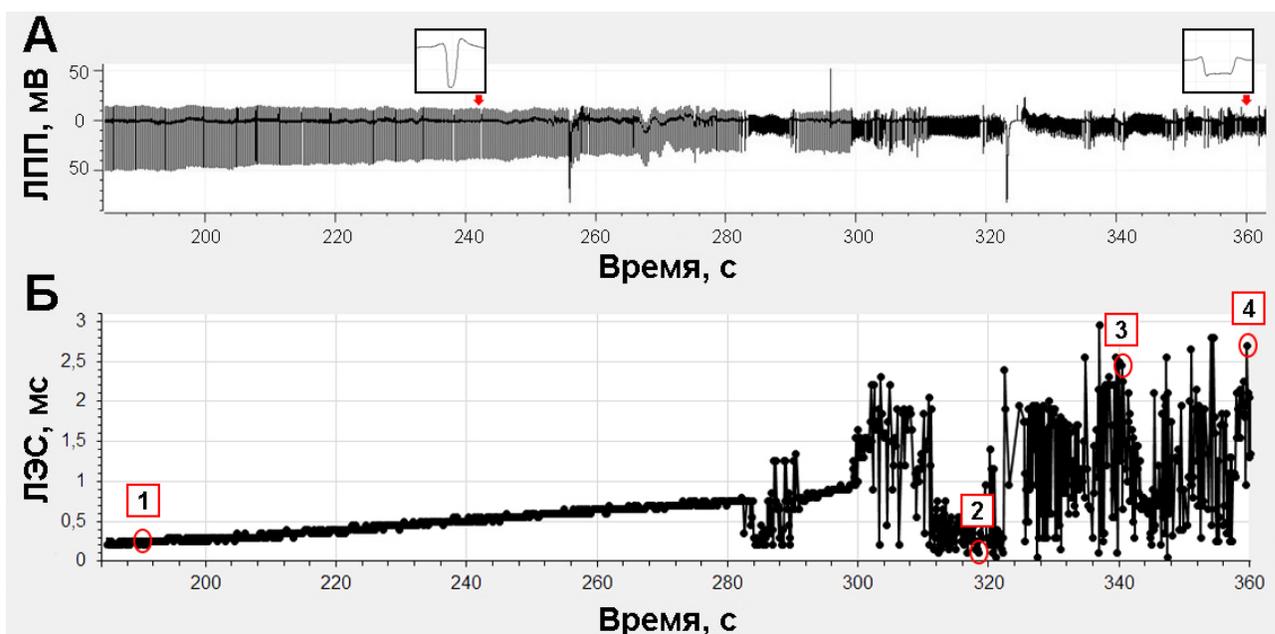
Рисунок 3.11 отражает изменения биоэлектрической активности миокарда, предшествующие фибрилляции желудочков, вызванной подавлением SOCE. В качестве примера представлен анализ одного сердца из группы «2-арб» на этапе перфузии раствором, содержащим блокатор 2-арб.

Электрограмма (рисунок 3.11, А) позволяет оценить изменения значений длительности ИМП по плотности пиков ЛПП (отдельно представлены в увеличенном масштабе на 243 и 360 секундах). Значение длительности ИМП было стабильным до 283-ей секунды. После 283-ей секунды наблюдались периоды учащения ритма возникновения ЛПП (сокращения ИМП). То есть,

наблюдалась тахикардия – частота сердечных сокращений, превышающая норму (Латфуллин, Богоявленская, Ахмерова, 2002). Начиная с 312 секунды, периодический характер проявления тахикардии перешел в постоянный (рисунок 3.11, А). Так как регистрация ЛПП осуществлялась МЕА только с желудочка, невозможно однозначно установить тип тахикардии – синусовая или желудочковая.

На панели Б рисунка 3.11 показано изменение значений ЛЭС в течение того же временного периода (180-360 секунд) между двумя электродами матрицы – G2 и F3. Значения ИМП и ЛЭС изменялись во времени независимо (рисунок 3.11, А, Б). К 283-ей секунде значение ЛЭС статистически значимо увеличилось в 3,3 раза по сравнению с началом фазы ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.11, Б). Затем, несмотря на заметное увеличение разброса значений показателя, ЛЭС продолжала статистически значимо увеличиваться, достигнув максимального значения 2,3 мс ( $p < 0,05$ ).

При постепенно продолжающемся росте ЛЭС между электродами G2 и F3 также наблюдались эпизоды снижения показателя, которые при этом характеризовались и снижением ИМП (рисунок 3.11, А, Б). Так, с 283-ей и до 290-ой секунды наблюдалось снижение ЛЭС до 0,2 мс (рисунок 3.11, Б),



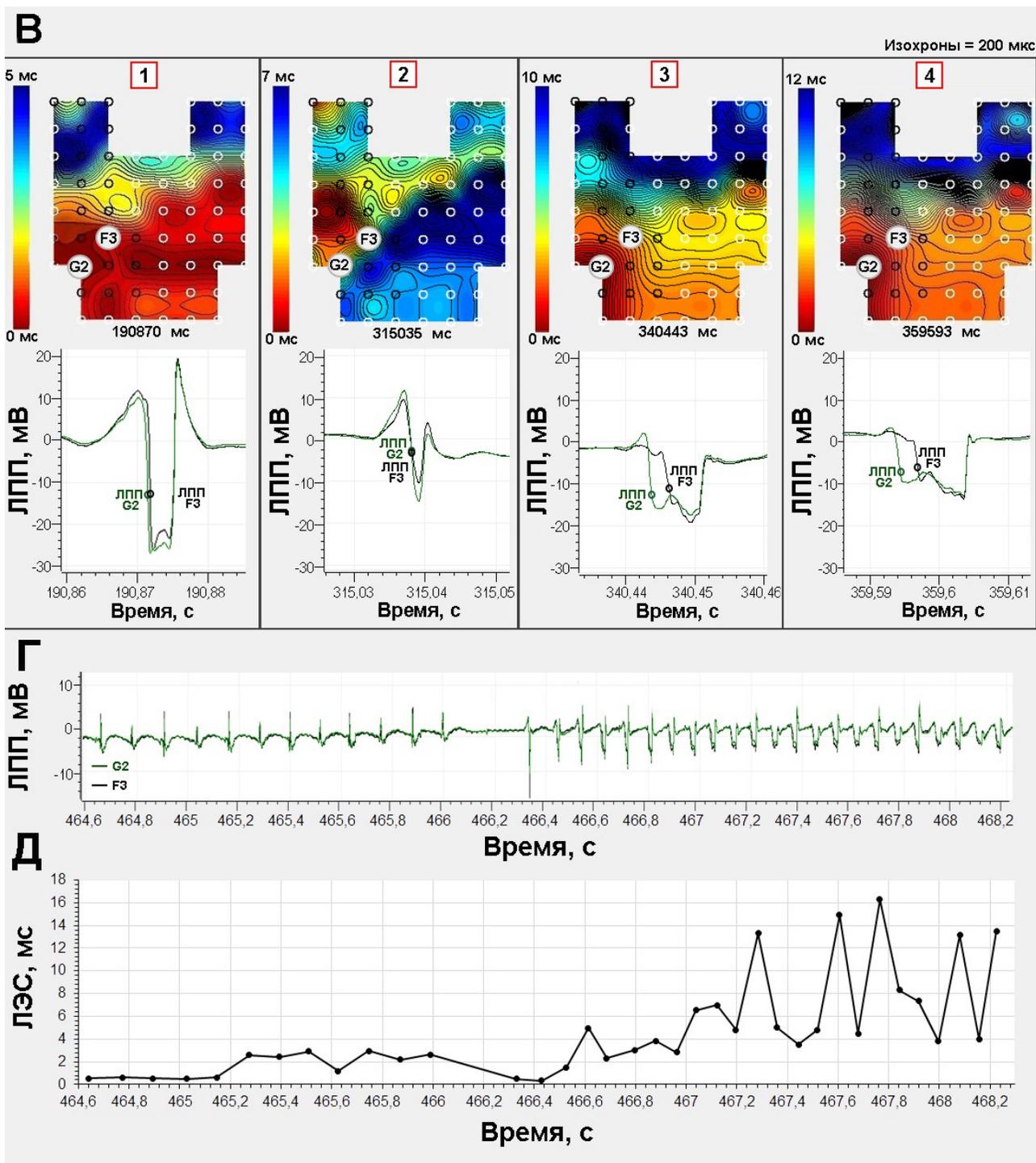


Рисунок 3.11 - Сопоставление во времени изменений частотных и пространственно-временных характеристик электрической активности сердца при блокировке SOCE: А – изменение значений ЛПП (ось Y) в зависимости от времени (ось X) с вынесенными примерами увеличенных в масштабе ЛПП; Б – изменение обозначенными точками значений ЛЭС (ось Y) в зависимости от времени (ось X); В – активационные карты распространения фронта возбуждения по поверхности левого желудочка, соответствующие четырем временным

моментам, отмеченных на графике Б цифрами в красных квадратах; черные и белые окружности – электроды, на которых анализировались и не анализировались изменения биоэлектрической активности соответственно; G2 и F3 - электроды, между которыми рассчитывалось значение ЛЭС, и для которых также представлены графики зависимости ЛПП (ось Y) от времени (ось X); Г – изменение значений ЛПП (ось Y) от времени (ось X) и Д - ЛЭС (ось Y) от времени (ось X) при развитии фибрилляции желудочков

сопровождавшееся сокращением ИМП (рисунок 3.11, А). Период снижения ЛЭС с 312-ой по 322-ую секунду (рисунок 3.11, Б-2) соответствовал окончательному переходу сердца в состояние тахикардии (рисунок 3.11, А).

Для отдельно взятых четырех сердечных сокращений в условиях блокировки SOCE, отмеченных цифрами 1-4 на панели Б рисунка 3.11, на панели В рисунка 3.11 с помощью градиентных активационных карт показаны изменения картины распространения фронта возбуждения в пределах «вспышки» прорыва биоэлектрической активности на поверхности левого желудочка. Электроды, на которых была зарегистрирована анализируемая «вспышка», обозначены черными окружностями, прочие электроды матрицы – белыми окружностями (были исключены из анализа). Под каждой активационной картой представлен соответствующий ей график ЛПП, зарегистрированных на двух электродах, выбранных для анализа изменений ЛЭС - G2 и F3. На графиках ЛПП видно, что блокировка SOCE вызывала изменения форм ЛПП, а также продолжительности временного интервала между моментами активации, соответствующих максимальной крутизне спада ЛПП (отмечены окружностями цвета графиков), то есть – вызывала изменения ЛЭС. Градиентные активационные карты демонстрируют увеличение ЛЭС с течением времени в пределах всей «вспышки» (№1 – 6 мс, №2 – 7 мс, №3 – 10 мс, №4 – 12 мс). Данное наблюдение сочеталось с периодами сокращения ЛЭС между электродами G2 и F3, как это происходило на 315 мс (рисунок 3.11, Б, В-2). Произошедшее в этот момент сердечное сокращение относится к периоду

тахикардии (рисунок 3.11, А). На активационной карте (рисунок 3.11, В-2) видно, что активационные моменты для обоих электродов оказались в пределах одной изохронны. При этом точка начала распространения фронта сместилась левее. Данное событие носило временный характер, после чего картина распространения волны возбуждения восстанавливалась, и на секундах 340, 4 (рисунок 3.11 В-3) и 359,6 (рисунок 3.11, В-4) наблюдалось дальнейшее увеличение ЛЭС, как в пределах всего анализируемого контура, так и между электродами G2 и F3.

Таким образом, увеличение разброса показателя ЛЭС от 0,1 мс до 3 мс было связано с изменением формы и размера «вспышки», смещением первичного очага ее возникновения - то есть повышением нестабильности и рассинхронизации электрического проведения в миокарде. В нормальных условиях функционирования сердца данные явления не наблюдались, но оказались характерны для сердец, подверженных блокировке SOCE.

Блокировка SOCE приводила к изменениям возбудимости кардиомиоцитов, которые могли происходить неодинаково в разных участках миокарда, и поэтому фронт волны возбуждения менял форму и направление движения. Важно, что до 283-ой секунды увеличение ЛЭС наблюдалось при относительно стабильной картине распространения биоэлектрической активности, которое регистрировалось матрицей электродов. Но учащение ритма сердечных сокращений влияло на характер распространения возбуждения в желудочке.

На панели Г рисунка 3.11 показаны изменения ЛПП и ИМП при развитии фибрилляции желудочков на 466,5 секунде. Кроме снижения ИМП форма ЛПП деформируется, фазы ЛПП становятся короткими и слабо выраженными. По аналогии с признаками фибрилляции на ЭКГ - отсутствием дифференцируемых комплексов, сегментов и зубцов (Латфуллин, Богоявленская, Ахмерова, 2002). Для сердечных сокращений, во время которых были зарегистрированы ЛПП, на

панели Д рисунка 3.11 представлены соответствующие значения ЛЭС. На графике показано дальнейшее увеличение ЛЭС максимум до 16,3 мс.

Фибрилляция была вызвана достижением показателей ИМП и ЛЭС критических порогов, что при совпадении двух данных событий во времени нарушало нормальное распространение возбуждения в миокарде и переводило сократительную активность сердца в наименее функциональный режим.

**Таким образом,** ЛЭС, как характеристика, обратно пропорциональная скорости распространения электрической волны, зависящей от электрической проводимости миокарда, поддерживалась на стабильном уровне в ходе эксперимента в условиях нормоксии и нормального состояния поницаемости мембраны для ионов. Регуляция токов кальция путем блокады деполуправляемого входящего кальциевого тока вызывала увеличение задержки распространения возбуждения в миокарде левого желудочка изолированного перфузируемого крысы, что могло стать причиной развития фибрилляции на фоне учащения ритма сердечных сокращений.

### **3.2.3 Дисперсия реполяризации миокарда**

«Контроль». В нормальных условиях перфузии сердец значение ДР во время эксперимента статистически значимо не изменялось ( $p > 0,05$ ) и в среднем составляло  $4,9 \pm 2,6\%$  (рисунок 3.12, А).

«2-арб». В условиях подавления SOCE значение ДР перед фибрилляцией желудочков увеличивалось до 7 раз по сравнению с началом эксперимента в нормальных условиях и оставалось повышенным до конца эксперимента (рисунок 3.12, Б).

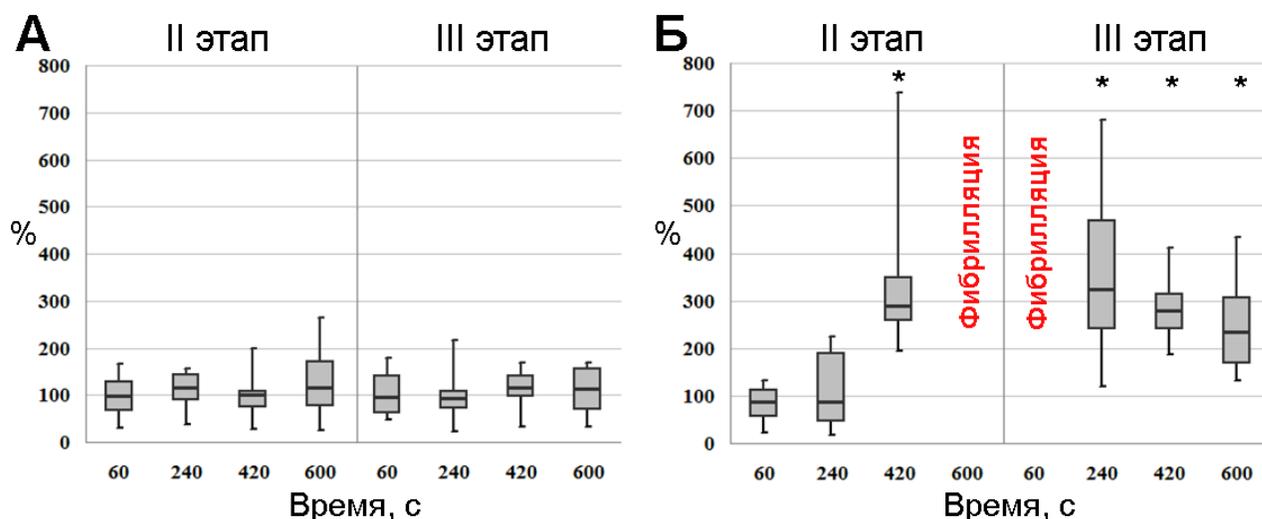


Рисунок 3.12 - Изменение значения ДР (ось Y) относительно времени (ось X) по сравнению со значением данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б – «2-арб»; значения на графиках представлены боксплотами (гвоздики - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

**Таким образом,** существенное повышение показателя ДР относительно нормы в условиях блокировки депо-зависимых кальциевых каналов может являться одной из причин развития фибрилляции желудочков.

### 3.2.4 Влияние блокирования депо-зависимых кальциевых каналов на изменение характеристик ЛПП

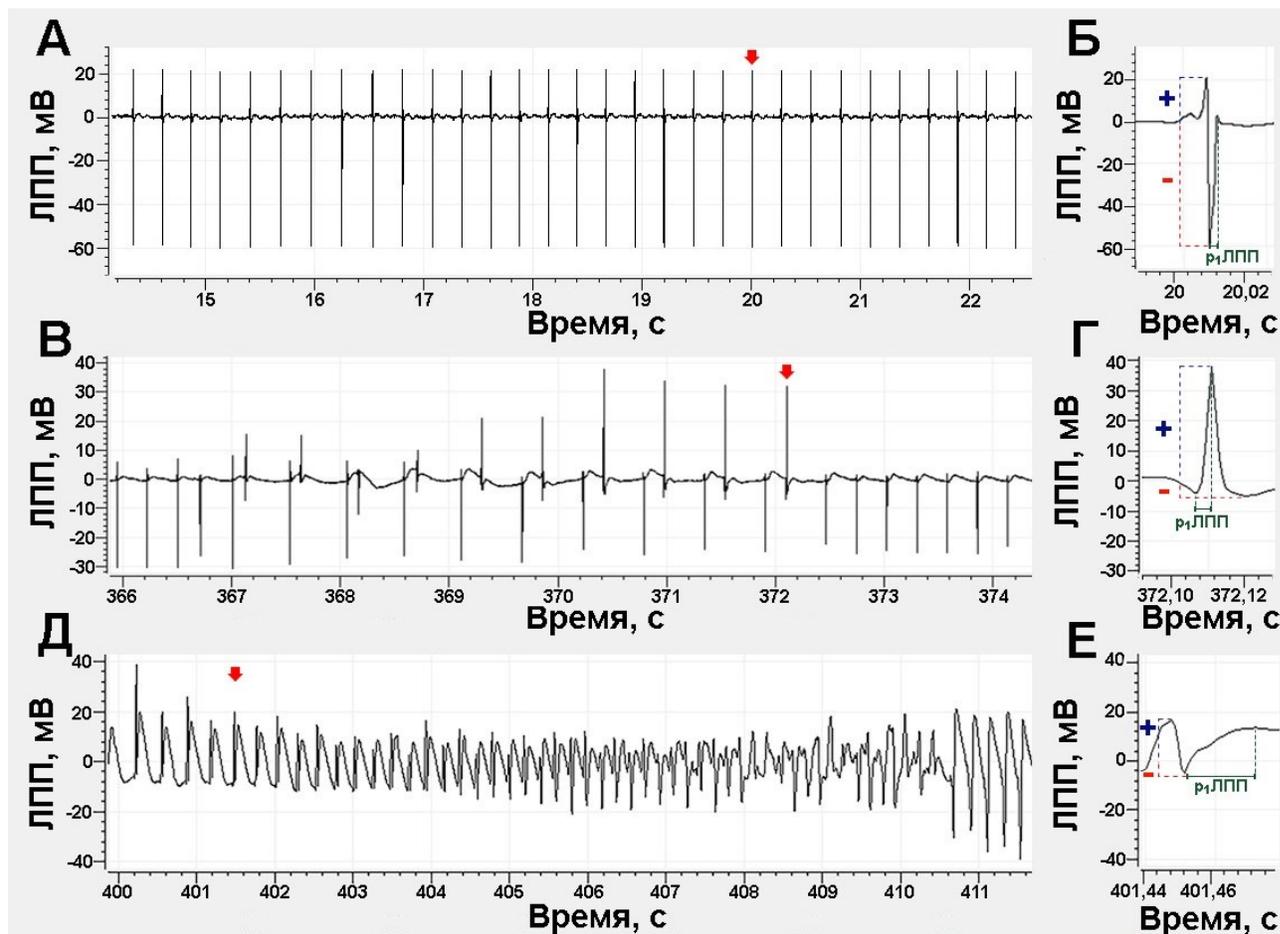
Показатели ритма сокращений сердца и электрической проводимости миокарда оценивались по моментам активации, обнаруженным на ЛПП в точке максимальной крутизны спада. Но в зависимости от изменений условий эксперимента также изменялись характеристики ЛПП, такие как амплитуда и ориентированность зубца относительно изолинии. Также в пределах периода реполяризации ЛПП можно было выделить начальную фазу, характеристики

которой изменялись на фоне добавления в перфузионный раствор блокатора депо-зависимого кальциевого тока 2-арб.

На рисунке 3.13 представлены электрограммы сердец (рисунок 3.13, А, В, Д, Ж, И, Л) с выбранными на них ЛПП (рисунок 3.13, Б, Г, Е, З, К, М) и представленными при увеличенном разрешении оси X.

На сердца из группы «Контроль» (рисунок 3.13, А, Б) в условиях нормоксии наблюдалось постоянство длительности ИМП и длительности начальной фазы реполяризации, определяемой как временной интервал от минимального пика до следующего за ним первого максимального пика ЛПП, а также постоянство формы ЛПП с выраженной негативной фазой амплитуды

Использование блокатора SOCE при нормоксии вызывало изменение форм ЛПП, зарегистрированных на поверхности левого желудочка МЕА, и увеличение начальной фазы реполяризации.



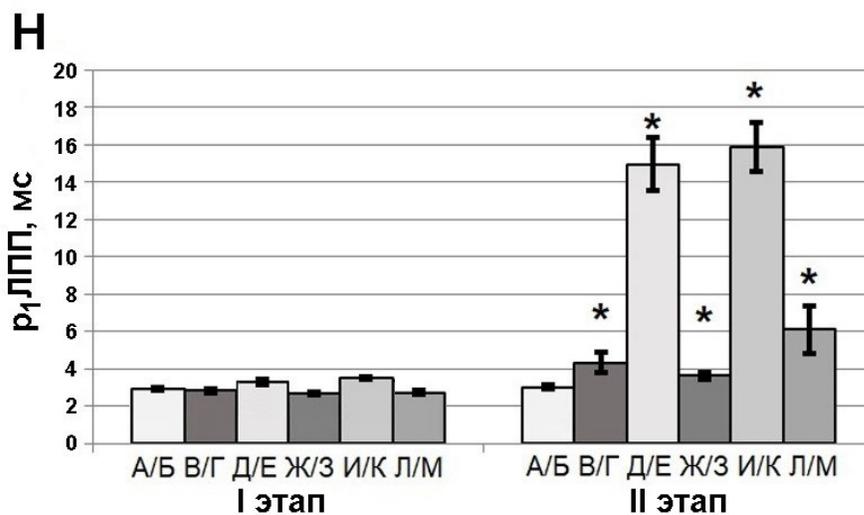
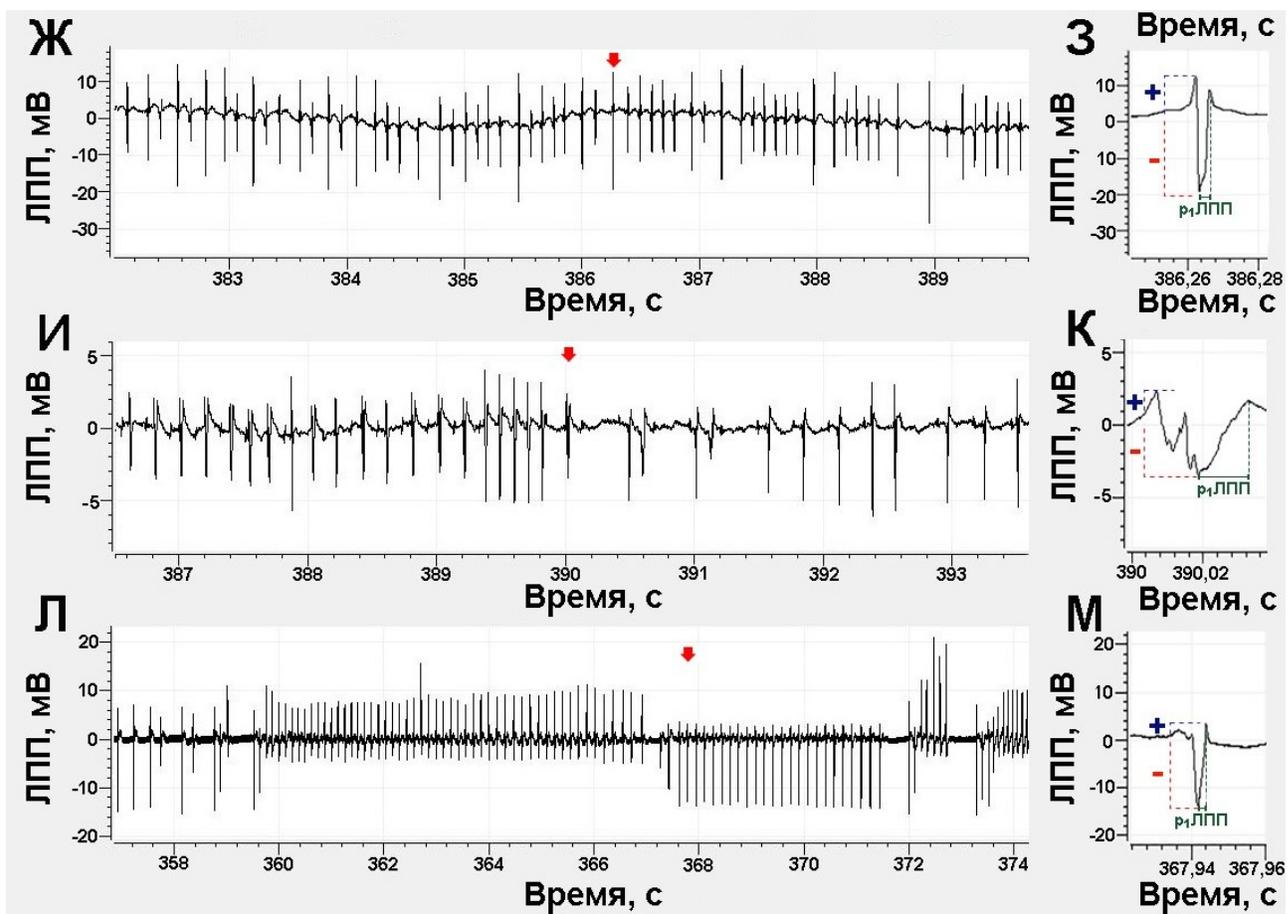


Рисунок 3.13 – Электрограммы, демонстрирующие ритм возникновения и характеристики на II этапе ЛПП изолированных сердец крыс из групп: А – «Контроль» (ось X:1 с); В, Д, Ж, И – «2-арб» (ось X:1 с); Л – «2-арб» (ось X:2 с); Б, Г, Е, З, К, М - указанные на вышеперечисленных электрограммах красной стрелкой ЛПП, представленные в увеличенном разрешении (ось X:0,02 с); Н – график изменений длительности начальной фазы реполяризации для каждой электрограммы на II этапе в периоды, указанные на

электрограммах ( $n=15$  ЛПП) по сравнению с I этапом, то есть в нормальных условиях ( $n=15$  ЛПП);  $p_1$ ЛПП – длительность начальной фазы реполяризации ЛПП, плюсом и минусом обозначены позитивная и негативная фазы амплитуды ЛПП соответственно; \* - наличие статистически значимых различий по W-критерию Вилкоксона ( $p<0,05$ )

На одной из электрограмм (рисунок 3.13, В, Г), зарегистрированных с поверхности изолированных сердец из группы «2-арб», кроме нарушений ритма возникновения ЛПП, наблюдается инверсия ЛПП - значительное увеличение положительной фазы амплитуды ЛПП. Инвертированные ЛПП чередуются с отрицательно направленными ЛПП. Описанные изменения в данном сердце появлялись за 207 секунд до начала желудочковой фибрилляции.

На электрограмме другого сердца из группы «2-арб» (рисунок 3.13, Д) видны нарушения ритма возникновения ЛПП, а также уменьшение амплитуды ЛПП (рисунок 3.13, Е) с деформацией их формы к моменту начала фибрилляции на 407 секунде.

За 158 секунд до начала фибрилляции сердца из группы «2-арб» на зарегистрированной с его поверхности электрограмме (рисунок 3.13, Ж) наблюдались нарушения ритма возникновения и чередования значений амплитуды последовательных ЛПП, форма которых при этом могла не претерпевать значительных изменений (рисунок 3.13, З), но длительность начальной фазы реполяризации увеличивалась по сравнению с ЛПП сердца из группы «Контроль» (рисунок 3.13, Б).

На электрограмме (рисунок 3.13, И) сердца из группы «2-арб» можно было наблюдать появление за 73 секунды до фибрилляции желудочков нарушений ритма в виде парных ЛПП, форма которых при этом претерпевала существенные изменения с появлением дополнительных зубцов (рисунок 3.13, К), отсутствующих в норме (рисунок 3.13, Б).

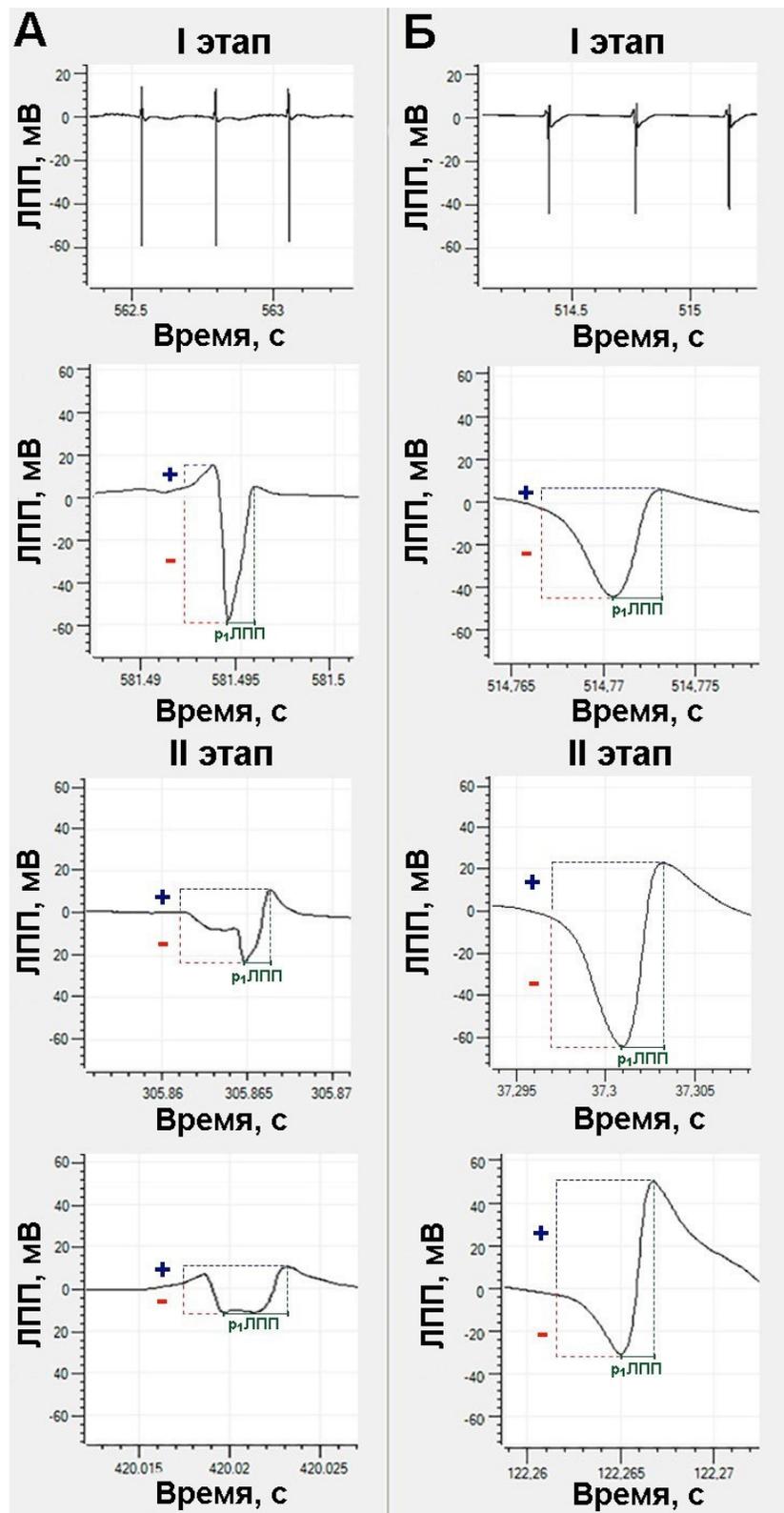
На электрограмме сердца из группы «2-арб» (рисунок 3.13, Л) фибрилляции желудочков за 89 секунд до ее начала предшествуют эпизоды инверсии ЛПП при увеличении длительности начальной фазы реполяризации, но сохранении формы (рисунок 3.13, М) близкой к форме ЛПП, зарегистрированных в нормальных условиях перфузии (рисунок 3.13, Б).

Было проведено сравнение влияния на длительность начальной фазы реполяризации блокатора потенциал-независимых кальциевых каналов 2-арб и блокатора потенциал-зависимых каналов верапамила (рисунок 3.14).

Тогда как длительность начальной фазы реполяризации ЛПП, к началу фибрилляции желудочков существенно увеличивалась (рис. 3.14, А), воздействие на сердце верапамила ( $C=7$  мкМоль) вызывало ускорение начальной фазы реполяризации, о чем свидетельствовало сокращение длительности от минимума ЛПП до первого следующего за ним максимума ЛПП.

В первичной культуре кардиомиоцитов крысы использование блокатора 2-арб, как и в сердце, вызывало увеличение длительности начальной фазы реполяризации ЛПП (рисунок 3.15).

**Таким образом,** на регистрируемых с помощью МЕА с поверхности эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы ЛПП можно было наблюдать увеличение длительности начальной фазы реполяризации при блокировании депо-зависимого кальциевого тока. Такой же эффект был показан на первичных культурах кардиомиоцитов. Блокирование потенциал-зависимого кальциевого тока верапамилем вызывало ускорение начальной фазы реполяризации.



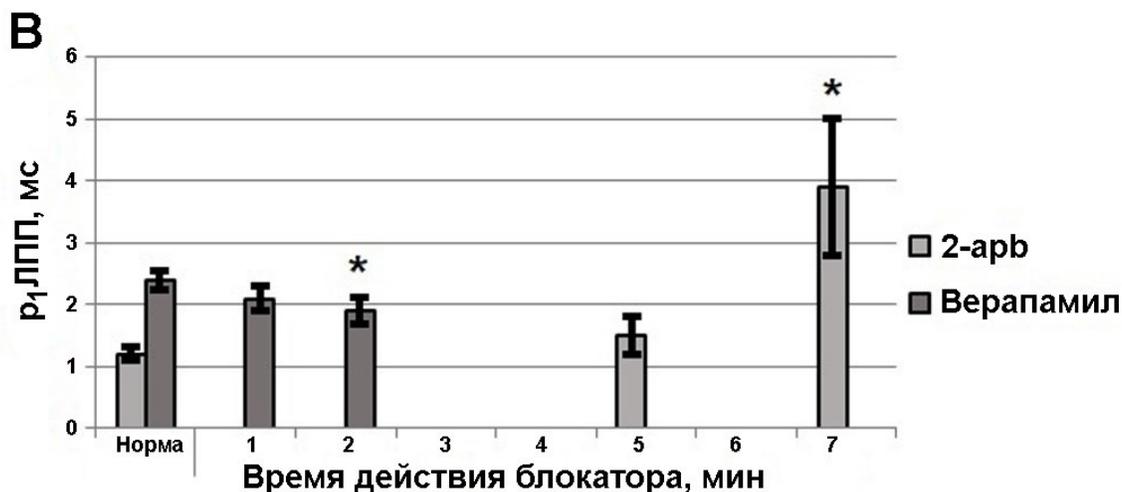


Рисунок 3.14 - Изменение ЛПП миокарда во времени по сравнению с нормой в двух сердцах под воздействием: А - 2-арб; Б – верапамила; В - изменение длительности начальной фазы реполяризации ЛПП миокарда двух сердец во времени по сравнению с нормой (n=15 ЛПП) под воздействием 2-арб (n=15 ЛПП) и верапамила (n=15 ЛПП); плюсом и минусом обозначены позитивная и негативная фазы амплитуды ЛПП соответственно;  $r_1$ ЛПП – длительность начальной фазы реполяризации ЛПП, \* - наличие статистически значимых различий ( $p < 0,05$ ) по критерию Фридмана

### 3.2.5 Обсуждение полученных результатов

Зарегистрированные с помощью МЭА характеристики биоэлектрической активности миокарда позволили предположить, что депо-зависимый кальциевый ток участвует в формировании ритма сердечных сокращений, так как блокада депо-управляемых  $Ca^{2+}$ -каналов вызывала обратимое уменьшение длительности интервала между сердечными циклами в условиях нормоксии. Снижение продолжительности ИМП и повышение  $CV_{ИМП}$ , вызванные подавлением SOCE, могут быть обусловлены влиянием 2-арб на ионные токи, участвующие в регуляции ритма сердечных сокращений.

Функциональная активность СПР имеет особое значение в пейсмекерных кардиомиоцитах из-за участия данной структуры в механизме

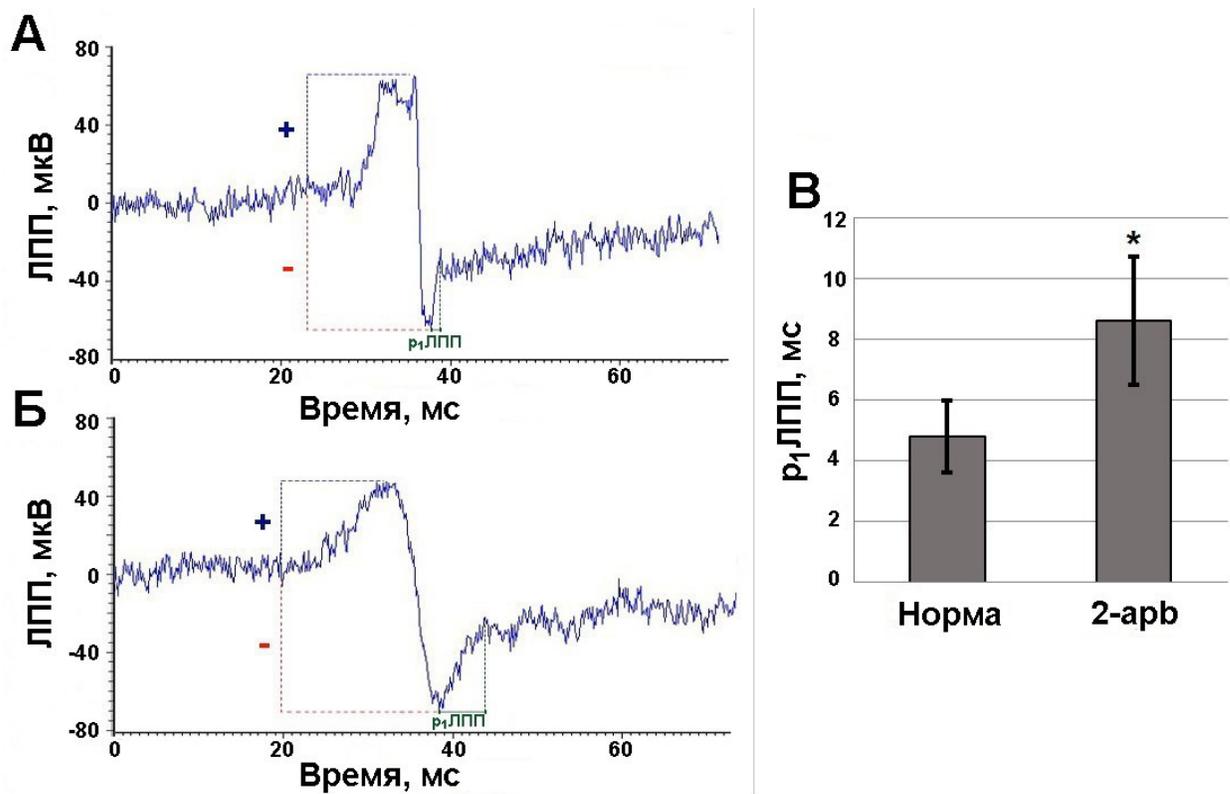


Рисунок 3.15 - Изменение ЛПП, зарегистрированных с помощью МЭА в культуре кардиомиоцитов крысы: А – в нормальных условиях; Б – при воздействии 2-арб; В – сравнение значений длительности ЛПП до (n=15 ЛПП) и после (n=15 ЛПП) воздействия 2-арб;  $r_1$ ЛПП – длительность начальной фазы реполяризации ЛПП; плюсом и минусом обозначены позитивная и негативная фазы амплитуды ЛПП соответственно, \* - наличие статистически значимых различий по W-критерию Вилкоксона ( $p < 0,05$ )

«кальциевых часов» (Yang et al., 2021). Выброс ионов кальция из СПР вызывает изменения клеточных концентраций, которые приводят в действие  $Na^+/Ca^{2+}$ -обменник, запуская входящий натриевый ток, вызывая тем самым диастолическую деполяризацию и возникновение потенциала действия. В связи с этим, роль SOCE, участвующего в восполнении запаса кальция в депо СПР, должна иметь существенное значение в регуляции ритма сердечных сокращений, что подтверждают научные исследования других авторов (Cacheux et al., 2019; Rosenberg et al., 2021).

Также депо-зависимый кальциевый ток влияет на проведение волны возбуждения в миокарде, так как подавление SOCE провоцировало замедление ее распространения. Молекулярные сигнальные механизмы, связанные с изменениями кальциевой концентрации, влияют на межклеточные взаимодействия в тканях и, соответственно, на скорость передачи электрических сигналов (Peracchia, 2020). По этой причине блокировка SOCE могла вызвать наблюдаемое в представленной работе увеличение ЛЭС. В исследованиях Bonilla I.M. с соавторами на кардиомиоцитах мыши была показана преимущественная локализация SOCE в интеркалярных дисках, что подтверждает значимость SOCE для проведения возбуждения в тканях (Bonilla et al., 2019).

При достаточно сильном укорочении ИМП в сочетании с замедлением электрического проведения в миокарде и увеличением ДР, возникала фибрилляция желудочков, предположительно, в результате формирования *re-entry* (Kharkovskaya, Osipov, Mukhina, 2020). Вызванное подавлением SOCE снижение скорости проведения возбуждения в сердце при учащенной внешней электрической стимуляции также приводило к возникновению фибрилляции по механизму *re-entry* в работах других авторов (Zhang et al., 2020a).

Прекращение фибрилляции желудочков на этапе отмены блокировки SOCE может быть объяснено восстановлением ИМП до нормы, несмотря на сохранение ЛЭС на повышенном уровне. Возможно, состояние пейсмейкерных клеток сердца при возобновлении стандартной перфузии восстанавливалась быстрее после блокировки SOCE, чем желудочковых кардиоцитов, проводящих возбуждение.

Важной характеристикой биоэлектрической активности миокарда является ДР которая возникает по причине функционального и морфологического разнообразия кардиоцитов в зависимости от расположения в сердце. Как и увеличение ЛЭС, наблюдаемое в проведенных исследованиях, увеличение ДР

имеет большое значение для формирования *re-entry* и является предвестником фибрилляции желудочков (Han, Trew, Zgierski-Johnston, 2021; Tse, Yan, 2017). В проведенных исследованиях повышение значения ДР наблюдалось параллельно повышению ЛЭС и также могло быть причиной развития *re-entry*.

Для разных типов клеток было показано, что 2-arb способен ингибировать или блокировать изоформы коннексинов Cx40, Cx43 и Cx45, которые экспрессируются в сердце (Desplantez, 2017; Willebrords et al., 2017). Поэтому также нельзя исключать, что использование 2-arb в проведенном исследовании могло вызывать разобщение щелевых контактов, и это приводило к увеличению значения ЛЭС, ДР и развитию фибрилляции желудочков из-за нарушений проводимости миокарда (Dhein, Salameh, 2021).

В проведенной нами работе фибрилляция желудочков возникала при концентрации 2-arb в растворе 10 мкМоль. Было показано, что в данной концентрации 2-arb блокирует TRPC1 каналы (Kojima et al., 2010), ИФ<sub>3</sub>P (Uhlén et al., 2006; Wacker et al., 2009) и SOCE (Dale et al., 2018). Действие 2-arb при этом заключалось в препятствии повышению внутриклеточной кальциевой концентрации, возникающей в ответ на тот или иной вид биохимического воздействия в клетках миокарда (Wacker et al., 2009; Kojima et al., 2010), гладкой мускулатуры сосудов (Dale et al., 2018) и фибробластах (Uhlén et al., 2006).

Фибрилляция изолированного сердца крысы при использовании блокатора 2-arb в концентрации 22 мкМоль наблюдалась в исследованиях Wang P. с соавторами (Wang et al., 2012). В более ранних работах данной научной группой было показано, что под воздействием 2-arb возникают эктопическая активность, тахикардия и фибрилляция в изолированных предсердиях и препаратах желудочковых папиллярных мышц (Wolkowicz et al., 2007; Wolkowicz et al., 2011).

Несмотря на то, что методом MEA регистрации ЛПП нельзя установить, за счет каких ионных токов могла возрастать продолжительность начальной

фазы реполяризации ЛПП, очевидно, что данное явление связано с существенным изменением электрического состояния миокарда, обусловленным перераспределением концентраций ионов в клетках сердца.

Верапамил является блокатором  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа, для которого ранее показана способность сокращать длительность реполяризации ЛПП (Asahi et al., 2018). Следовательно, обнаруженное нами с помощью метода MEA увеличение длительности начальной фазы реполяризации кардиомиоцитов при действии блокатора SOCE каналов при прохождении волны возбуждения, является реальным феноменом.

В экспериментах *in vitro* также наблюдался эффект увеличения длительности начальной фазы ЛПП при блокаде SOCE каналов, что подтверждает гипотезу об адекватной оценке характеристик проводимости миокарда с помощью MEA.

Таким образом, используемый в данной работе метод мультиэлектродного эпикардального картирования позволяет адекватно наблюдать изменения формы ЛПП на поверхности желудочка изолированного сердца крысы, в том числе, связанного с воздействием на ионные токи блокаторами ионных каналов.

### **3.3 Изучение с помощью MEA роли депо-управляемого кальциевого тока в регуляции электрической активности изолированного перфузируемого сердца крысы при гипоксии/реоксигенации**

Биохимический анализ миокарда изолированных крысиных сердец показал увеличение соотношения лактат/пируват в перфузированных при гипоксии сердцах в 1,7 раза по сравнению с сердцами, которые подвергались перфузии в стандартных условиях, с барботированием рКХ карбогеном. Данный результат свидетельствует об увеличенной интенсивности гликолиза в тканях сердца, характерной для условий гипоксии (Tkachenko et al., 2021).

### 3.3.1 Ритм сокращений изолированного перфузируемого сердца крысы

«Гипоксия/реоксигенация». Тогда как в норме изменений ИМП не наблюдалось (рисунок 3.16, А), то через 100-200 секунд перфузии сердца в условиях гипоксии продолжительность ИМП снижалась до 75,5%, а к

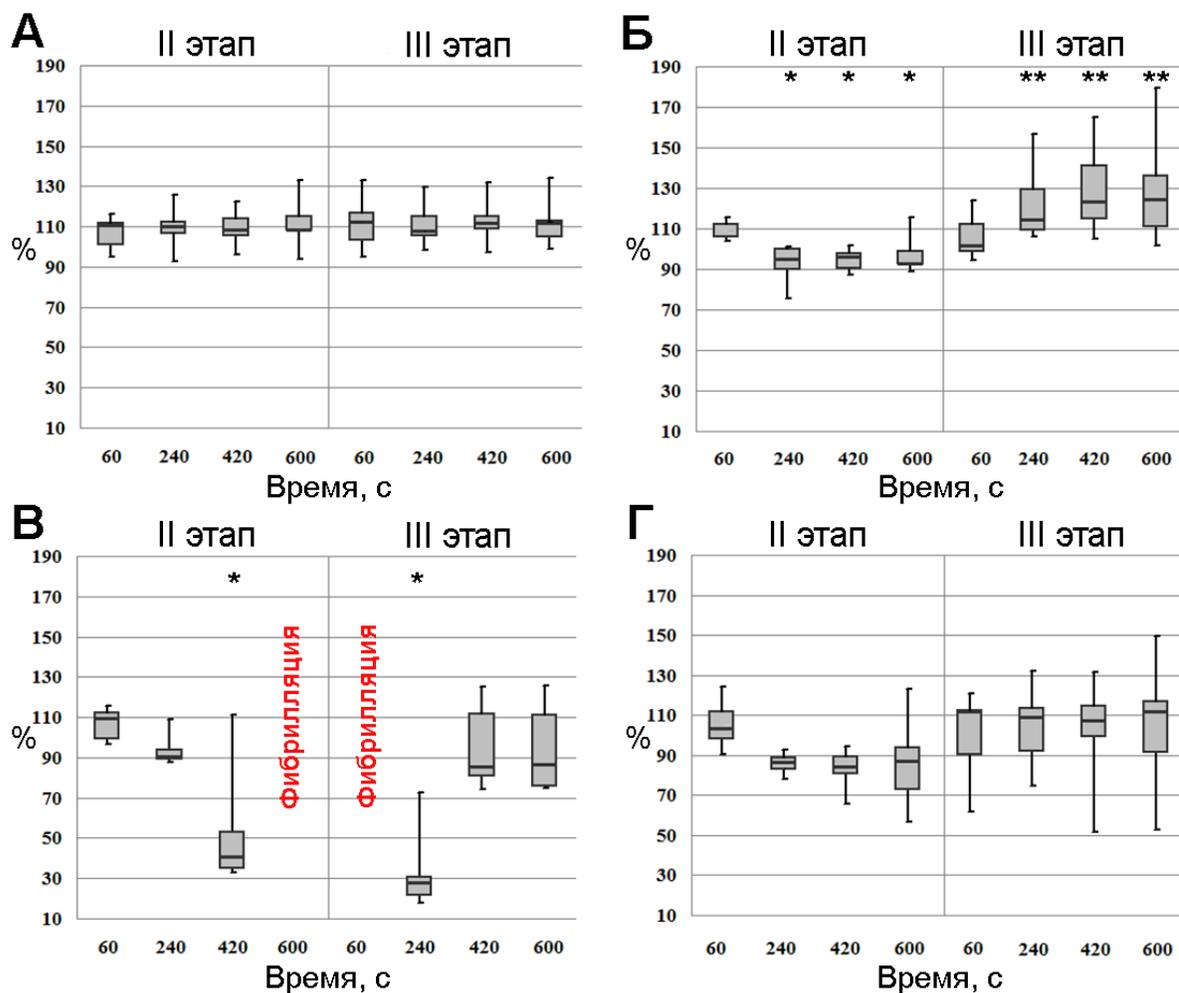
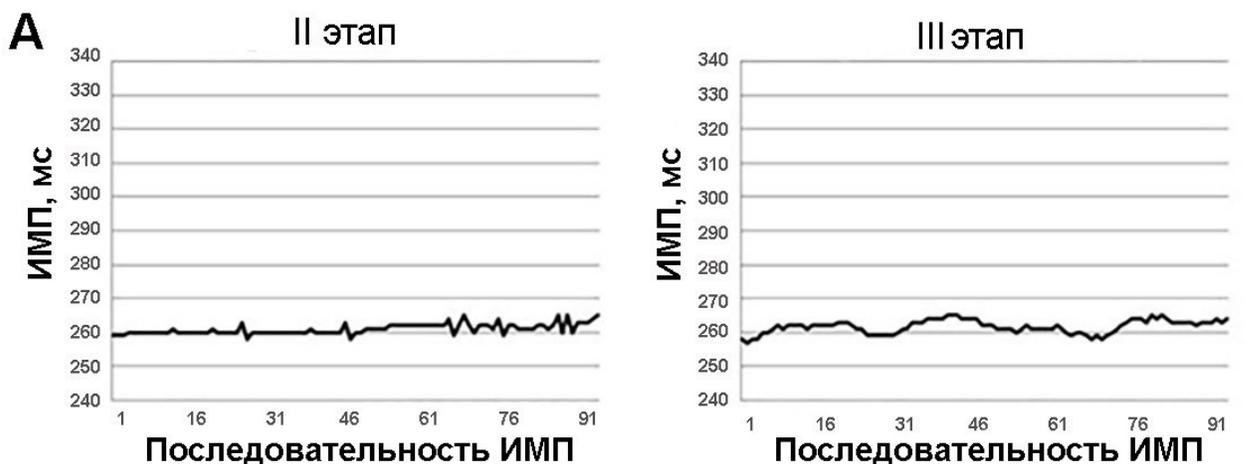


Рисунок 3.16 - Изменение длительности ИМП (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б - «Гипоксия/реоксигенация»; В - «2-арб»; Г – «2-арб+гипоксия/реоксигенация»; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \*, \*\* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

концу этапа реоксигенации увеличивалась максимум до 179,6% от нормы (рисунок 3.16, Б). По сравнению с нормой (рисунок 3.16, А) условия гипоксии/реоксигенации вызвали существенные нарушение ритма (рисунок 3.16, Б). В 10% случаев значение показателя  $CV_{ИМП}$  достигало 5,8% на этапе гипоксии и 12,7% на этапе реоксигенации.

«2-арб+гипоксия/реоксигенация». Подавление SOCE вызывало фибрилляцию желудочков при нормоксии (рисунок 3.16, В), но не при гипоксии. В данной группе статистически значимых изменений продолжительности ИМП на обоих этапах эксперимента не наблюдалось ( $p>0,05$ ) (рисунок 3.16, Г). Для 10% сердец значения ИМП опускались до 56,8% от нормы на десятой минуте первого этапа, и варьировали в пределах 53%-150% от нормы в течение второго этапа.

По сравнению с условиями стандартной перфузии (рисунок 3.17, А) при гипоксии/реоксигенации ритм сердечных сокращений отличался высокой нестабильностью (рисунок 3.17, Б), как и при блокировке SOCE (рисунок 3.13, В). При сочетанном воздействии вышеуказанных условий ритм сердечных сокращений был нерегулярным, совмещая в себе признаки нарушений, наблюдаемых в группах «Гипоксия/реоксигенация» и «2-арб» (рисунок 3.17, Б, В, Г). На первом этапе  $CV_{ИМП}$  10% сердец достигал 18,3%, а к концу второго этапа перфузии 8,6%.



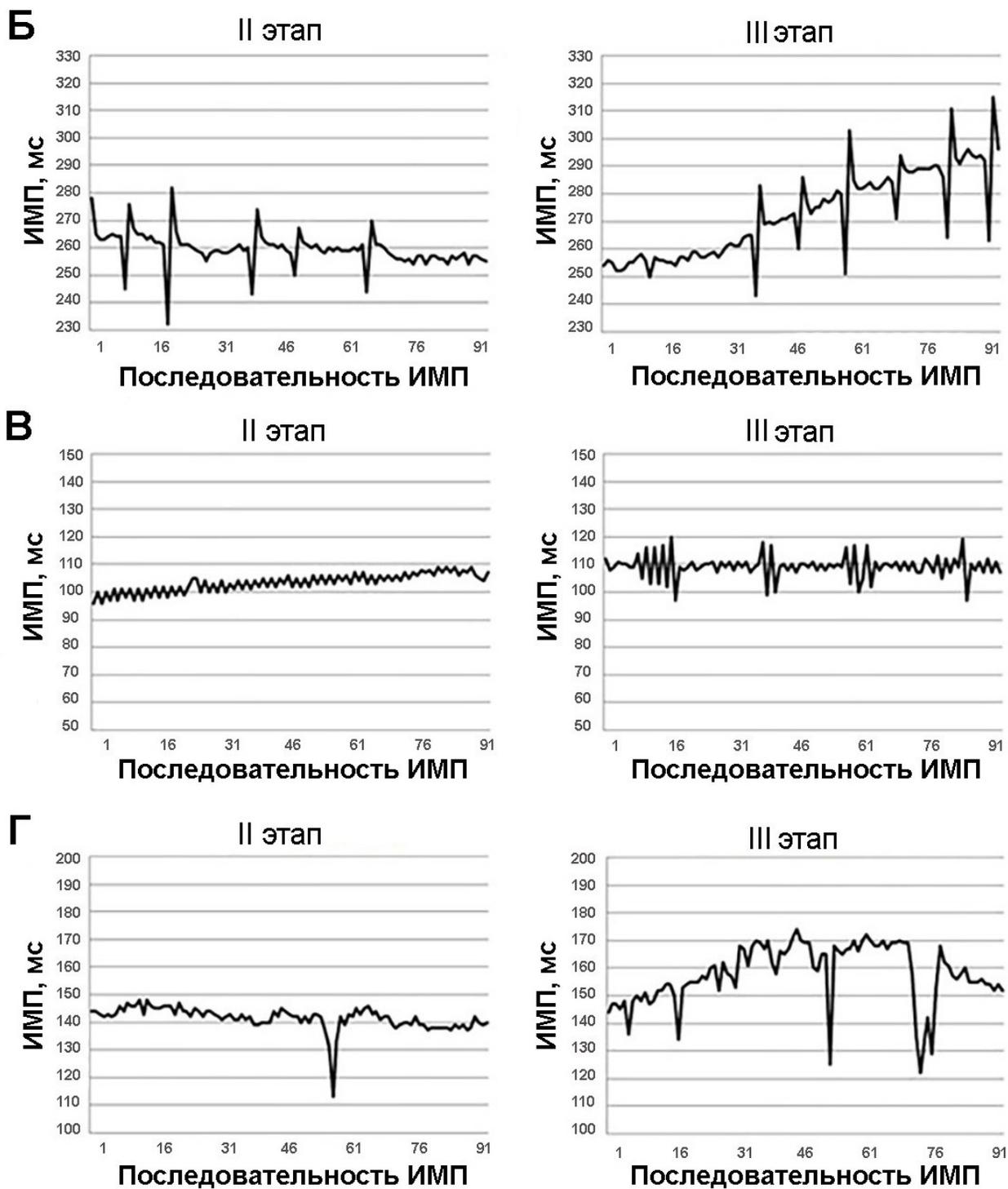


Рисунок 3.17 - Интервалограммы, которые показывают значения временной продолжительности (ось Y) последовательных ИМП (ось X) на седьмой минуте второго этапа и третьей минуте третьего этапа эксперимента в отдельно взятых сердцах из экспериментальных групп: А – «Контроль»; Б - «Гипоксия/реоксигенация»; В - «2-арб»; Г – «2-арб+гипоксия/реоксигенация»

**Таким образом,** было показано, что условия гипоксии и в большей степени реоксигенации вызывают существенные изменения ритма сокращений изолированного перфузируемого сердца крысы, при гипоксии не развивается фибрилляция желудочков в результате блокирования SOCE, а в условиях сочетания реоксигенации и присутствия 2-арб стабильность ритма выше, чем при воспроизведении данных условий по отдельности.

### **3.3.2 Латентность электрических сигналов, зарегистрированных с поверхности эпикарда**

«Гипоксия/реоксигенация». Так же, как и в условиях стандартной перфузии (рисунок 3.18, А), при гипоксии значение ЛЭС оставалось на постоянном уровне. Но к концу этапа реоксигенации значение данного показателя увеличивалось до двух раз по сравнению с начальными значениями ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.18, Б).

«2-арб+гипоксия/реоксигенация». В отличие от группы «2-арб» (рисунок 3.18, В) фибрилляция желудочков не возникала при подавлении SOCE на фоне гипоксии, но в группе наблюдалось статистически значимое увеличение значения ЛЭС ( $p < 0,05$ ), максимум до 310,5% в 10% сердец (рисунок 3.18, Г). При гипоксии повышение ЛЭС в результате блокировки SOCE происходило позже, чем при нормоксии. И на втором этапе при возобновлении стандартных условий перфузии снижалось в некоторых сердцах из группы. В связи с чем статистически значимого повышения ЛЭС, как в группе SOCE, не наблюдалось (рисунок 3.18, В, Г).

На рисунке 3.19 показано, что периодов выраженного сокращения длительности ИМП в группе «2-арб+гипоксия/реоксигенация» не было обнаружено (рисунок 3.19, А). Возможно, по этой причине фибрилляция желудочков не возникала из-за отсутствия необходимых условий – совпадения

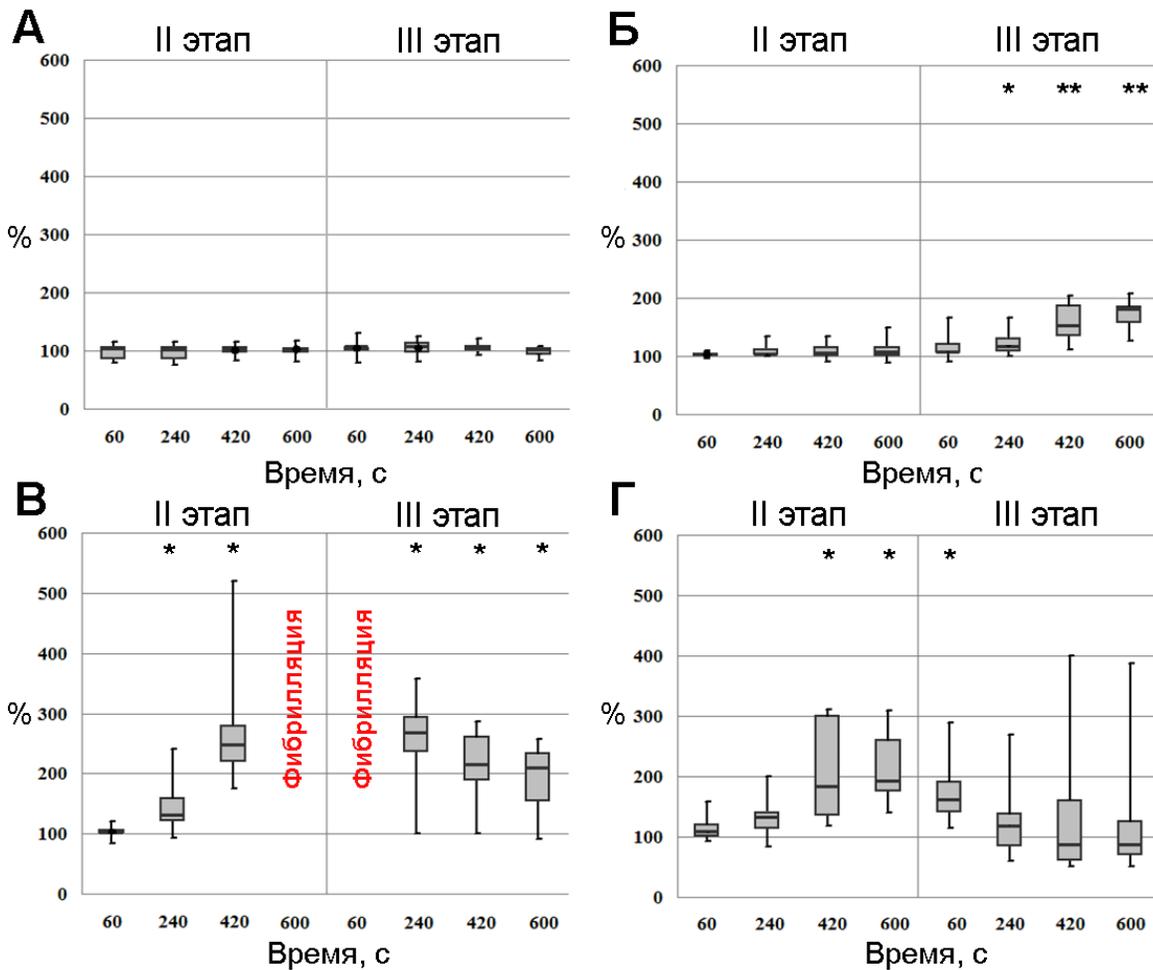


Рисунок 3.18 - Изменение значения ЛЭС (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б - «Гипоксия/реоксигенация»; В - «2-арб»; Г – «2-арб+гипоксия/реоксигенация»; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \*, \*\* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

во времени эпизодов сокращения длительностей ИМП и повышения значения ЛЭС, которое также не достигало таких высоких значений, как в группе «2-арб» (рисунок 3.19, Б).

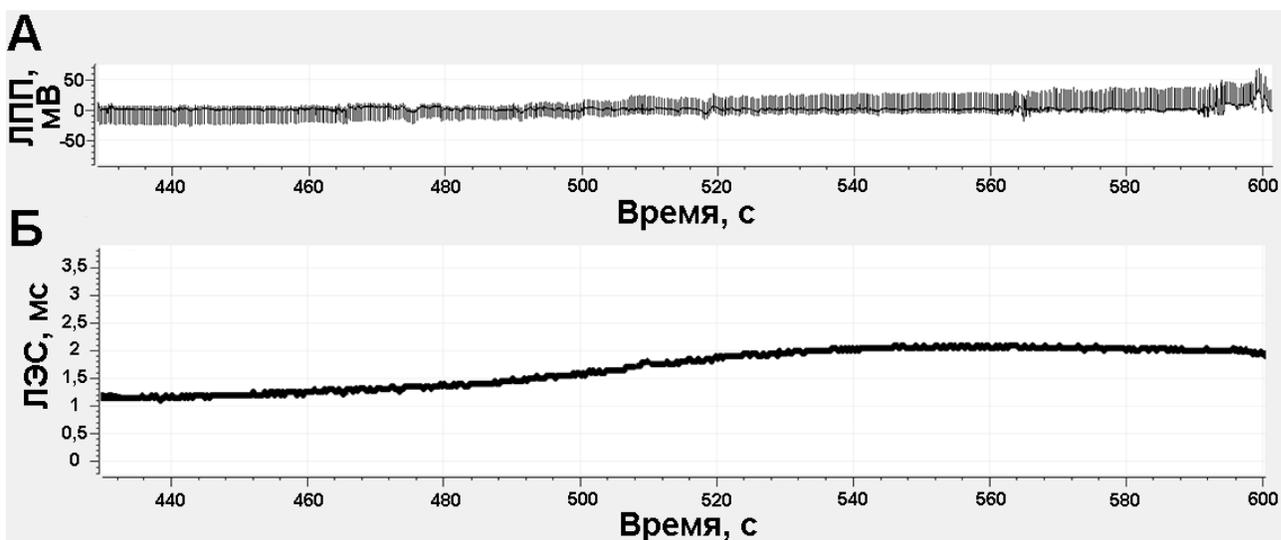


Рисунок 3.19 - Сопоставление во времени изменений частотных и пространственно-временных характеристик электрической активности сердца, возникающих в сердцах при блокировке SOCE в условиях гипоксии: А – изменение значения ЛПП (ось Y) от времени (ось X); Б – график зависимости значения ЛЭС (ось Y) от времени (ось X)

**Таким образом,** было показано, что условия гипоксии не оказывали существенного влияния на проведение возбуждения в миокарде в течение десяти минут, но последующая реоксигенация увеличивала значение ЛЭС. В отсутствие тахикардии фибрилляция желудочков при блокировании SOCE не развивалась, несмотря на существенное снижение биоэлектрической проводимости миокарда.

### 3.3.3 Дисперсия реполяризации миокарда

«Гипоксия/реоксигенация». В отличие от стабильного значения ДР в нормальных условиях перфузии (рисунок 3.20, А), на этапе реоксигенации оно повышалось до 292,8% от нормы ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.20, Б).

«2-арб+гипоксия/реоксигенация». Несмотря на то, что фибрилляция желудочков в условиях гипоксии/реоксигенации при подавлении SOCE не

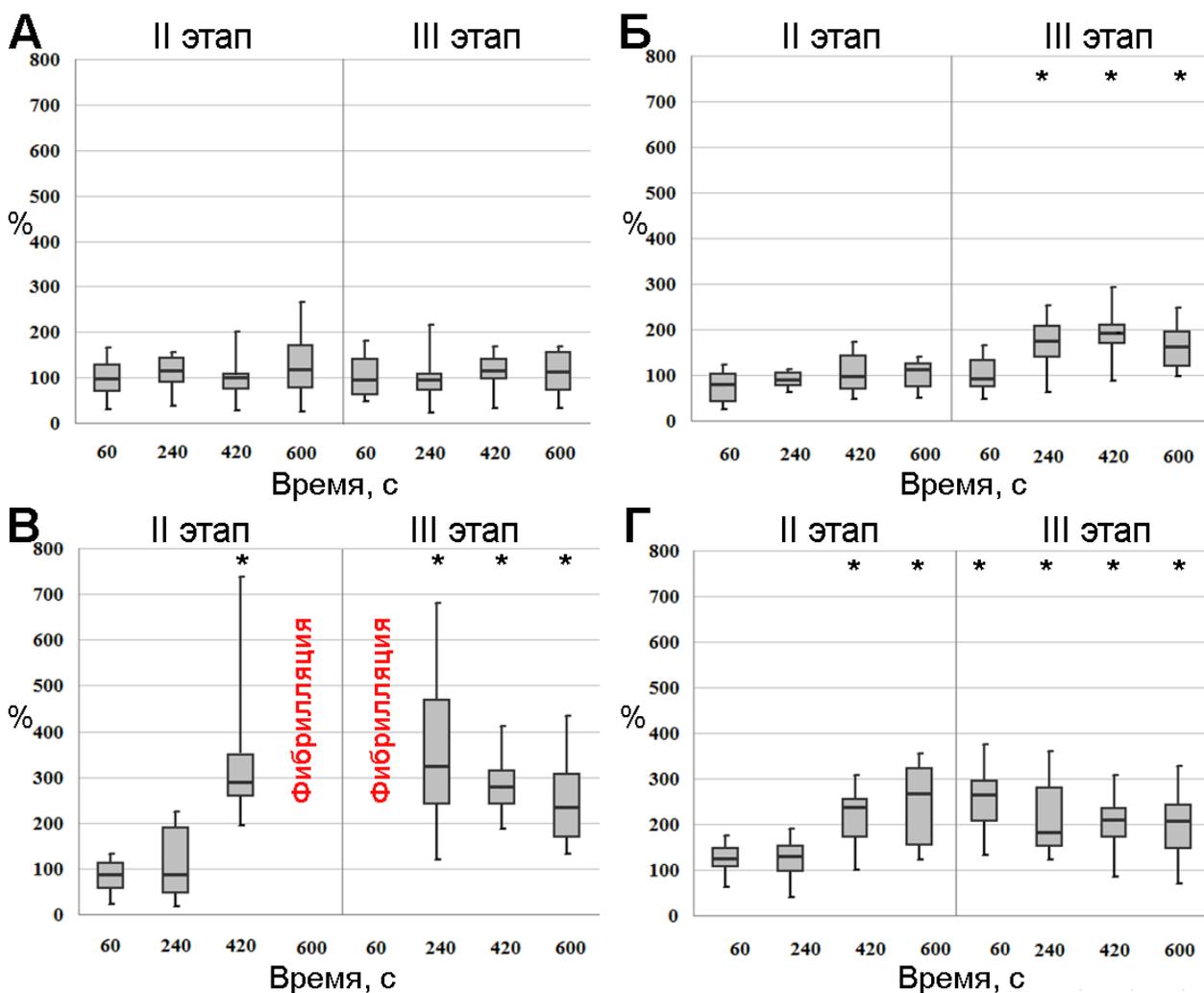


Рисунок 3.20 - Изменение значения ДР (ось Y) относительно времени (ось X) по сравнению со значением данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б - «Гипоксия/реоксигенация»; В - «2-арб»; Г – «2-арб+гипоксия/реоксигенация»; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

возникла, как это наблюдалось при нормоксии (рисунок 3.20, В), значение ДР повышалось до 353,9% от нормы в 10% сердец ( $p < 0,05$ ) на первом этапе и оставалось повышенным на втором этапе эксперимента (рисунок 3.20, Г).

**Таким образом,** гипоксия не вызывала изменений ДР в сердцах, тогда как при реоксигенации значение данного показателя существенно увеличивалось. Сочетанное воздействие гипоксии и блокировки SOCE вызывало менее выраженное увеличение ДР, что могло быть причиной отсутствия сердечной фибрилляции.

### **3.3.4 Влияние блокирования депо-зависимых кальциевых каналов при гипоксии на изменение характеристик ЛПП**

Сокращение длительности реполяризации ЛПП, которое наблюдалось при перфузии сердец раствором с содержанием 2-арb (рисунок 3.21, А) в связи с сокращением ИМП, не было показано для сердец, перфузируемых в условиях гипоксии (рисунок 3.21, Б). Также не наблюдалось статистически значимых изменений длительности реполяризации ЛПП при сочетании данных условий перфузии (рисунок 3.21, В, Г). При этом условия гипоксии способствовали сокращению начальной фазы реполяризации ЛПП (рисунок 3.21, Б), а также предотвращали увеличение данной фазы (рисунок 3.21, В), наблюдаемое при блокировании SOCE в условиях нормоксии (рисунок 3.21, А, Д). На панели Е рисунка 3.21 представлен график ЛПП сердца из группы «2-арb+гипоксия/реоксигенация» в увеличенном масштабе для демонстрации пика, соответствующего окончанию фазы реполяризации.

**Таким образом,** сокращение длительности начальной фазы реполяризации ЛПП, наблюдаемое при гипоксии в изолированном перфузируемом сердце крысы, могло препятствовать увеличению данной фазы, характерном для перфузии с добавлением 2-арb, предотвращая таким образом развитие фибрилляции желудочков.

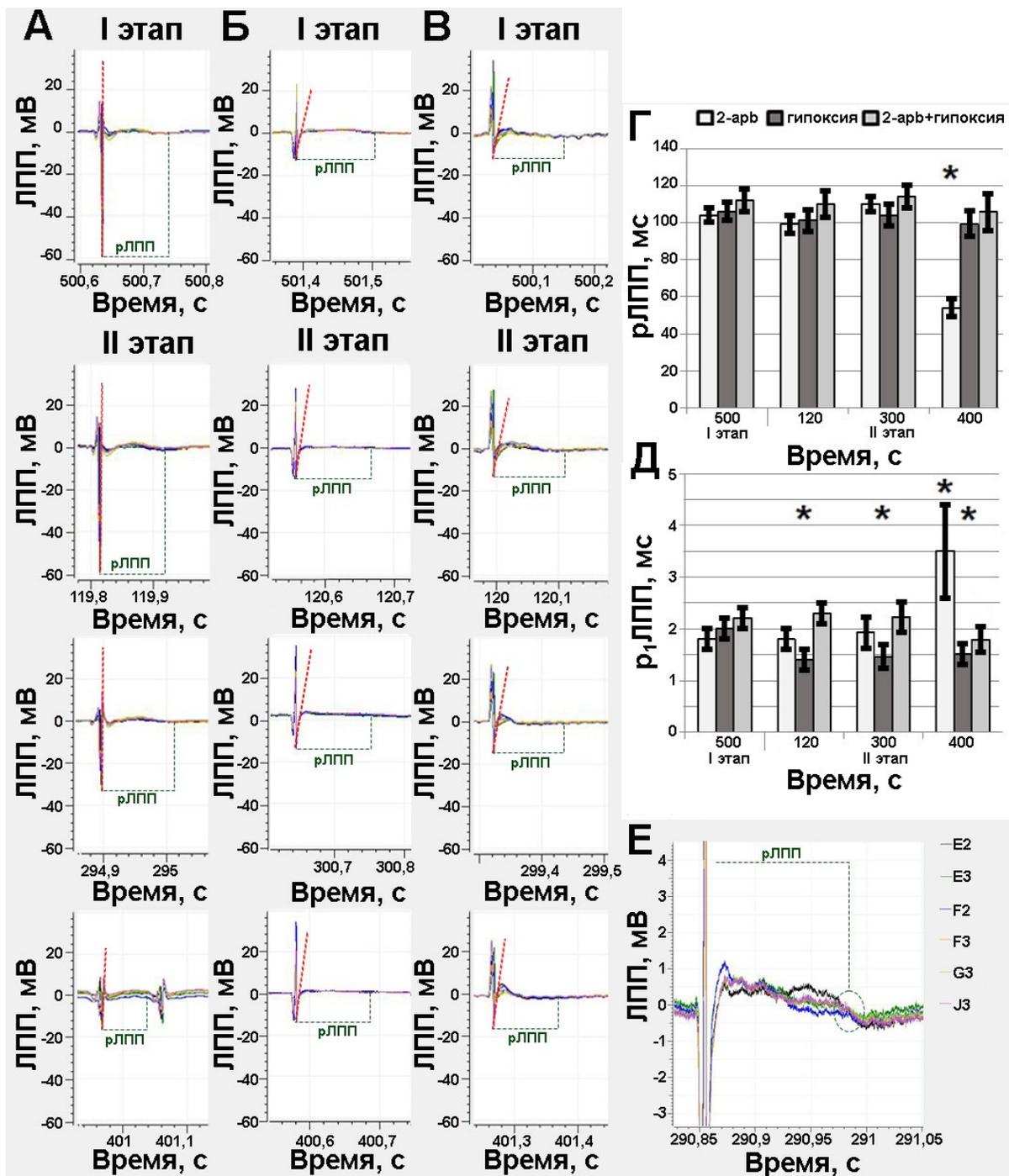


Рисунок 3.21 - Изменение ЛПП миокарда во времени на II этапе по сравнению с нормой (I этап) в трех сердцах в условиях воздействия: А – 2-арб; Б – гипоксии; В - 2-арб на фоне гипоксии; Г - изменение длительности реполяризации, рЛПП, и Д - начальной фазы реполяризации ЛПП, р<sub>1</sub>ЛПП, миокарда данных сердец во времени (n=15 ЛПП); Е – пик окончания реполяризации на графике в увеличенном масштабе; наклон красной пунктирной линии показывает изменение длительности р<sub>1</sub>ЛПП; \* - наличие статистически значимых различий (p<0,05) по критерию Фридмана

### 3.3.5 Обсуждение полученных результатов

Существует ряд возможных причин нарушения ритма сердечных сокращений при гипоксии и реоксигенации. К ним относятся нарушения энергетического метаболизма клеток и работы ионных каналов (Souza et al., 2019; Salameh et al., 2020), повреждение молекулярных структур действием АФК (Pascalet et al., 2020) и др. Возможно, существенное увеличение ИМП и нестабильности ритма при реоксигенации по сравнению с этапом гипоксии связано с избыточным образованием АФК, повреждающими миокард. Тогда как изменение ритмической активности сердца на первом этапе при гипоксии могли быть связаны с аритмогенными изменениями ионной проницаемости мембран пейсмейкерных клеток синоатриального узла и проводящей системы сердца (Zhang et al., 2020b; Yoo, Kim, 2021).

Добавление неспецифического блокатора SOCE 2-арб в перфузионный раствор не вызывало фибрилляцию желудочков при гипоксии. Данное явление могло быть объяснено тем, что в условиях гипоксии для потенциала действия кардиомиоцитов характерно сокращение длительности (Macdonald, Hool, 2008). В проведенном исследовании не наблюдалось сокращения длительности ЛПП при гипоксии, но было показано сокращение начальной фазы реполяризации. Возможно, данное явление предотвращало изменения формы ЛПП и развитие фибрилляции желудочков, наблюдаемые при перфузии сердца раствором, содержащим 2-арб.

Было показано, что фармакологическое подавление SOCE предотвращает возникновение кальциевой перегрузки при гипоксии/реоксигенации (Avila-Medina et al., 2018). Если блокировка депо-зависимого кальциевого тока приводит к снижению внутриклеточной кальциевой концентрации (Bakowski, Murray, Parekh, 2021; Morihara et al., 2017; Guo et al., 2020), которая увеличивается при гипоксии (Salameh et al., 2020), то, возможно, такое

взаимоисключающее взаимодействие 2-arb и эффекта гипоксии препятствовало развитию фибрилляции с одной стороны, и наблюдаемых при гипоксии/реоксигенации изменений электрической активности миокарда с другой.

Судя по отсутствию изменений значения ЛЭС, ДР и формы ЛПП кардиомиоцитов левого желудочка, условия гипоксии в меньшей степени влияли на рабочий миокард, чем на пейсмейкерные кардиомиоциты проводящей системы сердца. Увеличение ЛЭС и ДР при реоксигенации могло быть вызвано пагубным действием АФК, которые в данных условиях образуются интенсивнее, чем при гипоксии на щелевые контакты (Kohutova et al., 2019; Liu et al., 2020). Нарушение электрической проводимости при реоксигенации могло быть вызвано нарушением межклеточных связей по причине повышения кальциевой концентрации (Peracchia, 2020).

В результате блокировки SOCE при гипоксии повышение значений ЛЭС и ДР наблюдалось в меньшей степени, чем при нормоксии. В ряде исследований было показано смягчение пагубного воздействия нарушения кислородного режима и избыточной кальциевой концентрации в сердечно-сосудистой системе при подавлении SOCE (Avila-Medina et al., 2018; He et al., 2018).

По некоторым данным 2-arb способен связываться непосредственно с АФК (Moriyama et al., 2017), и, таким образом, концентрация блокатора, поступающего в сердце, могла снижаться и становиться недостаточной для таких выраженных нарушений работы сердца, которые наблюдались в группе «2-arb». И в то же время снижение АФК могло смягчить угнетающее действие реоксигенации на работу сердца, которое мы наблюдали в виде увеличения ЛЭС в группе «Гипоксия/реоксигенация». Также было показано, что коннексины при гипоксии дефосфорилируются (Htet et al., 2018). Это могло нарушать их связывание с 2-arb, вызывающее разобщение щелевых контактов, предотвращая тем самым снижение электрической проводимости миокарда.

**Таким образом,** с помощью МЕА было продемонстрировано, что фибрилляция желудочков, вызванная блокировкой SOCE при нормоксии, не развивалась при гипоксии (Kharkovskaya, Osipov, Mukhina, 2020). Предполагаемой причиной являлось отсутствие эпизодов одновременно возникающих и достаточно интенсивных для запуска фибрилляции снижения ИМП и роста ЛЭС, как это наблюдалось при развитии фибрилляции в результате блокировки SOCE в условиях нормоксии.

### **3.4 Применение МЕА для изучения особенностей хронотропного эффекта, вызванного растяжением правого предсердия, при блокаде деполяризуемого кальциевого тока на фоне нормоксии и гипоксии/реоксигенации**

#### **3.4.1 Ритм сокращений изолированного перфузируемого сердца крысы**

«рПП». Механическое растяжение правого предсердия вызывало нарушения нормального ритма сердечных сокращений: паузы и экстрасистолы, которые были более выраженными в первые четыре минуты после воздействия, и встречались эпизодически в течение всего эксперимента (рисунок 3.22).

В отличие от стандартных условий перфузии (рисунок 3.23, А) через минуту после растяжения правого предсердия наблюдалось статистически значимое сокращение ИМП в группе ( $p < 0,05$ ), до 72,4% от нормы в 10% сердец. С четвертой минуты продолжительность ИМП в группе «рПП» снова возрастала (рисунок 3.23, Б) и с более выраженным, чем при стандартной перфузии (рисунок 3.24, А), разбросом значений статистически значимо не изменялась ( $p > 0,05$ ) до конца эксперимента (рисунок 3.24, Б). На первом этапе  $CV_{ИМП}$  достигал 41,4%, а на втором – 7,8%.

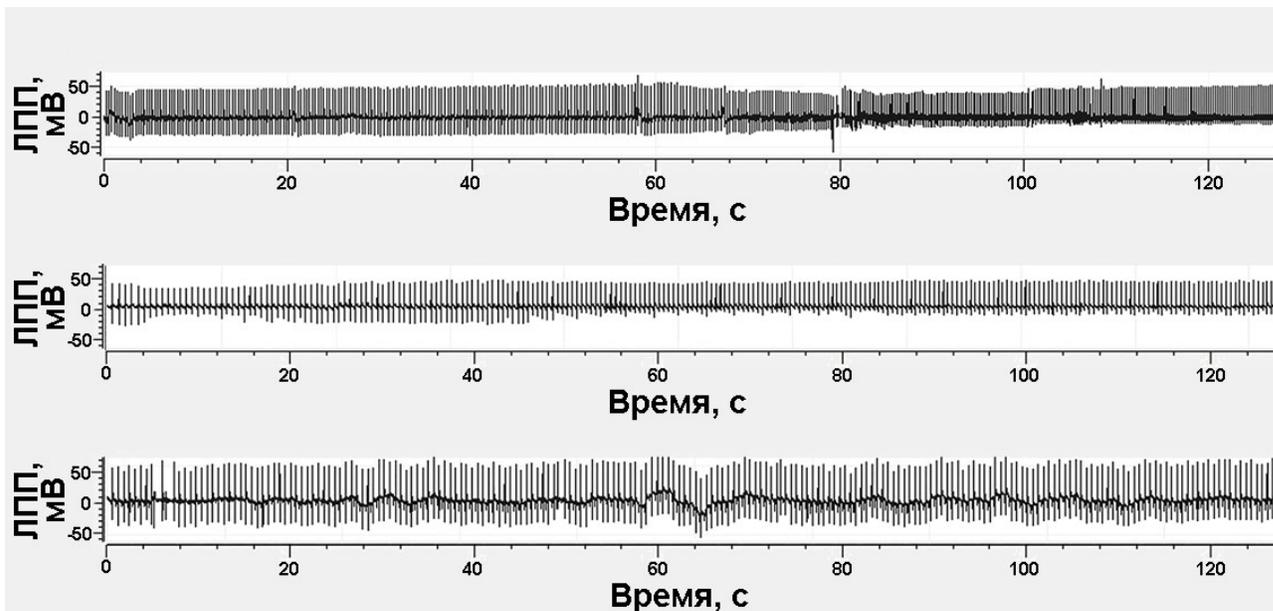


Рисунок 3.22 - Электрограммы, показывающие зависимость значений ЛПП (ось Y) от времени (ось X), зарегистрированные с трех изолированных перфузируемых сердец крыс в условиях механического растяжения правого предсердия

«2-арб+рПП». Статистически значимого снижения ИМП, наблюдаемого в группах «рПП» (рисунок 3.23, Б) и «2-арб» (рисунок 3.22, В) у сердец из данной группы не наблюдалось (рисунок 3.23, Г) в первые пять минут эксперимента ( $p > 0,05$ ). Было показано, что по сравнению с группой «2-арб» (рисунок 3.24, В) при растянутом правом предсердии блокировка SOCE провоцировала фибрилляцию желудочков позже, и даже после отмены 2-арб (рисунок 3.24, Г). Продолжительность ИМП могла снижаться к моменту развития фибрилляции желудочков до 40,7%. Фибрилляция желудочков не прекращалась на этапе отмены блокатора. Значение  $CV_{ИМП}$  в 10% сердец из группы повышалось до 40,2%. В работе сердец из данной группы эпизоды как увеличения, так и уменьшения длительности ИМП возникали непоследовательно на разных временных отрезках в течение эксперимента (рис. 3.25).

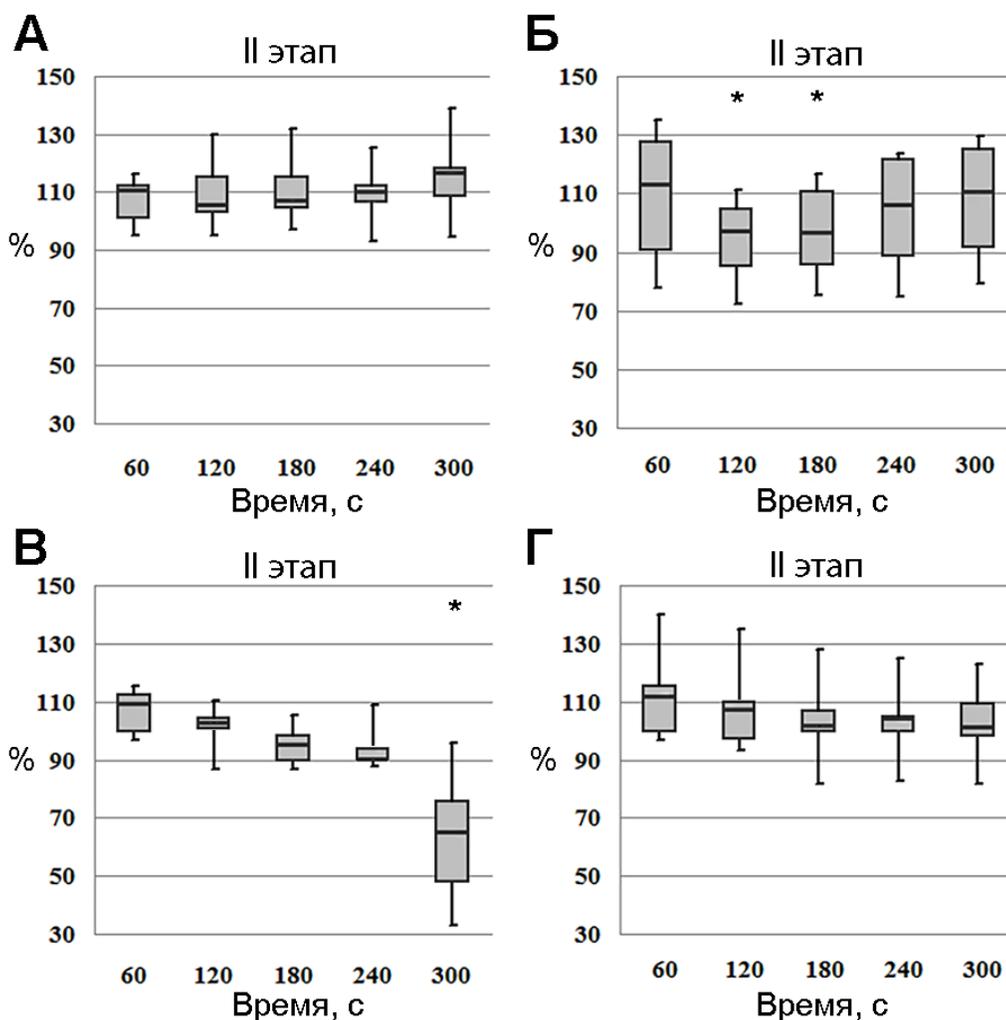
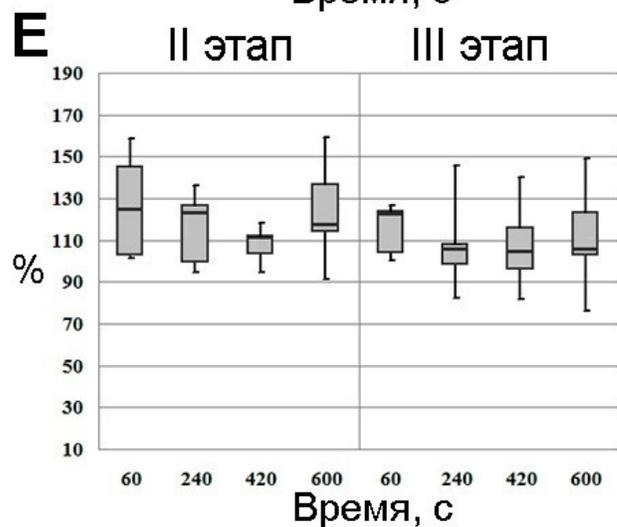
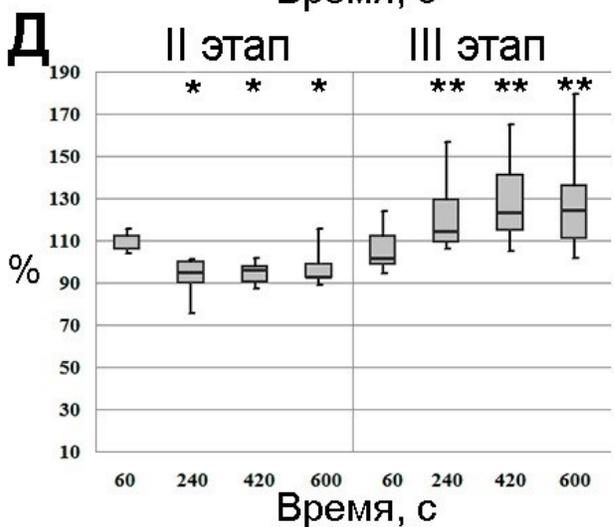
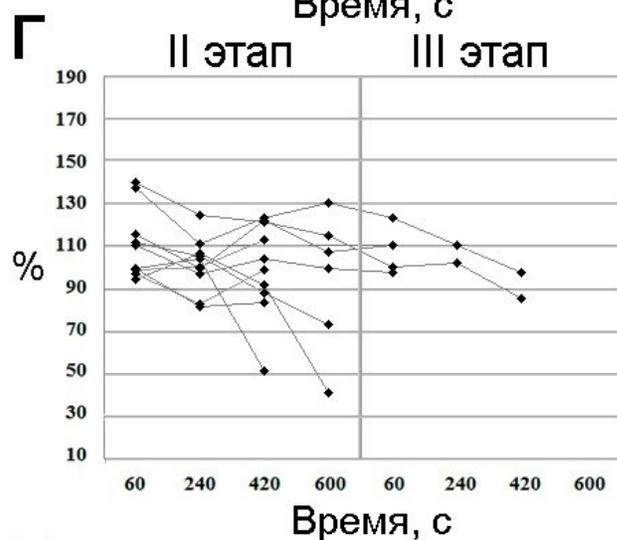
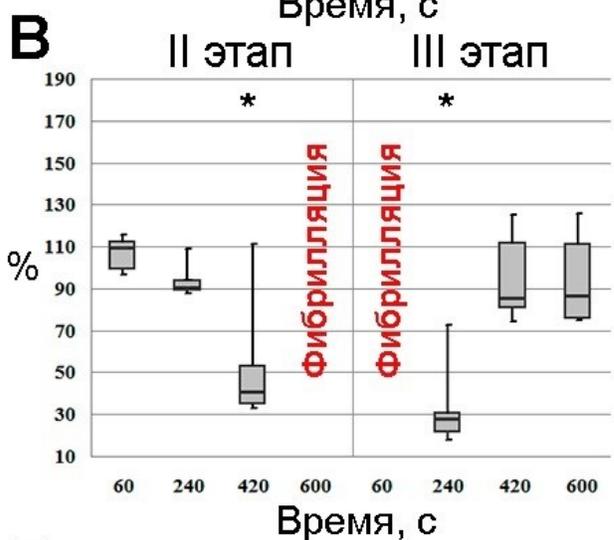
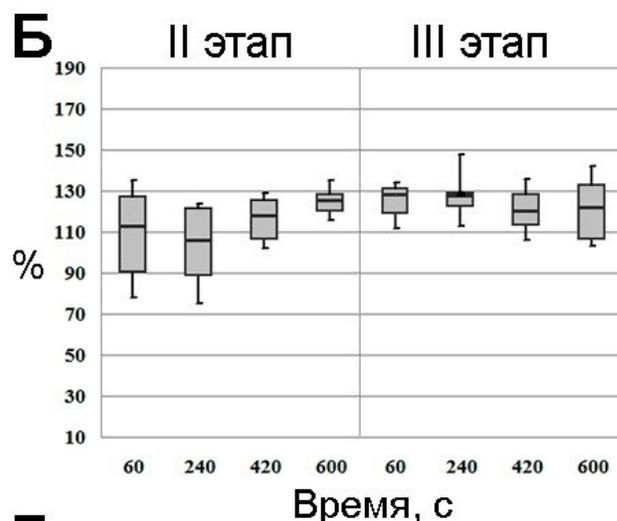
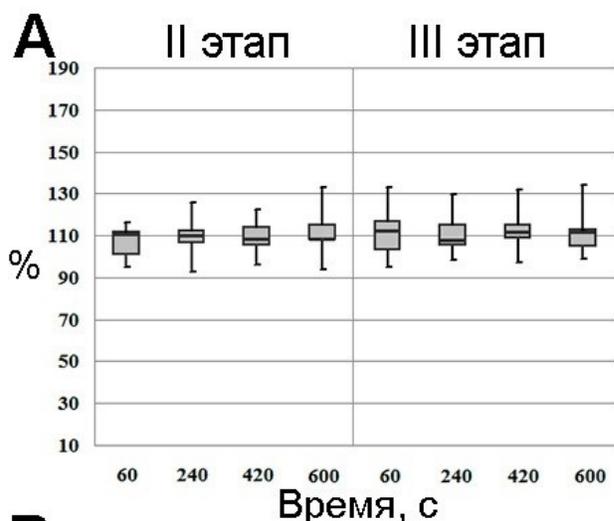


Рисунок 3.23 - Изменение длительности ИМП (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б – «рПП»; В – «2-арб»; Г – «2-арб+рПП»; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

«Гипоксия/реоксигенация+рПП». Для сердец, перфузируемых в условиях гипоксии/реоксигенации без растяжения правого предсердия, была показана выраженная групповая динамика изменений значения ИМП (рисунок 3.24, Д). Но, как продемонстрировано на электрограммах на рисунке 3.26, за счет эпизодического возникновения периодов увеличения и сокращения

длительности ИМП при сочетанном воздействии гипоксии/реоксигенации и растяжения правого предсердия статистически значимых изменений значения данного параметра в группе не наблюдалось на протяжении обоих



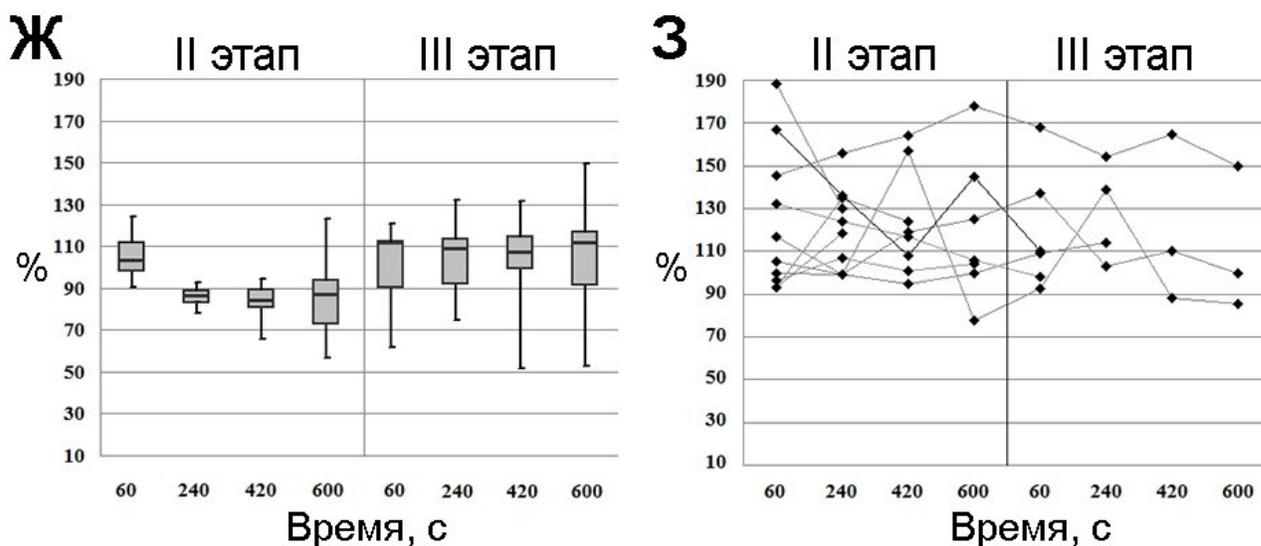


Рисунок 3.24 - Изменение длительности ИМП (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях в начале эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б - «рПП»; В – «2-арб»; Г - «2-арб+рПП»; Д – «Гипоксия/реоксигенация»; Е – «Гипоксия/реоксигенация+рПП»; Ж - «2-арб+гипоксия/реоксигенация»; З - «2-арб +гипоксия/реоксигенация +рПП»; значения на графиках представлены боксплота («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой), \*, \*\* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

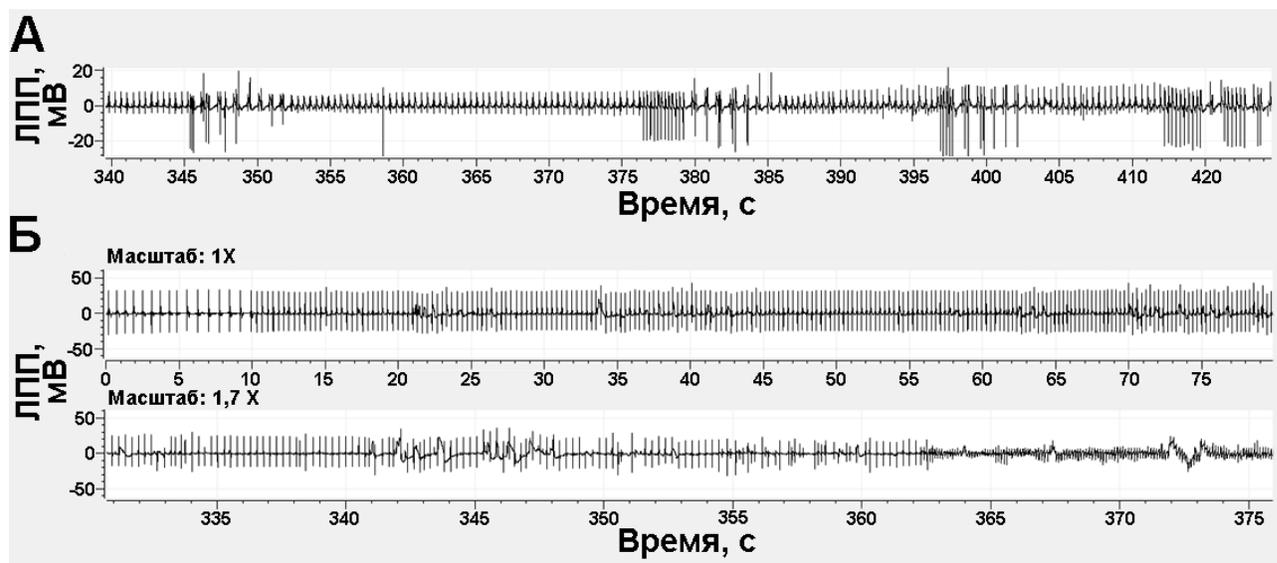


Рисунок 3.25 - Примеры электрограмм двух изолированных сердец (А и Б), показывающие зависимость значений ЛПП (ось Y) от времени (ось X), зарегистрированные в условиях блокировки SOCE и механического растяжения правого предсердия

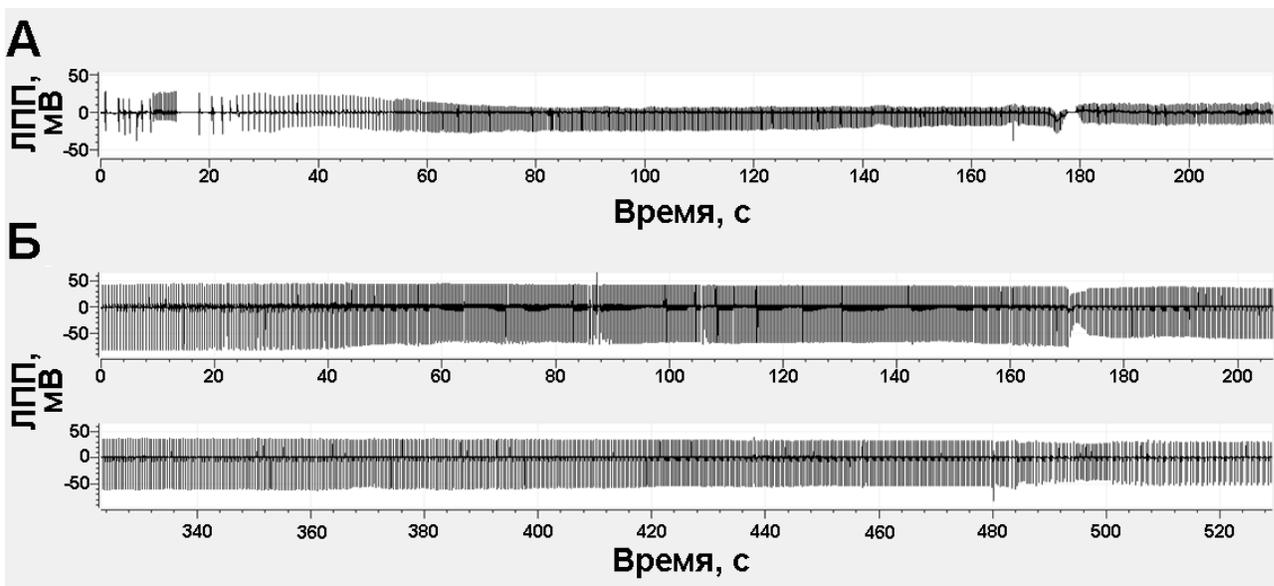


Рисунок 3.26 - Примеры электрограмм двух изолированных сердец (А и Б), показывающие зависимость значений ЛПП (ось Y) от времени (ось X), зарегистрированные в условиях гипоксии и механического растяжения правого предсердия

экспериментальных этапов ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.24, Е). Разброс длительности ИМП в данной группе составлял 76,2%-158,6% от начальных значений показателя. Максимальные значения измеряемого параметра наблюдались в первую минуту после растяжения.  $CV_{ИМП}$  у некоторых сердец из группы достигал 38% на первом этапе и 9,5% на втором этапе.

«2-арб+гипоксия/реоксигенация+рПП». Несмотря на то, что при гипоксии блокировка SOCE не вызывала фибрилляцию желудочков (рисунок 3.24, Ж), добавление к условиям эксперимента механического воздействия способствовало развитию данного явления в 70% сердец (рисунок 3.24, З). При этом фибрилляция желудочков могла возникнуть уже к четвертой минуте перфузии рКХ, содержащим 2-арб, тогда как в группе «2-арб+рПП» фибрилляция желудочков наблюдалась с седьмой минуты (рисунок 3.24, Г). И, как и в группе «рПП+SOCE» (рисунок 3.24, Г), фибрилляция не прекращалась до конца эксперимента, даже после перехода на перфузию аэрированным стандартным рКХ без блокатора 2-арб в составе (рисунок 3.24, З). Разброс

значений ИМП интервалов у разных сердец в данной группе составлял 77,7%-188,4% от начальных значений.  $CV_{ИМП}$  варьировал от 19% до 40,4%. Периоды значительных отклонений от нормы ИМП в большую или меньшую сторону возникали на протяжении всего эксперимента (рисунок 3.27).

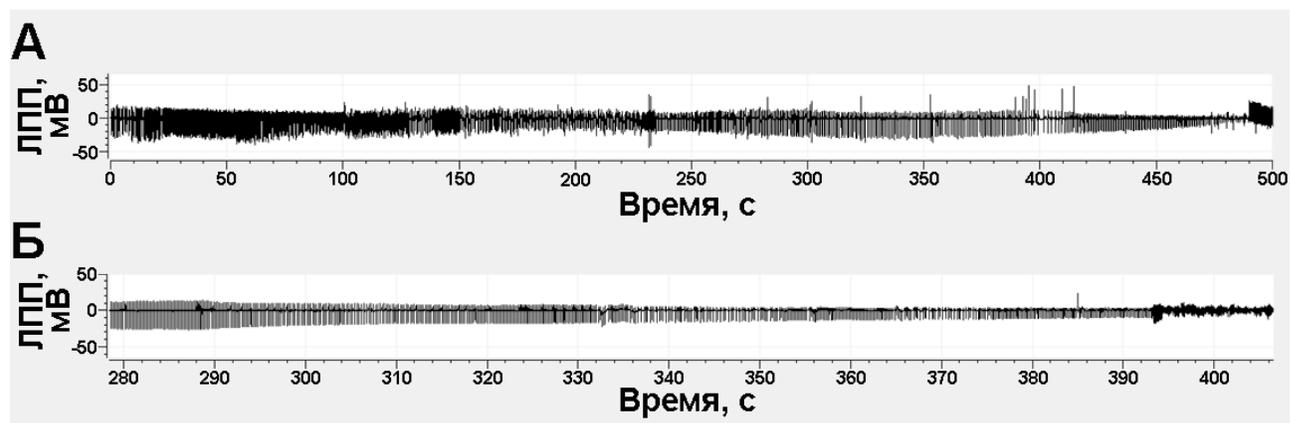


Рисунок 3.27 - Примеры электрограмм двух изолированных сердец (А и Б), показывающие зависимость значений ЛПП (ось Y) от времени (ось X), зарегистрированные в условиях блокировки SOCE, гипоксии и механического растяжения правого предсердия

**Таким образом,** несмотря на то, что механическое растяжение правого предсердия запускает в клетках синоатриального узла сокращающие длительность ИМП адаптационные механизмы, блокировка депо-зависимого кальциевого тока отменяет данный эффект. Что позволяет предположить функциональную взаимосвязь данного тока с механочувствительностью миокарда. А при сочетании блокировки SOCE и режима гипоксии/реоксигенации механическое воздействие вызывает существенные нарушения в работе сердца.

### 3.4.2 Латентность электрических сигналов, зарегистрированных с поверхности эпикарда

«рПП». В отличие от характерного для стандартных условий перфузии стабильного значения ЛЭС (рисунок 3.28, А; рисунок 3.29, А) сразу после

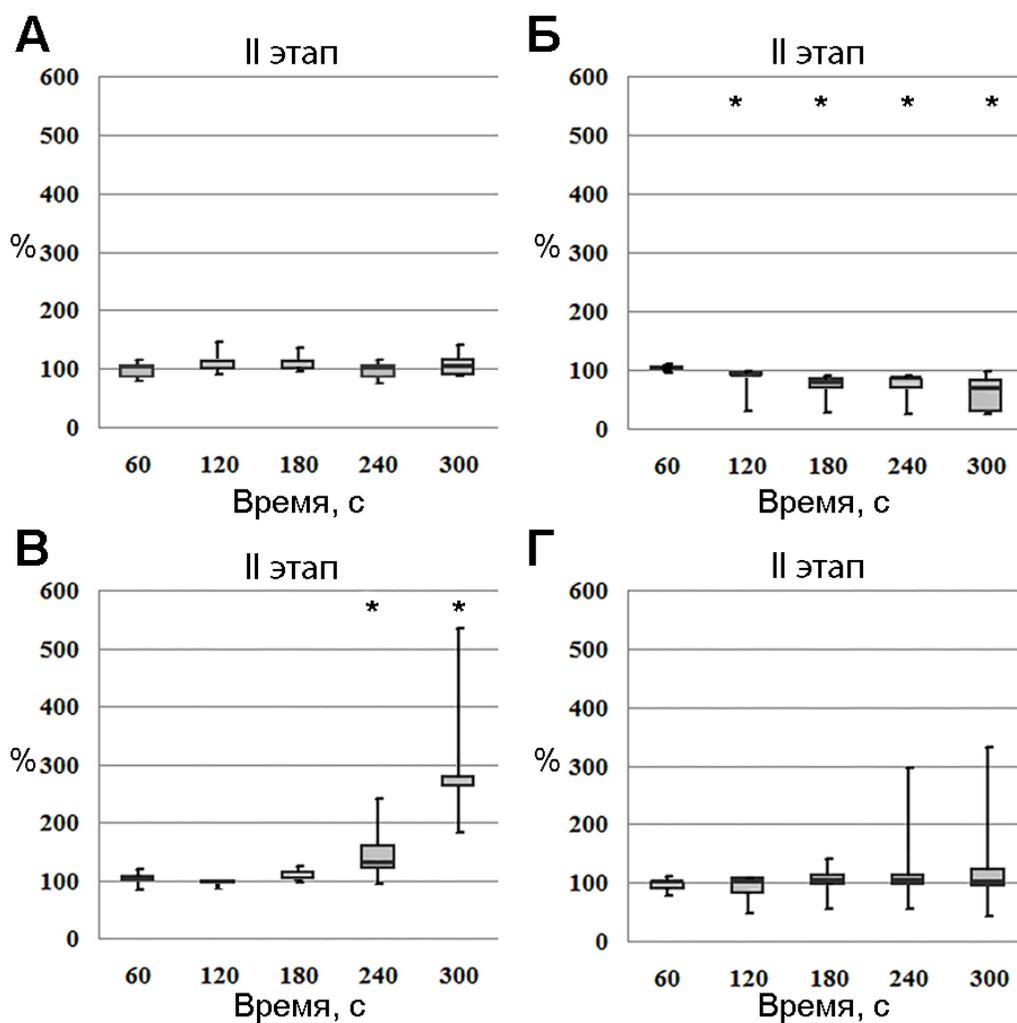


Рисунок 3.28 - Изменение значения ЛЭС (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б - «rPPP»; В – «2-арb»; Г - «2-арb+rPPP»; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой); \* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

растяжения правого предсердия значение ЛЭС уменьшилось в 10% сердец до 25% от нормального значения показателя (рисунок 3.28, Б) и с десятой минуты вернулось к значениям нормы ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.29, Б).

«2-арb+rPPP». Тогда как в первые пять минут после механического растяжения правого предсердия ЛЭС уменьшалась (рисунок 3.28, Б), а при

подавлении SOCE в группе «2-арb» увеличивалась (рисунок 3.28, В), одновременное воздействие данных факторов не вызывало статистически значимых изменений ЛЭС в группе ( $p > 0,05$ ) (рисунок 3.28, Г). Как и в группе «2-арb» (рисунок 3.29, В) по мере приближения начала фибрилляции желудочков, которая наступала позже, ЛЭС в сердцах увеличивалась (рисунок 3.29, Г). Значение данного параметра достигло максимума 403,2% от значения в норме перед фибрилляцией желудочков.

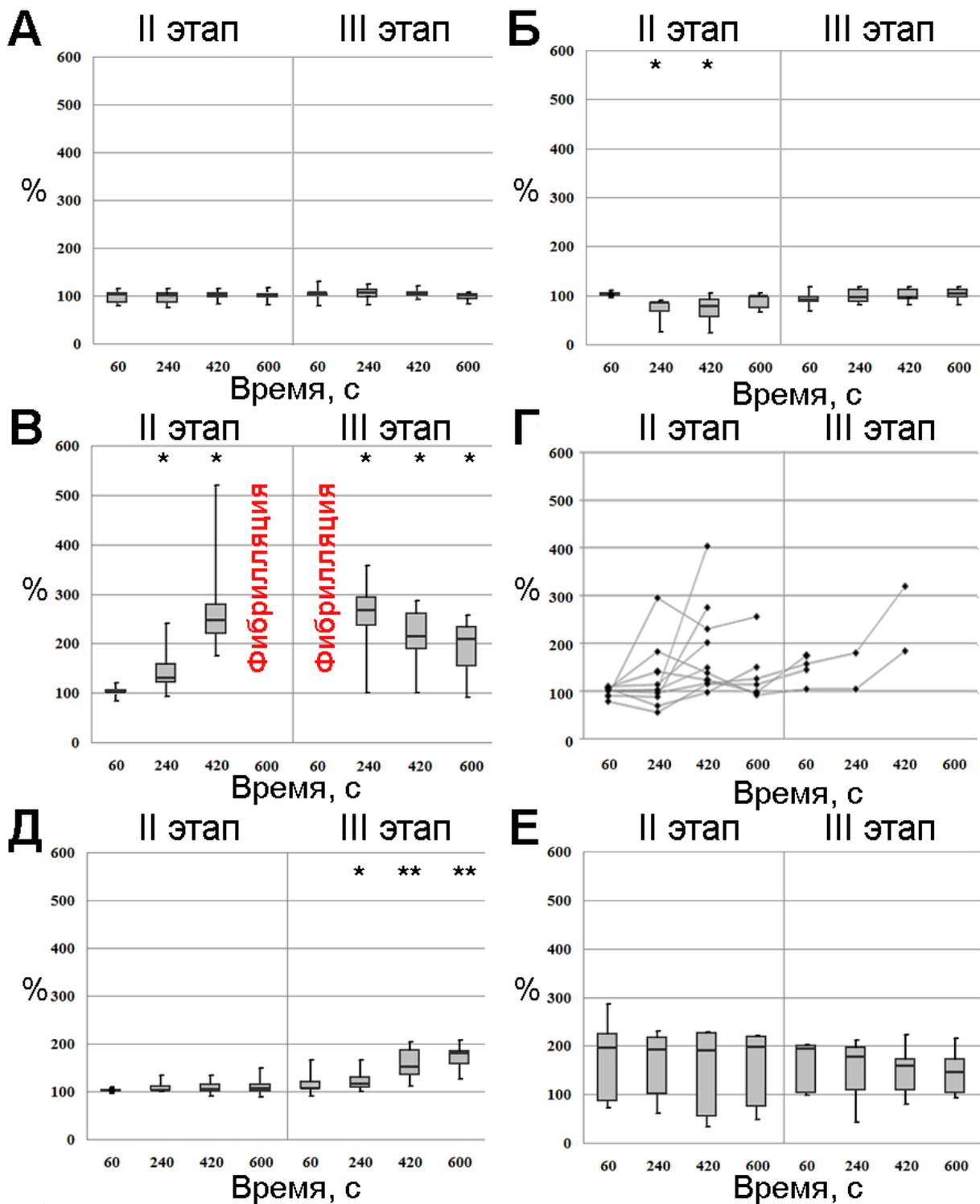
«Гипоксия/реоксигенация+рПП». Статистически значимых изменений значений показателя, в отличие от группы «Гипоксия/реоксигенация» (рисунок 3.29, Д), в группе «Гипоксия/реоксигенация+рПП» не наблюдалось ( $P > 0,05$ ). При этом динамика изменений значения данного показателя, как и значения ИМП, отличалась нестабильностью - в разных сердцах значение ЛЭС варьировало в пределах 33%-285,4% от нормы (рисунок 3.29, Е).

«2-арb+гипоксия/реоксигенация+рПП». В отличие от группы «2-арb+гипоксия/реоксигенация», где значение ЛЭС при блокировке SOCE увеличивалось, но фибрилляция желудочков не наблюдалась (рисунок 3.29, Ж), добавление к условиям эксперимента растяжения правого предсердия способствовало развитию фибрилляции желудочков. Значение ЛЭС при этом достигало 323,2%. =

Эпизоды сокращения длительности ИМП и увеличения ЛЭС в сердцах из групп «2-арb+рПП» и «2-арb+гипоксия/реоксигенация+рПП» появлялись нерегулярными периодами на протяжении всего эксперимента. Фибрилляция желудочков возникала в том случае, когда данные эпизоды во времени совпадали (рисунки 3.30, 3.31).

В условиях подавления SOCE при растяжении правого предсердия тахикардия, переходящая в ФЖ, наступала позже, чем только при подавлении SOCE. На рисунке 3.30 представлена электрограмма сердца из данной группы, демонстрирующая, как наступившая на 362-ой секунде тахикардия переходит

на 388-ой секунде в фибрилляцию желудочков, показанной на электрограмме в увеличенном масштабе (рисунок 3.30, А). На панели Б рисунка 3.30 график



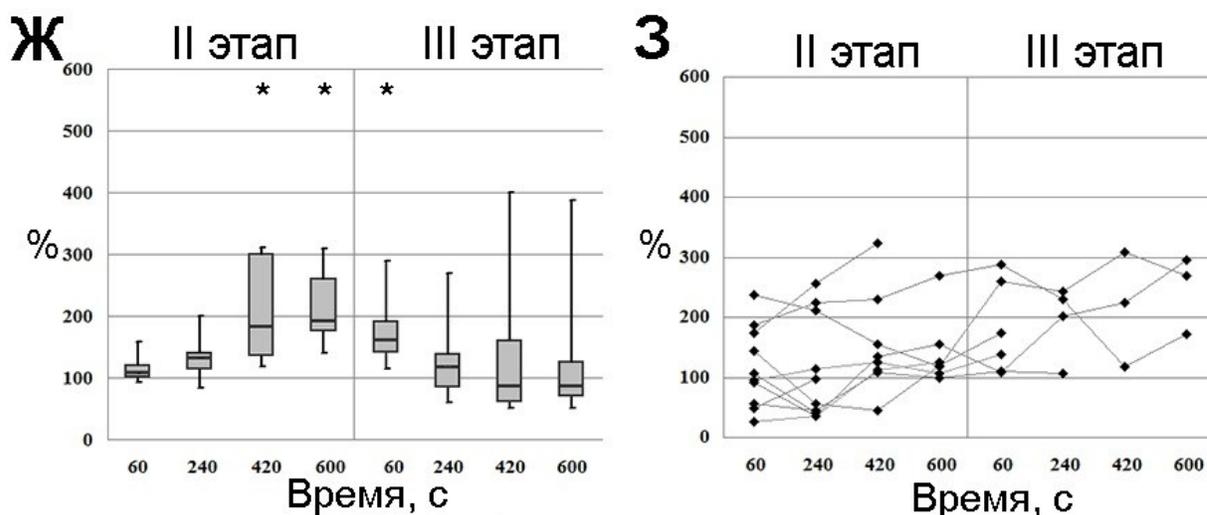


Рисунок 3.29 - Изменение значения ЛЭС (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б - «рПП»; В – «2-арб»; Г - «2-арб+рПП»; Д – «Гипоксия/реоксигенация»; Е – «Гипоксия/реоксигенация+рПП»; Ж – «2-арб+гипоксия/реоксигенация»; З - «2-арб+гипоксия/реоксигенация +рПП»; значения на графиках представлены боксплотами («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой); \*, \*\* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

изменений ЛЭС в тот же период времени показывает увеличение ЛЭС, которое не приводило к фибрилляции до существенного снижения ИМП.

В условиях сочетания всех трёх изучаемых факторов (подавления SOCE, гипоксии/реоксигенации и растяжения правого предсердия) при их воздействии на сердце, наблюдалась наиболее выраженная периодичность изменения ИМП. Это также позволило наблюдать независимость изменений значений ИМП и ЛЭС. Фибрилляция желудочков в одном из сердец из данной группы возникла на 394-ой секунде, когда эпизоды и существенного сокращения ИМП (рисунок 3.31, А), и увеличения ЛЭС (рисунок 3.31, Б) совпали во времени.

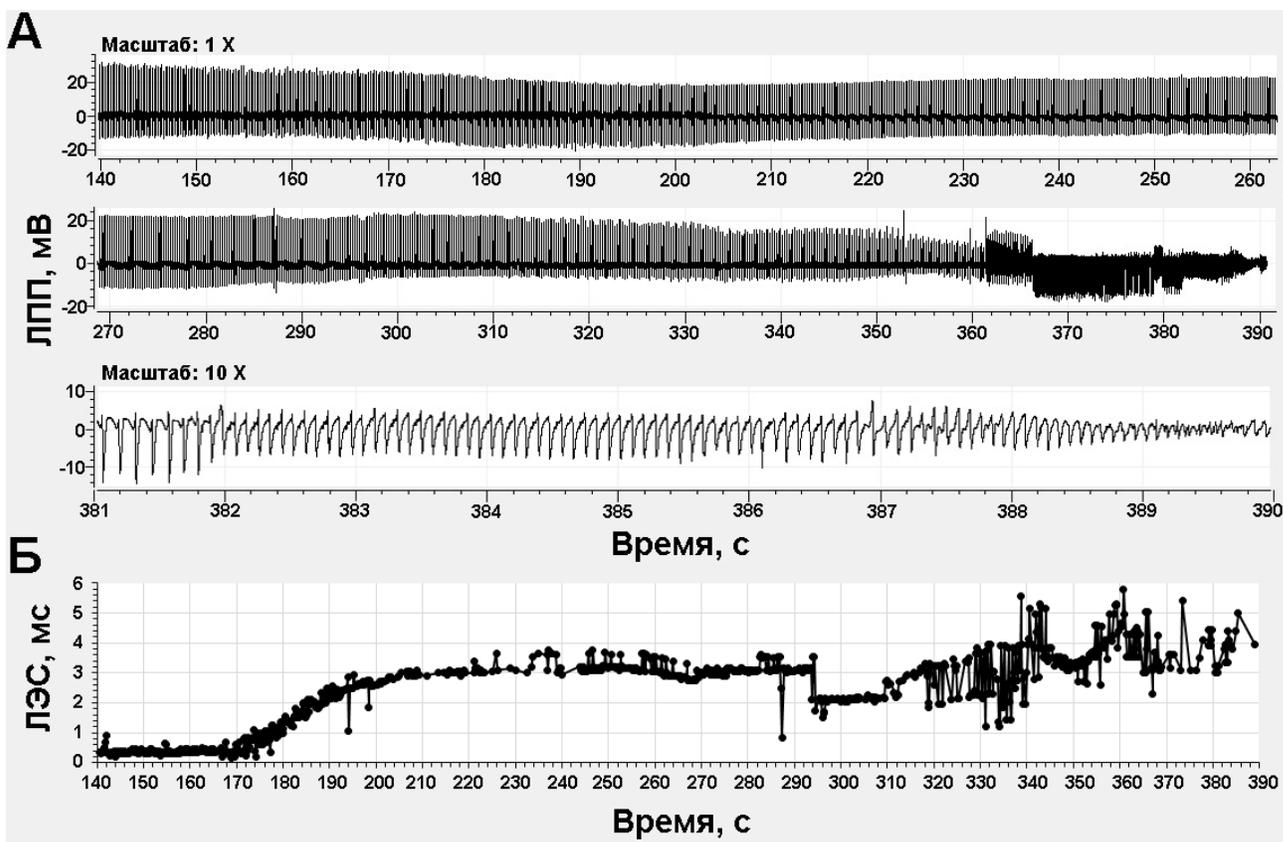


Рисунок 3.30 - Сопоставление во времени изменений частотных и пространственно-временных характеристик электрической активности сердца при блокировке SOCE в условиях механического растяжения правого предсердия: А – изменение значений ЛПП (ось Y) в зависимости от времени (ось X), период перехода тахикардии в желудочковую фибрилляцию представлен в увеличенном масштабе; Б – изменение обозначенных точками значений ЛЭС (ось Y) в зависимости от времени (ось X)

**Таким образом,** в проведенных экспериментах наблюдался положительный дромотропный эффект растяжения правого предсердия (Kharkovskaya et al., 2018). Данный эффект не наблюдался при заблокированных депо-управляемых кальциевых каналах, а также мог препятствовать обусловленному блокировкой SOCE увеличению ЛЭС (Kharkovskaya et al., 2020). При воздействии гипоксии/реоксигенации и растяжения правого предсердия наблюдалось увеличение ЛЭС не только при реоксигенации, но уже на этапе гипоксии. При сочетании всех трех изучаемых условий высокая степень

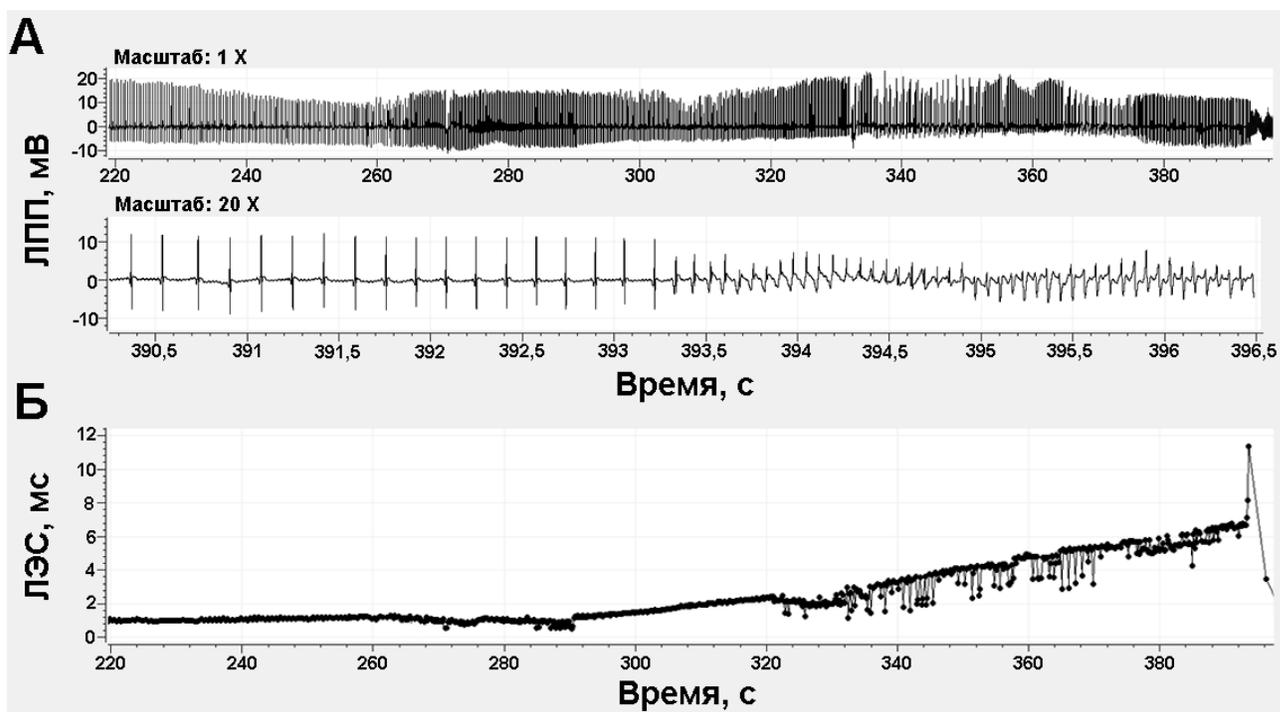


Рисунок 3.31 - Сопоставление во времени изменений частотных и пространственно-временных характеристик электрической активности сердца при блокировке SOCE на фоне гипоксии/реоксигенации в условиях механического растяжения правого предсердия: А – изменение значений ЛПП (ось Y) в зависимости от времени (ось X), период перехода тахикардии в желудочковую фибрилляцию представлен в увеличенном масштабе; Б – изменение обозначенных точками значений ЛЭС (ось Y) в зависимости от времени (ось X)

увеличения ЛЭС в сочетании с сокращением длительности ИМП приводили к развитию фибрилляции желудочков.

### 3.4.3 Дисперсия реполяризации миокарда

«рПП». В отличие от группы «Контроль», где значение ДР сохранялось на одном уровне на протяжении всего эксперимента без статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) (рисунок 3.32, А), через одну минуту после механического растяжения правого предсердия значение ДР снижалось до 18% в 10% сердец с



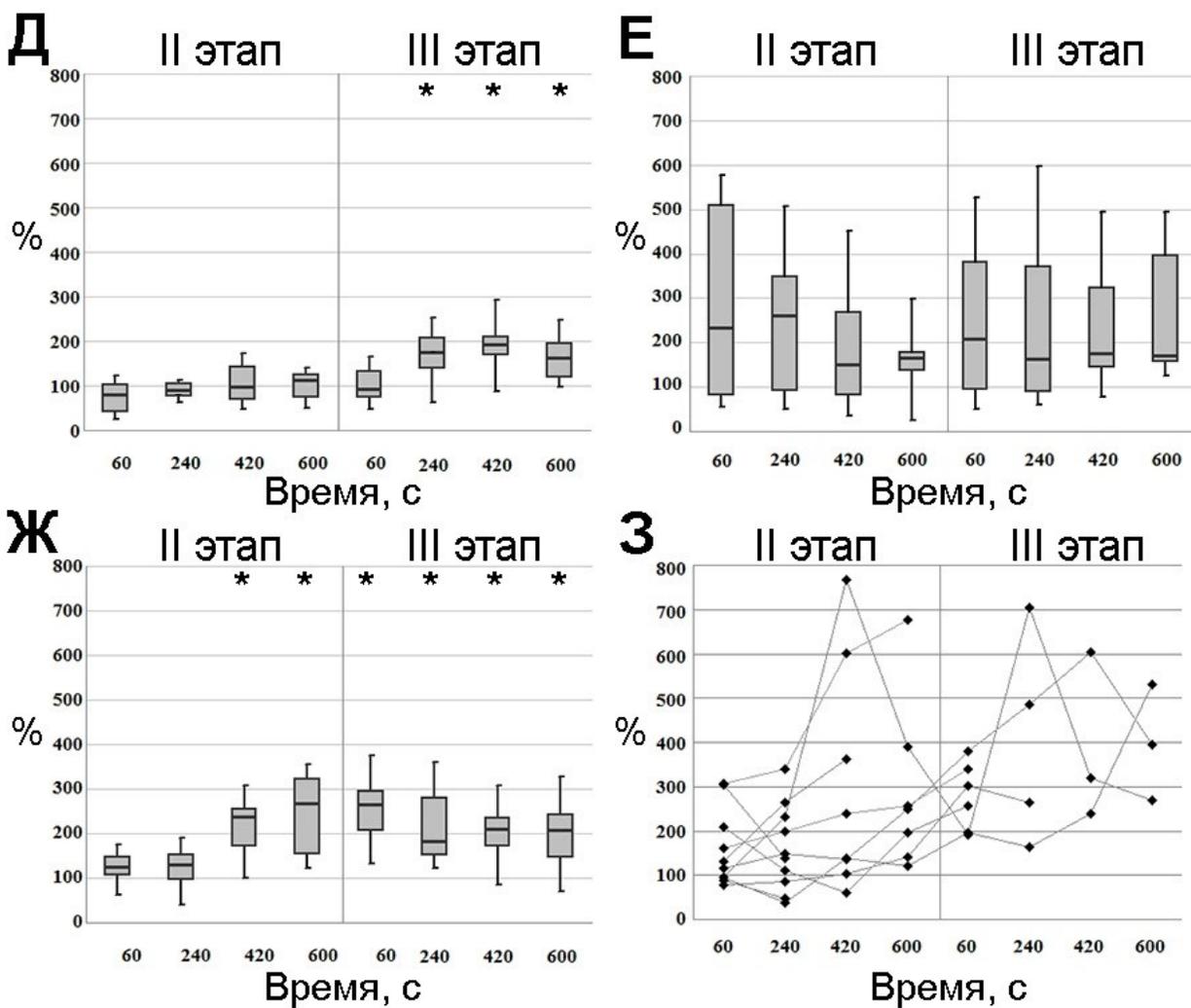


Рисунок 3.32 - Изменение значения ДР (ось Y) относительно времени (ось X) в процентном отношении от значения данного параметра при нормальных условиях на первом этапе эксперимента в группах: А – «Контроль»; Б - «рПП»; В – «2-арб»; Г - «2-арб+рПП»; Д – «Гипоксия/реоксигенация»; Е – «Гипоксия/реоксигенация+рПП»; Ж – «2-арб+гипоксия/реоксигенация»; З - «2-арб+гипоксия/реоксигенация +рПП»; значения на графике представлены боксплотаи («гвоздики» - размах вариации, границы боксплота - межквартильный размах, разделенный медианой); \* - наличие статистически значимых различий по критерию Фридмана для повторных измерений ( $p < 0,05$ )

«Гипоксия/реоксигенация+рПП». Растяжение полости правого предсердия в условиях гипоксии-реоксигенации вызывало большой разброс значений показателя ДР - 24,7-597,9% от нормы (рисунок 3.32, Е).

«2-арb+гипоксия/реоксигенация+rПП». По сравнению с группой «2-арb+гипоксия/реоксигенация» (рисунок 3.32, Ж), где значения ДР увеличивались до 3,5 раз, с дополнением к условиям эксперимента растяжения правого предсердия увеличение происходило до 7,6 раз. Но также значение показателя опускалось до 37,1% от нормы, поэтому статистически значимых групповых изменений ДР установлено не было (рисунок 3.32, З).

**Таким образом,** в проведенных исследованиях было продемонстрировано, что растяжение правого предсердия снижает ДР, и данный эффект отменяется при подавлении механочувствительных деполуправляемых кальциевых каналов. Добавление к перечисленным факторам условий гипоксии/реоксигенации приводит к более выраженному увеличению и разбросу значений ДР, чем при их сочетанном воздействии.

#### **3.4.4 Обсуждение полученных результатов**

Стимулирующий эффект механического воздействия на сердце и некоторые связанные с ним кардиальные рефлексы хорошо известны, при этом их механизм остается до конца не выясненным (Kuhtz-Buschbeck, Schaefer, Wilder, 2017; Quinn, Kohl, 2021).

Наблюдаемое в представленной работе механоиндуцированное снижение ИМП может быть связано с входящими кальциевыми токами, которые обеспечиваются механочувствительными каналами (Zhang, Walcott, Rogers, 2018). Для каналов TRPC1, представляющих интерес в данной работе в рамках изучения SOCE, показана механочувствительность (Wang, Shi, Tong, 2021).

Кроме положительного хронотропного эффекта растяжение правого предсердия также вызывало нестабильность ритма сердечных сокращений. Об этом могли свидетельствовать высокие значения показателя  $CV_{ИМП}$ . Считается,

что кальциевые механочувствительные токи могут влиять на ритм сердечных сокращений, и вызывать аритмии (MacDonald, Quinn, 2021).

Следовательно, в группе «2-arb+rПП» подавление наблюдаемого позитивного хронотропного эффекта в начале эксперимента, вызванного растяжением правого предсердия, может быть объяснено блокировкой механочувствительных каналов из подсемейства TRPC. Способность к подавлению кальциевых механочувствительных токов и изменению за счет этого ритма сердечных сокращений было показано для 2-arb и других блокаторов механочувствительных каналов (Takahashi et al., 2019; Sachs, 2018). Было показано, что нарушения SOCE способствуют увеличению продолжительности мембранного потенциала действия и влияют на электромеханические свойства в гипертрофированном сердце (Troupes et al., 2017). Возможно, со стимулирующим эффектом растяжения правого предсердия можно связать факт более позднего возникновения фибрилляции в группе «2-arb+rПП», чем в группе «2-arb».

Судя по результатам, полученным в группе «Гипоксия/реоксигенация+rПП», усиление активности сердца при растянутом правом предсердии осложняется в условиях недостатка кислорода. Кратковременные эпизоды (менее семи секунд) увеличения ИМП, которые встречались у 60% сердец из группы «rПП» в первую минуту после растяжения правого предсердия и сменялись уменьшением ИМП, на фоне гипоксии становились более выраженными и продолжительными. Но при реоксигенации при растянутом правом предсердии не наблюдалось, как в группе «Гипоксия/реоксигенация», увеличения ИМП к концу этапа. Возможно, оно также откладывалось во времени под воздействием растяжения правого предсердия, как откладывалось возникновение фибрилляции желудочков. Также механическая нагрузка на правое предсердие вызывала снижение  $CV_{ИМП}$  при реоксигенации. В группе «2-arb+гипоксия/реоксигенация+rПП»

максимальные значения ИМП также наблюдались в начале эксперимента. Фибрилляция желудочков возникала, несмотря на отсутствие данного явления при гипоксии в группе «2-арб+гипоксия/реоксигенация», и даже раньше, чем в группе «2-арб».

Изменение электрической активности миокарда левого желудочка, о котором свидетельствуют изменения параметров ЛЭС и ДР в результате растяжения правого предсердия, может быть обусловлено интракардиальными механизмами регуляции (Fedele, Brand, 2020). Рефлекс Бейнбриджа, который заключается в позитивных хронотропном и инотропном эффектах от механического растяжения предсердий и полых вен, по мнению ряда авторов осуществляется также в отсутствие нервной системы организма (Kuhtz-Buschbeck, Schaefer, Wilder, 2017; Quinn, Kohl, 2021). Возможно, некий адаптационный механизм, подобный данному рефлексу, способствует также ускорению проведения волны возбуждения и снижению ДР в миокарде желудочков за счет деятельности внутрисердечной нервной системы.

Положительный дромотропный эффект растяжения правого предсердия, как и положительный хронотропный, преимущественно проявлялся в первые минуты после данного воздействия. Растяжение правого предсердия оказывало более длительный эффект на электрическую проводимость миокарда, чем на ритм сердечных сокращений.

Условия гипоксии не только препятствовали проявлению положительного дромотропного эффекта растяжения правого предсердия, но и способствовали снижению проводимости миокарда и увеличению ДР в группе «Гипоксия/реоксигенация+рПП». Вероятно, в том случае, когда рабочие кардиомиоциты миокарда подвержены условиям кислородной недостаточности, дополнительная механическая нагрузка не вызывает в сердце реакции адаптации, а повышает риск запуска патологических процессов. В отличие от группы «2-арб+гипоксия/реоксигенация», в группе «2-

арb+гипоксия/реоксигенация+rПП» желудочковая фибрилляция возникала. Более того, это происходило раньше, чем в группе «2-арb». Результаты научных исследований свидетельствуют об уязвимости сердца к негативным факторам, затрагивающим внутриклеточную кальциевую динамику, в условиях повышенной механической нагрузки (Zhang et al., 2021). Также известно, что NO, повышение которого в клетках происходит при гипоксии, участвует в регуляции механо-электрической обратной связи (Boycott et al., 2020; Kamkin et al., 2022).

За счет разрозненности во времени эпизодов снижения ИМП и увеличения ЛЭС, которые наблюдались в группах «2-арb+rПП» и «2-арb+гипоксия/реоксигенация+rПП», можно было еще раз убедиться в том, что фибрилляция желудочков возникает при одновременном увеличении частоты сердечных сокращений и снижении скорости проведения возбуждения в миокарде.

Можно сделать предположение о том, что адаптационные механизмы, которые активируются механическим растяжением правого предсердия, чувствительны к кислородной концентрации и подавляются блокаторами потенциал-независимых кальциевых токов. Более того, сочетанное воздействие всех трех исследуемых видов воздействия на сердце несет наиболее деструктивный характер.

**Таким образом,** методом мультиэлектродного картирования были изучены особенности хронотропного эффекта, вызванного растяжением правого предсердия, при блокаде депо-зависимого кальциевого тока на фоне нормоксии и гипоксии/реоксигенации. Проведенные исследования показали, что эффект растяжения правого предсердия проявляется в изменении не только активности водителей ритма сердца, но и проводимости миокарда левого желудочка (Kharkovskaia et al., 2018).

Было обнаружено, что блокировка механочувствительных ионных каналов, участвующих в обеспечении депо-зависимого кальциевого тока, отменяет позитивный хронотропный и позитивный дромотропный эффекты, вызванные растяжением правого предсердия (Kharkovskaia et al., 2020).

Также было показано, что в результате сочетанного воздействия на сердце блокировки депо-управляемых кальциевых каналов и растяжения правого предсердия на фоне гипоксии/реоксигенации развивается фибрилляция желудочков. Данное состояние при этом возникает при одновременном существенном повышении частоты ритма сердечных сокращений, увеличении задержки электрического проведения и ДР миокарда.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе методом многоканального картирования эпикарда изолированного перфузируемого сердца крысы микроэлектродными матрицами на клеточном уровне был проведен анализ параметров биоэлектрической активности сердца в условиях нормальной перфузии, а также под влиянием факторов изменения ионной проводимости клеток миокарда: подавления депо-зависимого кальциевого тока, гипоксии/реоксигенации и растяжения правого предсердия.

Было продемонстрировано, как данные факторы регуляции электрофизиологических свойств сердца способны провоцировать изменения не только параметров ритма сокращений, но и латентности электрического сигнала, дисперсии реполяризации. Изучение изменений данных характеристик при использовании MEA позволило обнаружить события, предшествующие возникновению жизнеугрожающих аритмий. А именно, было показано, что вызванное блокировкой SOCE учащение ритма сердечных сокращений при одновременном увеличении задержки распространения волны возбуждения и увеличении длительности начальной фазы и дисперсии реполяризации локальных полевых потенциалов, предшествовало возникновению фибрилляции желудочков.

Также было показано, что присутствие дополнительных факторов регуляции электрофизиологических свойств миокарда, таких как гипоксия/реоксигенация и механическое растяжение правого предсердия способно влиять на возможность развития фибрилляции. Предполагаемой причиной являлось отсутствие эпизодов одновременно возникающих и достаточно интенсивных для запуска фибрилляции снижения ИМП и роста ЛЭС, как это наблюдалось при развитии фибрилляции в результате блокировки SOCE в условиях нормоксии, а также сокращение длительности начальной фазы реполяризации ЛПП, наблюдаемое при гипоксии, могло предотвращать

увеличение длительности данной фазы при блокировке SOCE в условиях нормоксии, которое предшествовало развитию фибрилляции желудочков.

Было установлено, что блокада механочувствительных ионных каналов, участвующих в формировании депо-зависимого кальциевого тока, отменяет позитивные хронотропный и дромотропный эффекты, вызванные растяжением правого предсердия. Предполагаемым механизмом является вызванное подавлением каналов SOCE нарушение перестройки кальциевой динамики, которая, вероятно, необходима для формирования ответной реакции сердца на механическое воздействие.

Было установлено, что характеристики регистрации биоэлектрической активности с поверхности эпикарда при межэлектродном расстоянии в матрице 300-750 мкм адекватно описывают характер распространения волн возбуждения в миокарде, что подтверждалось результатами сравнения активационной карты распространения волны возбуждения с гистологическими срезами миокарда, взятыми с участка наложения МЕА. Кроме этого, подтверждением правильности интерпретации ЛПП на клеточном уровне, зарегистрированных с поверхности эпикарда, являлись результаты сравнения изменений данных ЛПП с изменениями ЛПП, зарегистрированных в культуре кардиомиоцитов крысы. Наблюдаемые изменения были вызваны использованием неспецифического блокатора депо-зависимого кальциевого тока.

Таким образом, методом микроэлектродного картирования эпикарда были исследованы пространственно-временные параметры биоэлектрической активности миокарда перфузируемого изолированного сердца крыс в норме и выяснены новые механизмы изменения при воздействии физико-химических факторов регуляции его электрофизиологических свойств.

## ВЫВОДЫ

1. Метод эпикардального многоканального картирования биоэлектрических потенциалов высокого разрешения с помощью гибких микроэлектродных матриц при расстоянии между электродами 300-750 мкм позволяет исследовать пространственно-временные параметры биоэлектрической проводимости миокарда изолированного перфузируемого сердца крысы (латентность электрических сигналов и дисперсия реполяризации миокарда) и форму локального полевого потенциала на клеточном уровне;

2. Блокада депо-зависимых кальциевых каналов в условиях нормоксии вызывает тахикардию, увеличение начальной фазы реполяризации локального полевого потенциала, зарегистрированного при использовании микроэлектродных матриц, увеличение латентности электрических сигналов и дисперсии реполяризации, что способствует развитию фибрилляции желудочков изолированного перфузируемого сердца крысы;

3. Гипоксия предупреждает фибрилляцию желудочков изолированного перфузируемого сердца крысы, вызванную блокадой депо-зависимых кальциевых каналов, за счет отсутствия одновременно возникающих явлений увеличения частоты сокращений и задержки электрического проведения в миокарде, сокращения длительности начальной фазы реполяризации локального полевого потенциала;

4. Методом мультиэлектродного картирования изолированного перфузируемого сердца доказано, что известный положительный хронотропный эффект при растяжении правого предсердия не зависит от иннервации *n. vagus* и сопровождается более продолжительным положительным дромотропным эффектом (снижение значений латентности электрических сигналов), и оба эффекта отменяются при блокаде механочувствительных ионных каналов, участвующих в формировании депо-зависимого кальциевого тока, а также гипоксии/реоксигенации.

## СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артюхина, Е.А. Оценка эффективности интервенционного лечения желудочковых экстрасистолий редких локализаций при использовании неинвазивного картирования / Е.А. Артюхина, М.В. Яшков, Е.В. Дедух, И.А. Таймасова, А.Ш. Ревешвили // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2022. – Т. 26, № 1. – С. 73-82.

2. Баевский, Р.М. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем: методические рекомендации / Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов, А.П. Гаврилушкин, П.Я. Довгалевский, Ю.А. Кукушкин, Т.Ф. Миронова, Д.А. Прилуцкий, А.В. Семенов, В.Ф. Федоров, А.Н. Флещман, М.М. Медведев, Л.В. Чирейкин // Вестник аритмологии. – 2002. – №24. – С. 65-86.

3. Бокерия, Л.А. Использование многополюсных диагностических электродов при катетерном лечении фибрилляции предсердий / Л.А. Бокерия, Р.З. Шалов // Анналы аритмологии. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 71-80.

4. Косицкий Г.И. Аfferentные системы сердца / Г.И. Косицкий. – М: Медицина. – 1975. – 207 с.

5. Мангилева, Д.В. Исследование режимов вращения спиральной волны вокруг постинфарктного рубца в модели сердца с реалистичной 3D геометрией / Д.В. Мангилева, П.В. Коновалов, А.Д. Докучаев, О.Э. Соловьева, А.В. Панфилов // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Vol. 27, № 5. – С. 4-4.

6. Некрасова, М.М. Применение информационных технологий для оценки профессионального стресса у спортсменов / М. М. Некрасова, Е.Ф. Черникова, А.В. Зуев, С.А. Полевая, С.Б. Парин // Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – Т. 59, № 10. – С. 871-876.

7. Нужный, В.П. Форма экстрасистолических комплексов QRS в зависимости от локализации зон электрической стимуляции в желудочках

сердца собак / В.П. Нужный, Н.А. Киблер, Д.Н. Шмаков // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – № 5 (часть 1). – С. 185-189.

8. Латфуллин, И.А. Клиническая аритмология / И.А. Латфуллин, О.В. Богоявленская, Р.И. Ахмерова – М.: МЕДпресс-информ. – 2002. – 280 с.

9. Ревешвили, А.Ш. Неинвазивное фазовое картирование: валидационное исследование у пациентов с трепетанием предсердий / А.Ш. Ревешвили, О.В. Сопов, Е.А. Фетисова, М.К. Чайковская, М.П. Чмелевский // Вестн. аритмологии. - 2016. - Т. 83. - С. 12-17.

10. Рощевская, И.М. Кардиоэлектрическое поле теплокровных животных и человека: монография / И. М. Рощевская. – Санкт-Петербург: Наука, 2008. – 250 с.

11. 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. – С. 51-54.

12. Чермных, Н.А. История развития физиологии в Коми научном центре УрО РАН: научные идеи и открытия / Н.А. Чермных, Д.Н. Шмаков // Известия Коми НЦ УрО РАН. – 2018. –№4 (36). – С. 6-18.

13. Abramochkin, D.V. Phenanthrene alters the electrical activity of atrial and ventricular myocytes of a polar fish, the Navaga cod / D.V. Abramochkin, S.N. Kompella, H.A. Shiels [Электронный ресурс] // Aquat Toxicol. – 2021. – Vol. 235. – 105823. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X21000825>.

14. Achanta, S. A Comprehensive Integrated Anatomical and Molecular Atlas of Rat Intrinsic Cardiac Nervous System [Электронный ресурс] / S. Achanta, J. Gorky, C. Leung, A. Moss, S. Robbins, L. Eisenman, J. Chen, S. Tappan, M. Heal, N. Farahani, T. Huffman, S. England, Z.J. Cheng, R. Vadigepalli, J.S. Schwaber

[Электронный ресурс] // iScience. – 2020. – Vol. – 23, №6. – 101140. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7327996/>.

15. Ambudkar, I.S. TRPC1, Orai1, and STIM1 in SOCE: Friends in tight spaces / I.S. Ambudkar, L.B. de Souza, H.L. Ong // Cell Calcium. – 2017. – Vol. 63. – P. 33-39.

16. Anderson, P.G. Use of the Isolated Perfused Heart for Evaluation of Cardiac Toxicity / P.G. Anderson, S.B. Digerness, J.L. Sklar., P.J. Boor // Toxicologic pathology. – 1990. – Vol. 18, № 4 (Part 1). – P. 497-510.

17. Anderson, R.D. On the Electrophysiology and Mapping of Intramural Arrhythmic Focus / R.D. Anderson, P.J. Rodriguez, C. Joens, S. Masse, A. Bhaskaran, K. Magtibay, A. Niri, J. Asta, P. Lai, M.A. Azam, E. Vigmond, K. Nanthakumar [Электронный ресурс] // Circulation. Arrhythmia and electrophysiology. – 2022. – Vol. 15, № 5. – e010384. – Режим доступа: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCEP.121.010384>.

18. Ando, H. A new paradigm for drug-induced torsadogenic risk assessment using human iPS cell-derived cardiomyocytes / H. Ando, T. Yoshinaga, W. Yamamoto, K. Asakura, T. Uda, T. Taniguchi, A. Ojima, R. Shinkyō, K. Kikuchi, T. Osada, S. Hayashi, C. Kasai, N. Miyamoto, H. Tashibu, D. Yamazaki, A. Sugiyama, Y. Kanda, K. Sawada, Y. Sekino // Journal of pharmacological and toxicological methods 2017. – Vol. 84. – P. 111–127.

19. Andrysiak, K. Human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, 3D cardiac structures, and heart-on-a-chip as tools for drug research / K. Andrysiak, J. Stępniewski, J. Dulak // Pflugers Arch. – 2021. – Vol. 473, № 7. – P. 1061-1085.

20. Antzelevitch, C. Cardiac repolarization. The long and short of it / C. Antzelevitch // Europace. – 2005. – Vol. 7, № 2(2). – P. 3-9.

21. Arisi, G. Epicardial excitation during ventricular pacing. Relative independence of breakthrough sites from excitation sequence in canine right ventricle

/ G. Arisi, E. Macchi, C. Corradi, R.L. Lux, B. Taccardi // *Circ Res.* – 1992. – Vol. 71, № 4. – P.: 840-849.

22. Arteyeva, N.V. Dispersion of ventricular repolarization: Temporal and spatial / N.V. Arteyeva // *World J Cardiol.* – 2020. – Vol. 12, № 9. – P. 437-449.

23. Asahi, Y. On-chip spatiotemporal electrophysiological analysis of human stem cell derived cardiomyocytes enables quantitative assessment of proarrhythmia in drug development [Электронный ресурс] / Y. Asahi, T. Hamada, A. Hattori, K. Matsuura, M. Odaka, F. Nomura, T. Kaneko, Y. Abe, K. Takasuna, A. Sanbuissho, K. Yasuda // *Sci Rep.* – 2018. – V.8, № 1. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-32921-1>.

24. Avellaneda, J. Myofibril and mitochondria morphogenesis are coordinated by a mechanical feedback mechanism in muscle [Электронный ресурс] / J. Avellaneda, C. Rodier, F. Daian, N. Brouilly, T. Rival, N.M. Luis, F. Schnorrer // *Nat Commun.* – 2021. – Vol. 12. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-22058-7>.

25. Avila-Medina, J. The complex role of store operated calcium entry pathways and related proteins in the function of cardiac, skeletal and vascular smooth muscle cells [Электронный ресурс] / J. Avila-Medina, I. Mayoral-Gonzalez, A. Dominguez-Rodriguez, I. Gallardo-Castillo, J. Ribas, A. Ordoñez, J.A. Rosado, T. Smani // *Front Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5872157/pdf/fphys-09-00257.pdf>.

26. Bai, S. Assessment of Drug Proarrhythmic Potential in Electrically Paced Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Ventricular Cardiomyocytes Using Multielectrode Array / Bai S., Pei J., Chen K., Zhao Y., Cao H., Tian L., Ma Y., Dong H. // *SLAS Discov.* – 2021. – Vol. 26, № 3. – P. 364-372.

27. Bakowski, D. Store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  channels: mechanism, function, pharmacology, and therapeutic targets / D. Bakowski, F. Murray, A.B. Parekh // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2021. – Vol. 61. – P. 629-654.

28. Barbeau, S. Mechanosensitivity in pulmonary circulation: pathophysiological relevance of stretch-activated channels in pulmonary hypertension [Электронный ресурс] / S. Barbeau, G. Gilbert, G. Cardouat, I. Baudrimont, V. Freund-Michel, C. Guibert, R. Marthan, P. Vacher, J.F. Quignard, T. Ducret // *Biomolecules.* – 2021. – Vol. 11, № 9. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2218-273X/11/9/1389>.

29. Baudel, M.A.S.M. Insights into activation mechanisms of store-operated TRPC1 channels in vascular smooth muscle [Электронный ресурс] / M.A.S.M. Baudel, J. Shi, W.A. Large, A.P. Albert // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, № 1. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/1/179/htm>.

30. Beech, D.J. Force sensing by piezo channels in cardiovascular health and disease / D.J. Beech, A.C. Kalli // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2019. – Vol. 39, № 11. – P. 2228-2239.

31. Bernikova, O.G. Determinants of reperfusion arrhythmias: action potential duration versus dispersion of repolarization / O.G. Bernikova, A.V. Durkina, K.A. Sedova, J.E. Azarov // *J Physiol Pharmacol.* – 2021. – Vol. 72, № 5. – P. 691-697.

32. Bhullar, S.K. Store-operated calcium channels: potential target for the therapy of hypertension / S.K. Bhullar, A.K. Shah, N.S. Dhalla // *Rev Cardiovasc Med.* 2019. – Vol. 20, № 3. – P. 139-151.

33. Bird, G.S. Calcium Entry Channels in Non-Excitable Cells (Chapter 16: Pharmacology of Store-Operated Calcium Entry Channels) / G.S. Bird, J.W. Putney Jr., co-edited by J.A. Kozak. – CRC Press/Taylor & Francis. – 2018. – 327 p.

34. Bodnar, D. STIM-TRP pathways and microdomain organization:  $\text{Ca}^{2+}$  influx channels: the Orai-STIM1-TRPC complexes / D. Bodnar, W.Y. Chung, D.

Yang, J.H. Hong, A. Jha, S. Muallem // *Adv Exp Med Biol.* – 2017. – Vol. 993. – P. 139-157.

35. Bonilla, I.M. Enhancement of cardiac store operated calcium entry (SOCE) within novel intercalated disk microdomains in arrhythmic disease [Электронный ресурс] / I.M. Bonilla, A.E. Belevych, S. Baine, A. Stepanov, L. Mezache, T. Vodnar, B. Liu, P. Volpe, S. Priori, N. Weisleder, G. Sakuta, C.A. Carnes, P.B. Radwański, R. Veeraraghavan, S. Gyorke // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-46427-x>.

36. Bootman, M.D. Tissue specificity: store-operated  $Ca^{2+}$  entry in cardiac myocytes / M.D. Bootman, K. Rietdorf // *Adv Exp Med Biol.* – 2017. – Vol. 993. – P. 363-387.

37. Boonstra, M.J. Modeling the His-Purkinje Effect in Non-invasive Estimation of Endocardial and Epicardial Ventricular Activation / M.J. Boonstra, R.W. Roudijk, R. Brummel, W. Kassenberg, L.J. Blom, T.F. Oostendorp, A.S.J.M. Te Riele, J.F. van der Heijden, F.W. Asselbergs, P. Loh, P.M. van Dam // *Ann Biomed Eng.* – 2022. – Vol. 50, № 3. – P.: 343-359.

38. Boycott, H.E. Nitric Oxide and Mechano-Electrical Transduction in Cardiomyocytes [Электронный ресурс] / H.E. Boycott, M.N. Nguyen, B. Vrellaku, K. Gehmlich, P. Robinson // *Front Physiol.* – 2020. – Vol. 11. – 606740. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7770138/pdf/fphys-11-606740.pdf>.

39. Bussek, A. Tissue slices from adult mammalian hearts as a model for pharmacological drug testing / A. Bussek, E. Wettwer, T. Christ, H. Lohmann, P. Camelliti, U. Ravens // *Cell Physiol Biochem.* – 2009. – Vol. 24, № 5-6. – P. 527-536.

40. Cacheux, M. Cardiomyocyte-specific STIM1 (Stromal interaction molecule 1) depletion in the adult heart promotes the development of arrhythmogenic discordant alternans [Электронный ресурс] / M. Cacheux, B. Strauss, N. Raad, Z.

Ilkan, J. Hu, L. Benard, S. Feske, J.S. Hulot, F.G. Akar // *Circ Arrhythm Electrophysiol.* – 2019. – Vol. 12, № 11. – Режим доступа: [https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCEP.119.007382?rfr\\_dat=cr\\_pub++0pubmed&url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org](https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCEP.119.007382?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org).

41. Callaghan, N. Gramolini Functional culture and in vitro genetic and small-molecule manipulation of adult mouse cardiomyocytes [Электронный ресурс] / N. Callaghan, S.-H. Lee, S. Hadipour-Lakmehsari, X.A. Lee, M.A. Siraj, A. Driouchi, C.M. Yip, M. Husain, C.A. Simmons, A.O. // *Commun Biol.* – 2020. – Vol. 3. – 229. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s42003-020-0946-9>.

42. Campos, F.O. Characterizing the clinical implementation of a novel activation-repolarization metric to identify targets for catheter ablation of ventricular tachycardias using computational models / F.O. Campos, M. Orini, P. Taggart, B. Hanson, P.D. Lambiase, B. Porter, C.A. Rinaldi, J. Gill, M.J. Bishop // *Comput Biol Med.* – 2019. – Vol. 108. – P. 263-275.

43. Cantwell, C.D. Techniques for automated local activation time annotation and conduction velocity estimation in cardiac mapping / C.D. Cantwell, C.H. Roney, F.S. Ng, J.H. Siggers, S.J. Sherwin, N.S. Peters // *Comput Biol Med.* – 2015. – Vol. 65. – P. 229-242.

44. Carbone, F. Neutrophil-related oxidants drive heart and brain remodeling after ischemia/reperfusion injury [Электронный ресурс] / F. Carbone, A. Bonaventura, F. Montecucco // *Front Physiol.* – 2020. – Vol. 10. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.01587/full>.

45. Čendula, R. Changes in STIM isoforms expression and gender-specific alterations in Orai expression in human heart failure [Электронный ресурс] / R. Čendula, M. Dragún, A. Gažová, J. Kyselovič, M. Hulman, M. Mát'uš // *Physiol Res.* – 2019. – Vol. 68 (Suppl 2). – Режим доступа: [http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/68/68\\_S165.pdf](http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/68/68_S165.pdf).

46. Chen, T.X. Hydrogen peroxide is a critical regulator of the hypoxia-induced alterations of store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry into rat pulmonary arterial smooth muscle cells [Электронный ресурс] / T.X. Chen, X.Y. Xu, Z. Zhao, F.Y. Zhao, Y.M. Gao, X.H. Yan, Y. Wan // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. – 2017. – Vol. 312, № 4. –

Режим

доступа:

[https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajplung.00138.2016?rfr\\_dat=cr\\_pub+0pubmed&url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org](https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajplung.00138.2016?rfr_dat=cr_pub+0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org).

47. Chen, X. Transient receptor potential canonical (TRPC) channels: then and now [Электронный ресурс] / X. Chen, G. Sook, I.S. Demaree, F.A. White, A.G. Obukhov // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 9. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/9/1983>.

48. Chen, L. Ventricular voltage-gated ion channels: Detection, characteristics, mechanisms, and drug safety evaluation [Электронный ресурс] / L. Chen, Y. He, X. Wang, J. Ge, H. Li // *Clin Transl Med*. – 2021. – Vol. 11, № 10. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8516344/>.

49. Chubinskiy-Nadezhdin, V.I. Local calcium signalling is mediated by mechanosensitive ion channels in mesenchymal stem cells / V.I. Chubinskiy-Nadezhdin, V.Y. Vasileva, N.A. Pugovkina, I.O. Vassilieva, E.A. Morachevskaya, N.N. Nikolsky, Y.A. Negulyaev // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2017. – Vol. 482, № 4. – P. 563-568.

50. Collins, H.E. Novel role of the ER/SR  $\text{Ca}^{2+}$  sensor STIM1 in the regulation of cardiac metabolism / H.E. Collins, B.M. Pat, L. Zou, S.H. Litovsky, A.R. Wende, M.E. Young, J.C. Chatham // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2019. – Vol. 316, №

5.

–

Режим

доступа:

[https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpheart.00544.2018?rfr\\_dat=cr\\_pub+0pubmed&url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org](https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpheart.00544.2018?rfr_dat=cr_pub+0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org).

51. Dale, P. Selective inhibition of histamine-evoked  $Ca^{2+}$  signals by compartmentalized cAMP in human bronchial airway smooth muscle cells / P. Dale, V. Head, M.R. Dowling, C.W. Taylor // *Cell Calcium*. – 2018. – Vol. 71. – P. 53-64.

52. de Bakker, J.M.T. Excitability and propagation of the electrical impulse in Venus flytrap; a comparative electrophysiological study of unipolar electrograms with myocardial tissue / J.M.T. de Bakker, C.N.W. Belterman, R. Coronel // *Bioelectrochemistry*. – 2021. – Vol. 140. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567539421000736?via%3Dihub>.

53. Desplantez, T. Cardiac Cx43, Cx40 and Cx45 co-assembling: involvement of connexins epitopes in formation of hemichannels and Gap junction channels [Электронный ресурс] / T. Desplantez // *BMC Cell Biol*. – 2017. – Vol. 18 (Suppl 1). – Режим доступа: <https://bmcmolcellbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12860-016-0118-4>.

54. Desplat, A. Piezo1-Pannexin1 complex couples force detection to ATP secretion in cholangiocytes [Электронный ресурс] / A. Desplat, V. Penalba, E. Gros, T. Parpaite, B. Coste, P. Delmas // *J Gen Physiol*. – 2021. – Vol. 153, № 12. – Режим доступа: <https://rupress.org/jgp/article/153/12/e202112871/212722/Piezo1-Pannexin1-complex-couples-force-detection>.

55. Dhein, S. Remodeling of cardiac gap junctional cell-cell coupling [Электронный ресурс] / S. Dhein, A. Salameh // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, № 9. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/9/2422>.

56. Dobrydneva, Y. 2-Aminoethoxydiphenyl borate directly inhibits store-operated calcium entry channels in human platelets / Y. Dobrydneva, P. Blackmore // *Mol Pharmacol*. – 2001. – Vol. 60, № 3. – P. 541-552.

57. Dor-Haim, H. Intensive exercise training improves cardiac electrical stability in myocardial-infarcted rats [Электронный ресурс] / H. Dor-Haim, C. Lotan, M. Horowitz, M. Swissa // *J Am Heart Assoc*. – 2017. – Vol. 6, № 7. – Режим

доступа:[https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/JAHA.117.005989?rfr\\_dat=cr\\_pub++0pubmed&url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org](https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/JAHA.117.005989?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org).

58. Douguet, D. Mammalian mechanoelectrical transduction: structure and function of force-gated ion channels / D. Douguet, E. Honoré // *Cell*. – 2019. – Vol. 179, № 2. – P. 340-354.

59. Eisner D.A. Ups and downs of calcium in the heart / D.A. Eisner // *J Physiol*. – 2018. – Vol. 596, № 1. – P. 19-30.

60. Emrich S.M. Cross-talk between N-terminal and C-terminal domains in stromal interaction molecule 2 (STIM2) determines enhanced STIM2 sensitivity / S.M. Emrich, R.E. Yoast, P. Xin, X. Zhang, T. Pathak, R. Nwokonko, M.F. Gueguinou, K.P. Subedi, Y. Zhou, I.S. Ambudkar, N. Hempel, K. Machaca, D.L. Gill, M. Trebak // *J Biol Chem*. – 2019. – Vol. 294, № 16. – P. 6318-6332.

61. Engelmann T.W. Ueber die leitung der erregung im herzmuskel [Электронный ресурс] / T.W. Engelmann // *Pflüger Arch*. – 1875. – 11. – Режим доступа: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF01659313.pdf>.

62. Ezeani M. TRP channels mediated pathological Ca<sup>2+</sup>-handling and spontaneous ectopy [Электронный ресурс] / M. Ezeani // *Front Cardiovasc Med*. – 2019. – Vol. 6. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6595228/pdf/fcvm-0600083.pdf>

63. Fedele, L. The Intrinsic Cardiac Nervous System and Its Role in Cardiac Pacemaking and Conduction [Электронный ресурс] / L. Fedele, T. Brand // *J. Cardiovasc. Dev. Dis*. – 2020. – Vol. 7, № 4. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7712215/pdf/jcdd-07-00054.pdf>.

64. Ferencik, M. Unravelling the coronary artery calcium paradox: benefits of plaques of stone / M. Ferencik, R. Blankstein, K. Nasir // *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. – 2019. – Vol. 20, № 11. – P. 1305-1306.

65. Fernandez-Fernandez, A. Chemotherapy-Induced Changes in Cardiac Capillary Permeability Measured by Fluorescent Multiple Indicator Dilution / A.

Fernandez-Fernandez, D.A. Carvajal, T. Lei, A.J. McGoron // *Ann Biomed Eng.* – 2014. – Vol. 42, № 12. – P. 2405-2415.

66. Gao, Y.Y. Canonical transient receptor potential channels and their modulators: biology, pharmacology and therapeutic potentials / Y.Y. Gao, W. Tian, H.N. Zhang, Y. Sun, J.R. Meng, W. Cao, X.Q. Li // *Arch Pharm Res.* – 2021. – Vol. 44, № 4. – P. 354-377.

67. Garcia, S.M. Coupling of store-operated calcium entry to vasoconstriction is acid-sensing ion channel 1a dependent in pulmonary but not mesenteric arteries / S.M. Garcia, L.M. Herbert, B.R. Walker, T.C. Resta, N.L. Jernigan // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, № 7. – Режим доступа: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0236288>.

68. George, S.A. Simultaneous triple-parametric optical mapping of transmembrane potential, intracellular calcium and NADH for cardiac physiology assessment [Электронный ресурс] / S.A. George, Z. Lin, I.R. Efimov // *Commun Biol.* – 2022. – Vol. 5. – 319. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s42003-022-03279-y>.

69. Golovko, V.A. Characterization of changes in the configuration of action potentials in the mouse, guinea pig, and pig sinoauricular node after application of channel blockers of the rapid and slow delayed rectifier potassium currents / V.A. Golovko, A.V. Kozlovskaya, M.A. Gonotkov // *J Physiol Pharmacol.* – 2019. – Vol. 70, № 3. – С. 449-453.

70. Gottlieb, L.A. Localized Pulmonary Vein Scar Promotes Atrial Fibrillation in High Left Atrial Pressure [Электронный ресурс] / L.A. Gottlieb, F. Vaillant, E. Abell, C. Belterman, V. Loyer, D. El Hamrani, J. Naulin, M. Constantin, B. Quesson, B.J. Boukens, R. Coronel, L.R.C. Dekker // *Front Physiol.* – 2021. – Vol. 12. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.709844/full>.

71. Gudlur, A. The STIM-Orai Pathway: Orai, the Pore-Forming Subunit of the CRAC Channel / A. Gudlur, P.G. Hogan // *Adv Exp Med Biol.* – 2017. – Vol. 993. – P. 39-57.

72. Guo, J. TRPP2 and STIM1 form a microdomain to regulate store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry and blood vessel tone [Электронный ресурс] / J. Guo, R. Zhao, M. Zhou, J. Li, X. Yao, J. Du, J. Chen, B. Shen // *Cell Commun Signal.* – 2020. – Vol. 18, № 1. – Режим доступа:[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7457527/pdf/12964\\_2020\\_Article\\_560.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7457527/pdf/12964_2020_Article_560.pdf).

73. Gusev, K.O. Store-Operated Calcium Entry in Mouse Cardiomyocytes / K.O. Gusev, V.V. Vigont, D.A. Grekhnev, A.V. Shalygin, L.N. Glushankova, E.V. Kaznacheeva // *Bull Exp Biol Med.* – 2019. – Vol. 167, № 3. – P. 311-314.

74. Halbach, M. Estimation of action potential changes from field potential recordings in multicellular mouse cardiac myocyte cultures / M. Halbach, U. Egert, J. Hescheler, K. Banach // *Cell Physiol Biochem.* – 2003. – Vol. 13, №5. – P. 271-284.

75. Han, B. Cardiac Conduction Velocity, Remodeling and Arrhythmogenesis / B. Han, M.L. Trew, C.M. Zgierski-Johnston [Электронный ресурс] // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, № 11. – 2923. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8616078/>.

76. Hayes, H.B. Novel method for action potential measurements from intact cardiac monolayers with multiwell microelectrode array technology [Электронный ресурс] / H.B. Hayes, A.M. Nicolini, C.A. Arrowood, S.A. Chvatal, D.W. Wolfson, H.C. Cho, D.D. Sullivan, J. Chal, B. Fermini, M. Clements, J.D. Ross, D.C. Millard // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-48174-5>.

77. He, F. Suppression of Stim1 reduced intracellular calcium concentration and attenuated hypoxia/reoxygenation induced apoptosis in H9C2 cells [Электронный ресурс] / F. He, Q. Wu, B. Xu, X. Wang, J. Wu, L. Huang, J. Cheng // *Biosci Rep.* – 2017. – Vol. 37, № 6. – Режим доступа:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5700273/pdf/bsr-37-bsr20171249.pdf>.

78. He, X. TDCPP protects cardiomyocytes from hypoxia-reoxygenation injury induced apoptosis through mitigating calcium overload and promotion GSK-3 $\beta$  phosphorylation / X. He, S. Li, X. Fang, Y. Liao // *Regul Toxicol Pharmacol.* – 2018. – Vol. 92. – P.39-45.

79. Hegyi, B. Mechanoelectric coupling and arrhythmogenesis in cardiomyocytes contracting under mechanical afterload in a 3D viscoelastic hydrogel [Электронный ресурс] / B. Hegyi, R. Shimkunas, Z. Jian, L.T. Izu, D.M. Bers, Y. Chen-Izu // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2021. – Vol. 118, № 31. – Режим доступа: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2108484118>.

80. Herrera-Pérez, S. Contribution of K2P Potassium Channels to Cardiac Physiology and Pathophysiology [Электронный ресурс] / S. Herrera-Pérez, A. Campos-Ríos, L. Rueda-Ruzafa, J.A. Lamas // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 12. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/12/6635>.

81. Heusch G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective / Heusch G. // *Nat Rev Cardiol.* – 2020. – Vol. 17, № 12. – P. 773-789.

82. Himmel, H.M. Field and action potential recordings in heart slices: correlation with established in vitro and in vivo models / H.M. Himmel, A. Bussek, M. Hoffmann, R. Beckmann, H. Lohmann, M. Schmidt, E. Wettwer // *Br J Pharmacol.* – 2012. – Vol. 166, № 1. – P. 276-296.

83. Hof, T. Transient receptor potential channels in cardiac health and disease / T. Hof, S. Chaigne, A. Récalde, L. Sallé, F. Brette, R. Guinamard // *Nat Rev Cardiol.* – 2019. – Vol. 16, № 6. – P. 344-360.

84. Hoyt, R.H. Distribution and three-dimensional structure of intercellular junctions in canine myocardium / R.H. Hoyt, M.L. Cohen, J.E Saffitz // *Circ Res.* – 1989. – Vol. 64, № 3. – P. 563–574.

85. Htet, M. Connexin 43 Plays a Role in Pulmonary Vascular Reactivity in Mice / M. Htet, J.E. Nally, A. Shaw, B.E. Foote, P.E. Martin, Y. Dempsie [Электронный ресурс] // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 7. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6073802/>.

86. Hu, Q. Location and function of transient receptor potential canonical channel 1 in ventricular myocytes / Q. Hu, A.A. Ahmad, T. Seidel, C. Hunter, M. Streiff, L. Nikolova, K.W. Spitzer, F.B. Sachse // *J Mol Cell Cardiol.* – 2020. – Vol. 139. – P:113-123.

87. Ilkan, Z. Evidence for shear-mediated  $Ca^{2+}$  entry through mechanosensitive cation channels in human platelets and a megakaryocytic cell line / Z. Ilkan, J.R. Wright, A.H. Goodall, J.M. Gibbins, C.I. Jones, M.P. Mahaut-Smith // *J Biol Chem.* – 2017. – Vol. 292, № 22. – P. 9204-9217.

88. Imboden, M. High-speed mechano-active multielectrode array for investigating rapid stretch effects on cardiac tissue [Электронный ресурс] / M. Imboden, E. de Coulon, A. Poulin, C. Dellenbach, S. Rosset, H. Shea, S. Rohr // *Nat Commun.* – 2019. – Vol. 10, № 1. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41467-019-08757-2>.

89. Iravanian, S. Generation of Monophasic Action Potentials and Intermediate Forms / S. Iravanian, I. Uzelac, C. Herndon, J.J. Langberg, F.H. Fenton // *Biophys J.* – 2020. – Vol. 119, № 2. – P. 460-469.

90. Izu, L. T. Mechano-electric and mechano-chemo-transduction in cardiomyocytes / L. T. Izu, P. Kohl, P. A. Boyden, M. Miura, T. Banyasz, N. Chiamvimonvat, N. Trayanova, D. M. Bers, Y. Chen-Izu // *J Physiol.* – 2020. – Vol. 598, № 7. – P. 1285-1305.

91. Ji, J. Cardiac Cell Patterning on Customized Microelectrode Arrays for Electrophysiological Recordings [Электронный ресурс] / J. Ji, X. Ren, P. Zorlutuna // *Micromachines.* – 2021. – Vol. 12, № 11. – P. 1351. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8619285/>.

92. Johnston, B.M. Approaches for determining cardiac bidomain conductivity values: progress and challenges / B.M. Johnston, P.R. Johnston // *Med Biol Eng Comput.* – 2020. – Vol. 58, № 12. – P.: 2919-2935.

93. Jouen-Tachoire, T.R.H. Ion channels as convergence points in the pathology of pulmonary arterial hypertension / T.R.H. Jouen-Tachoire, S.J. Tucker, P. Tammaro // *Biochem Soc Trans.* – 2021. – Vol. 49, № 4. – P. 1855-1865.

94. Jung, A. Electromechanical modelling and simulation of hiPSC-derived cardiac cell cultures. Extended Abstract of Doctoral (Engineering & allied operations) Dissertation, Essen, Universität Duisburg-Essen Publ., 2021. – 135 p. (in English).

95. Jungen, C. Disruption of cardiac cholinergic neurons enhances susceptibility to ventricular arrhythmias [Электронный ресурс] / C. Jungen, K. Scherschel, C. Eickholt, P. Kuklik, N. Klatt, N. Bork, T. Salzbrunn, F. Alken, S. Angendohr, C. Klene, J. Mester, N. Klöcker, M.W. Veldkamp, U. Schumacher, S. Willems, V.O. Nikolaev, C. Meyer // *Nat Commun.* – 2017. – Vol. 8. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/ncomms14155>.

96. Jungen, C. Impact of Intracardiac Neurons on Cardiac Electrophysiology and Arrhythmogenesis in an Ex Vivo Langendorff System [Электронный ресурс] / C. Jungen, K. Scherschel, N.I. Bork, P. Kuklik, C. Eickholt, H. Kniep, N. Klatt, S. Willems, V.O. Nikolaev, C. Meyer // *J Vis Exp.* – 2018. – Vol. 135. - Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6101334/pdf/jove-135-57617.pdf>.

97. Kamkin, A. Stretch-activated currents in ventricular myocytes: amplitude and arrhythmogenic effects increase with hypertrophy / A. Kamkin, I. Kiseleva, G. Isenberg // *Cardiovasc Res.* – 2000. – Vol. 48, № 3. – P. 409-420.

98. Kamkin, A. Ion selectivity of stretch-activated cation currents in mouse ventricular myocytes / A. Kamkin, I. Kiseleva, G. Isenberg // *Pflugers Arch.* – 2003. – Vol. 446, № 2. – P.220-231.

99. Kamkin, A. Single mechano-gated channels activated by mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts from rats / A Kamkin, S Kirischuk, I. Kiseleva // *Acta Physiol (Oxf)*. – 2010. – Vol. 199, № 3. – P. 277-292.

100. Kamkin, A. The role of activation of two different sGC binding sites by NO-dependent and NO-independent mechanisms in the regulation of SACs in rat ventricular cardiomyocytes [Электронный ресурс] / O. Kamkina, A. Shim, A. Bilichenko, V. Mitrokhin, V. Kazansky, T. Filatova, D. Abramochkin, M. Mladenov // *Physiol Rep*. – 2022. – Vol. 10, № 7. – e15246. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8981922/>.

101. Kappadan, V. High-Resolution Optical Measurement of Cardiac Restitution, Contraction, and Fibrillation Dynamics in Beating vs. Blebbistatin-Uncoupled Isolated Rabbit Hearts [Электронный ресурс] / V. Kappadan, S. Telele, I. Uzelac, F. Fenton, U. Parlitz, S. Luther, J. Christoph // *Front Physiol*. – 2020. – Vol. 11. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7264405/pdf/fphys-11-00464.pdf>.

102. Kaur, S. Stretch modulation of cardiac contractility: importance of myocyte calcium during the slow force response / S. Kaur, X. Shen, A. Power, M.L. Ward // *Biophys Rev*. – 2020. – Vol. 12, № 1. – P. 135-142.

103. Kharkovskaia, E.E. Application of Multielectrode Mapping to Assess the Effect of Mechanical Right Atrium Distension on the Work of the Isolated Rat Heart / E.E. Kharkovskaia, A.A. Kulikova, R.D. Kataev, O.V. Drugova, V.A. Kostin, I.V. Mukhina, G.V. Osipov // *Modern Technologies in Medicine*. – 2018. – Vol. 10, № 4. – P. 113-121.

104. Kharkovskaya, E.E. Effect of Mechanical Stretching of the Right Atrium of Isolated Rat Heart on Dispersion of Repolarization before Fibrillation / E.E. Kharkovskaya, O.V. Drugova, G.V. Osipov, I.V. Mukhina // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2020. – Vol. 169, № 4. – P. 438-440.

105. Kharkovskaya, E.E. Ventricular fibrillation induced by 2-aminoethoxydiphenyl borate under conditions of hypoxia/reoxygenation / E.E. Kharkovskaya, G.V. Osipov, I.V. Mukhina // *Minerva Cardioangiol.* – 2020. – Vol. 68, № 6. – P. 619-628.

106. Kiss, E. The Structural and the Functional Aspects of Intercellular Communication in iPSC-Cardiomyocytes [Электронный ресурс] / E. Kiss, C. Fischer, J.M. Sauter, J. Sun, N.D. Ullrich // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 8. – 4460. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/8/4460/htm>.

107. Kléber, A.G. Coupling between cardiac cells-An important determinant of electrical impulse propagation and arrhythmogenesis [Электронный ресурс] / A.G. Kléber, Q. Jin // *Biophys Rev.* – 2021. Vol. 2, № 3. – Режим доступа: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8281002/pdf/BRIEIM-000002-031301\\_1.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8281002/pdf/BRIEIM-000002-031301_1.pdf).

108. Klesen, A. Cardiac fibroblasts: Active players in (atrial) electrophysiology? / A. Klesen, D. Jakob, R. Emig, P. Kohl, U. Ravens, R. Peyronnet // *Herzschrittmacherther Elektrophysiol.* – 2018. – Vol. 29, № 1. – P. 62-69.

109. Kohutova, J. Anti-arrhythmic Cardiac Phenotype Elicited by Chronic Intermittent Hypoxia Is Associated With Alterations in Connexin-43 Expression, Phosphorylation, and Distribution [Электронный ресурс] / J. Kohutova, B. Elsnicova, K. Holzerova, J. Neckar, O. Sebesta, J. Jezkova, M. Vecka, P. Vebr, D. Hornikova, B. Szeiffova Bacova, T. Egan Benova, M. Hlavackova, N. Tribulova, F. Kolar, O. Novakova, J.M. Zurmanova // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2019. – Vol. 9. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2018.00789/full>.

110. Kojima, A. Ca<sup>2+</sup> paradox injury mediated through TRPC channels in mouse ventricular myocytes / A. Kojima, H. Kitagawa, M. Omatsu-Kanbe, H. Matsuura, S Nosaka // *Br J Pharmacol.* – 2010. – Vol. 161, № 8. – P. 1734-1750.

111. Körner, A. Substrate Stiffness Influences Structural and Functional Remodeling in Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes [Электронный ресурс] / A. Körner, M. Mosqueira, M. Hecker, N.D. Ullrich // Front Physiol. – 2021. – Vol. 12. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.710619/full>.

112. Kosta, S. Frank-Starling mechanism, fluid responsiveness, and length-dependent activation: Unravelling the multiscale behaviors with an *in silico* analysis [Электронный ресурс] / S. Kosta, P.C. Dauby // PLoS Comput Biol. – 2021. – Vol. 17, № 10. – Режим доступа: <https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1009469>.

113. Kotadia, I. Anisotropic Cardiac Conduction / I. Kotadia, J. Whitaker, C. Roney, S. Niederer, M. O'Neill, M. Bishop, M. Wright // Arrhythm Electrophysiol Rev. – 2020. – Vol. 9, № 4. – P.: 202-210.

114. Kuhtz-Buschbeck, J.P. Mechanosensitivity: From Aristotle's sense of touch to cardiac mechano-electric coupling / J.P. Kuhtz-Buschbeck, J. Schaefer, N. Wilder // Prog Biophys Mol Biol. – 2017. – Vol.130 Pt B. – P. 126-131.

115. Kussauer, S. hiPSCs Derived Cardiac Cells for Drug and Toxicity Screening and Disease Modeling: What Micro- Electrode-Array Analyses Can Tell Us [Электронный ресурс] / S. Kussauer, R. David, H. Lemcke // Cells. – 2019. – Vol. 8, № 11. – 1331. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6912416/>.

116. Lab, M.J. Mechanoelectric feedback (transduction) in heart: concepts and implications / M.J. Lab // Cardiovasc Res. – 1996. – Vol. 32, № 1. – P. 3-14.

117. Ladas, T.P. Fundamentals of Cardiac Mapping / T.P. Ladas, A. Sugrue, J. Nan, V.R. Vaidya, D. Padmanabhan, K.L. Venkatachalam, S.J. Asirvatham // Card Electrophysiol Clin. – 2019. – Vol. 11, № 3. – P. 433-448.

118. Lane, J.D. Tissue-Level Cardiac Electrophysiology Studied in Murine Myocardium Using a Microelectrode Array: Autonomic and Thermal Modulation / J.D. Lane, D. Montaigne, A. Tinker // *J Membr Biol.* – 2017. – Vol. 250, № 5. – P. 471-481.

119. Lewis, T. The excitatory process in the dog's heart, II: the ventricles / T. Lewis, M.A. Rothschild // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 1915. – Vol. 206. – P. 181-226.

120. Lewis, R.S. Store-Operated Calcium Channels: From Function to Structure and Back Again [Электронный ресурс] / R.S. Lewis // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology.* – 2020. – Vol. 12, № 5. – Режим доступа: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/12/5/a035055.long>.

121. Li, X. Oxygen homeostasis and cardiovascular disease: A role for HIF? [Электронный ресурс] / X. Li, Q. Zhang, M.I. Nasser, L. Xu, X. Zhang, P. Zhu, Q. He, M. Zhao // *Biomed Pharmacother.* – 2020. – Vol. 128. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S075333222030531X?via%3Dihub>.

122. Liang, X. Development of Store-Operated Calcium Entry-Targeted Compounds in Cancer [Электронный ресурс] / X. Liang, N. Zhang, H. Pan, J. Xie, W. Han // *Front Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.688244/full>.

123. Lilliu, E. Store-Operated Calcium Entry in Skeletal Muscle: What Makes It Different? [Электронный ресурс] / E. Lilliu, S. Koenig, X. Koenig, M. Frieden // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, № 9. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/9/2356/htm>.

124. Liou, J. STIM is a Ca<sup>2+</sup> sensor essential for Ca<sup>2+</sup>-store-depletion-triggered Ca<sup>2+</sup> influx / J. Liou, M. L. Kim, W.D. Heo, J.T. Jones, J.W. Myers, J.E. Ferrell, T. Jr Meyer // *Curr Biol.* – 2005. – Vol. 15, № 13. – P. 1235-1241.

125. Liu, H. Role of gap junctions in the contractile response to agonists in the mesenteric resistance artery of rats with acute hypoxia / H. Liu, X.Z. Li, M. Peng, W. Ji, L. Zhao, L. Li, L. Zhang, J.Q. Si, K.T. Ma // *Mol Med Rep.* – 2017. – Vol. 15, № 4. – P. 1823-1831.

126. Liu, H. Heart-on-a-Chip Model with Integrated Extra- and Intracellular Bioelectronics for Monitoring Cardiac Electrophysiology under Acute Hypoxia / H. Liu, O.A. Bolonduro, N. Hu, J. Ju, A.A. Rao, B.M. Duffy, Z. Huang, L.D. Black, B.P. Timko // *Nano Lett.* – 2020. – Vol. 20, № 4. – P. 2585-2593.

127. Lunz, V. STIM1 activation of Orail / V. Lunz, C. Romanin, I. Frischauf // *Cell Calcium.* – 2019. – Vol. 77. – P. 29-38.

128. Luo, A. Wenxin Keli diminishes  $Ca^{2+}$  overload induced by hypoxia/reoxygenation in cardiomyocytes through inhibiting  $I_{NaL}$  and  $I_{CaL}$  / A. Luo, Z. Liu, Z. Cao, J. Hao, L. Wu, C. Fu, M. Zeng, W. Jiang, P. Zhang, B. Zhao, T. Zhao, J. Zhao, J. Ma // *Pacing Clin Electrophysiol.* – 2017. – Vol. 40, № 12. – P. 1412-1425.

129. Luo, R. Targeting Orail-Mediated Store-Operated  $Ca^{2+}$  Entry in Heart Failure [Электронный ресурс] / R. Luo, A.M. Gomez, J.P. Benitah, J. Sabourin // *Front Cell Dev Biol.* – 2020. – Vol. 8. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2020.586109/full>.

130. Macdonald, W.A. Hool LC. The effect of acute hypoxia on excitability in the heart and the L-type calcium channel as a therapeutic target / W.A. Macdonald, L.C. Hool // *Curr Drug Discov Technol.* – 2008. – Vol. 5, № 4. – P. 302-311.

131. MacDonald, E.A. What keeps us ticking? Sinoatrial node mechanosensitivity: the grandfather clock of cardiac rhythm / E.A. MacDonald, T.A. Quinn // *Biophys Rev.* – 2021. – Vol. 13, № 5. – P. 707-716.

132. Martin, C.A. Assessment of a conduction-repolarisation metric to predict Arrhythmogenesis in right ventricular disorders / C.A. Martin, M. Orini, N.T. Srinivasan, J. Bhar-Amato, S. Honarbakhsh, A.W. Chow, M.D. Lowe, R. Ben-Simon,

P.M. Elliott, P. Taggart, P.D. Lambiase // *Int J Cardiol.* – 2018. – Vol. 271. – P. 75-80.

133. Maruyama T. 2APB, 2-aminoethoxydiphenyl borate, a membrane-penetrable modulator of Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-induced Ca<sup>2+</sup> release / T. Maruyama, T. Kanaji, S. Nakade, T. Kanno, K. Mikoshiba // *J Biochem.* – 1997. – Vol. 122, № 3. – P. 498-505.

134. Melle, G. Intracellular Recording of Human Cardiac Action Potentials on Market-Available Multielectrode Array Platforms [Электронный ресурс] / G. Melle, G. Bruno, N. Maccaferri, G. Iachetta, N. Colistra, A. Barbaglia, M. Dipalo, F. De Angelis // *Front Bioeng Biotechnol.* – 2020. – Vol. 8. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7039818/pdf/fbioe-08-00066.pdf>.

135. Minato, H. Pretreatment with cilnidipine attenuates hypoxia/reoxygenation injury in HL-1 cardiomyocytes through enhanced NO production and action potential shortening / H. Minato, I. Hisatome, Y. Kurata, T. Notsu, N. Nakasone, H. Ninomiya, T. Hamada, T. Tomomori, A. Okamura, J. Miake, M. Tsuneto, Y. Shirayoshi, R. Endo, A. Otsuki, F. Okada, Y. Inagaki // *Hypertens Res.* – 2020. – Vol. 43, № 5. – P. 380-388.

136. Mladěnka, P. TOX-OER and CARDIOTOX Hradec Králové Researchers and Collaborators. Comprehensive review of cardiovascular toxicity of drugs and related agents / P. Mladěnka, L. Applová, J. Patočka, V.M. Costa, F. Remiao, J. Pourová, A. Mladěnka, J. Karlíčková, L. Jahodář, M. Vopršalová, K.J. Varner, M. Štěrba // *Med Res Rev.* – 2018. – Vol. 38, №4. – P. 1332-1403.

137. Mohis, M. Aging-related increase in store-operated Ca<sup>2+</sup> influx in human ventricular fibroblasts / M. Mohis, S. Edwards, S. Ryan, F. Rizvi, A.J. Tajik, A. Jahangir, G.R. Ross // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2018. – Vol. 315, №1. – P. H83-H91.

138. Morihara, H. 2-aminoethoxydiphenyl borate provides an anti-oxidative effect and mediates cardioprotection during ischemia reperfusion in mice [Электронный ресурс] / H. Morihara, M. Obana, S. Tanaka, I. Kawakatsu, D. Tsuchiyama, S. Mori, H. Suizu, A. Ishida, R. Kimura, I. Tsuchimochi, M. Maeda, T. Yoshimitsu, Y. Fujio, H. Nakayama // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, № 12 – Режим доступа:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5739451/pdf/pone.0189948.pdf>.

139. Mulier, M. TRP channel pores and local calcium signals / M. Mulier, J. Vriens, T. Voets // Cell Calcium. – 2017. – Vol. 66. – P. 19-24. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014341601730091X?via%3Dihub>.

140. Murthy, S.E. OSCA/TMEM63 are an Evolutionarily Conserved Family of Mechanically Activated Ion Channels [Электронный ресурс] / S.E. Murthy, A.E. Dubin, T. Whitwam, S. Jojoa-Cruz, S.M. Cahalan, S.A.R. Mousavi, A.B. Ward, A. Pataroutian // Elife. – 2018. – Vol. 7. – Режим доступа: <https://elifesciences.org/articles/41844>.

141. Nan, J. The interplay between mitochondria and store-operated Ca<sup>2+</sup> entry: Emerging insights into cardiac diseases / J. Nan, J. Li, Y. Lin, M. Saif Ur Rahman, Z. Li, L. Zhu // J Cell Mol Med. – 2021. – Vol. 25, №20. – P. 9496-9512.

142. Ng, F.S. Cardiac Mapping (Chapter 7: Fundamentals of Cardiac Mapping) / F.S. Ng, C. Roney, C.D. Cantwell, N.S. Peters co-edited by M. Shenasa, G. Hindricks, D.J. Callans, J.M. Miller, M.E. Josephson. – Wiley-Blackwell. – 2019. – 1295 p.

143. Njelic, A. Targeting Ca<sup>2+</sup> Handling Proteins for the Treatment of Heart Failure and Arrhythmias [Электронный ресурс] / A. Njelic, C. Wilson, E.J. Cartwright // Front Physiol. – 2020. – Vol. 11. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7498719/pdf/fphys-11-01068.pdf>.

144. O'Neill, L. Catheter Ablation in Persistent AF, the Evolution towards a More Pragmatic Strategy [Электронный ресурс] / L. O'Neill, J.Y. Wielandts, K.

Gillis, G. Hilfiker, J.B. Le Polain De Waroux, R. Tavernier, M. Duytschaever, S. Knecht // *J Clin Med.* – 2021. – Vol. 10, №18. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/18/4060/htm>.

145. Orini, M. Evaluation of the reentry vulnerability index to predict ventricular tachycardia circuits using high-density contact mapping / M. Orini, A.J. Graham, N.T. Srinivasan, F.O. Campos, B.M. Hanson, A. Chow, R.J. Hunter, R.J. Schilling, M. Finlay, M.J. Earley, S. Sporton, M. Dhinoja, M. Lowe, B. Porter, N. Child, C.A. Rinaldi, J. Gill, M. Bishop, P. Taggart, P.D. Lambiase // *Heart Rhythm.* – 2020. – Vol. 17, № 4. – P. 576-583.

146. Orini, M. Direct in vivo assessment of global and regional mechanoelectric feedback in the intact human heart / M. Orini, P. Taggart, A. Bhuvu, N. Roberts, C. Di Salvo, M. Yates, S. Badiani, S. Van Duijvenboden, G. Lloyd, A. Smith, P. D Lambiase // *Heart Rhythm.* – 2021. – Vol. 18, № 8. – P. 1406-1413.

147. Paccalet, A. An innovative sequence of hypoxia-reoxygenation on adult mouse cardiomyocytes in suspension to perform multilabeling analysis by flow cytometry / A. Paccalet, N. Tessier, M. Paillard, L. Païta, L. Gomez, N. Gallo-Bona, C. Chouabe, C. Léon, S. Badawi, Z. Harhous, M. Ovize, C. Crola Da Silva // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2020. – Vol. 318, № 2. –P. C439-C447.

148. Paci, M. Arrhythmia Mechanisms in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes / M. Paci, K. Penttinen, M. Pekkanen-Mattila, J.T. Koivumäki // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2020. – Vol. 77, № 3. – P. 300-316.

149. Pappone, C. Ventricular fibrillation ablation in cardiomyopathies and arrhythmic storm / C. Pappone, G. Negro, G. Ciconte // *Eur Heart J Suppl.* – 2021. – Vol. 23 (Suppl E). – P. E112-E117.

150. Parks, C. STIM1-dependent Ca(2+) microdomains are required for myofilament remodeling and signaling in the heart [Электронный ресурс] / C. Parks, M.A. Alam, R. Sullivan, S. Mancarella // *Sci Rep.* – 2016. – Vol. 6. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/srep25372.pdf>.

151. Patel, N. Ventricular fibrillation arrest after blunt chest trauma in a 33-year-old man, commotio cordis? [Электронный ресурс] / N. Patel, C. Pena, Z. Nesheiwat, F. Zafrullah, E. Eltahawy // BMC Cardiovasc Disord. – 2022. – Vol. 22, № 1. – Режим доступа: <https://bmccardiovascdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12872-022-02689-4>.

152. Peracchia C. Calmodulin-Mediated Regulation of Gap Junction Channels [Электронный ресурс] / C. Peracchia // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21, № 2. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7014422/pdf/ijms-21-00485.pdf>.

153. Petersen, C.E. Suppression of store-operated calcium entry causes dilated cardiomyopathy of the Drosophila heart [Электронный ресурс] / C.E. Petersen, M.J. Wolf, J.T. Smyth // Biol Open. – 2020. – Vol. 9, № 3. – Режим доступа: <https://journals.biologists.com/bio/article/9/3/bio049999/222762/Suppression-of-store-operated-calcium-entry-causes>.

154. Petrov, V. CardioModel – New Software for Cardiac Electrophysiology Simulation. In Supercomputing. RuSCDays 2018 / V. Petrov, S. Lebedev, A. Pirova, E. Vasilyev, A. Nikolskiy, V. Turlapov, I. Meyerov, G. Osipov co-edited by V. Voevodin, S. Sobolev // Communications in Computer and Information Science. – 2019. – Vol. 965. – P. 195-207.

155. Peyronnet, R. Editorial: Mechano-Calcium, Mechano-Electric, and Mechano-Metabolic Feedback Loops: Contribution to the Myocardial Contraction in Health and Diseases [Электронный ресурс] / R. Peyronnet, O. Solovyova, G. Iribe, L.B. Katsnelson // Front Physiol. – 2021. – Vol. 12. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8047467/>.

156. Proietti, R. Impact of a high-density grid catheter on long-term outcomes for structural heart disease ventricular tachycardia ablation / R. Proietti, R. Dowd, L.V. Gee, S. Yusuf, S. Panikker, S. Hayat, F. Osman, K. Patel, H. Salim, B. Aldhoon,

W. Foster, A. Merghani, M. Kuehl, P. Banerjee, N. Lellouche, T. Dhanjal // J Interv Card Electrophysiol. – 2021. – Vol. 62, № 3. – P. 519-529.

157. Quinn, T.A. Cardiac Mechano-Electric Coupling: Acute Effects of Mechanical Stimulation on Heart Rate and Rhythm / T.A. Quinn, P. Kohl // Physiol Rev. – 2021. Vol. 101, № 1. – P. 37-92.

158. Quintanilla, J.G. QRS duration reflects underlying changes in conduction velocity during increased intraventricular pressure and heart failure / J.G. Quintanilla, J. Moreno, T. Archondo, J.M. Alfonso-Almazán, J.M. Lillo-Castellano, E. Usandizaga, M.J. García-Torrent, C. Rodríguez-Bobada, P. González, L. Borrego, V. Cañadas-Godoy, J.J. González-Ferrer, N. Pérez-Castellano, J. Pérez-Villacastín, D. Filgueiras-Rama // Prog Biophys Mol Biol. – 2017. – Vol. 130 (Pt B). – P. 394-403.

159. Reyes, R.V. Revisiting the Role of TRP, Orai, and ASIC Channels in the Pulmonary Arterial Response to Hypoxia [Электронный ресурс] / R.V. Reyes, S. Castillo-Galán, I. Hernandez, E.A. Herrera, G. Ebensperger, A.J. Llanos // Front Physiol. – 2018. – Vol. 9. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.00486/full>.

160. Rodríguez-Sinovas, A. Connexins in the Heart: Regulation, Function and Involvement in Cardiac Disease [Электронный ресурс] / A. Rodríguez-Sinovas, J.A. Sánchez, L. Valls-Lacalle, M. Consegal, I. Ferreira-González // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22, № 9. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/9/4413>.

161. Rosenberg, P. SOCE and STIM1 signaling in the heart: Timing and location matter / P. Rosenberg, D. Katz, V. Bryson // Cell Calcium. – 2019. – Vol. 77. – P. 20-28.

162. Rosenberg, P. SOCE in the cardiomyocyte: the secret is in the chambers / P. Rosenberg, H. Zhang, V.G. Bryson, C. Wang // Pflugers Arch - Eur J Physiol. – 2021. – Vol. 473. – P. 417–434.

163. Ross, G.R. Enhanced store-operated Ca<sup>2+</sup> influx and ORAI1 expression in ventricular fibroblasts from human failing heart / G.R. Ross, T. Bajwa, S. Edwards, L.

Emelyanova, F. Rizvi, E.L. Holmuhamedov, P. Werner, F.X. Downey, A. J. Tajik, A. Jahangir // Biol Open. – 2017. – Vol. 6, № 3. – P. 326-332.

164. Sabourin, J. Ca<sup>2+</sup> handling remodeling and STIM1L/Orai1/TRPC1/TRPC4 upregulation in monocrotaline-induced right ventricular hypertrophy / J. Sabourin, A. Boet, C. Rucker-Martin, M. Lambert, A.M. Gomez, J.P. Benitah, F. Perros, M. Humbert, F. Antign // J Mol Cell Cardiol. – 2018. – Vol. 118. – P. 208-224.

165. Sachs F. Mechanical Transduction and the Dark Energy of Biology / F. Sachs // Biophys J. – 2018. – Vol. 114, № 1. – P. 3-9.

166. Salameh, A. Effects of Hypoxia and Acidosis on Cardiac Electrophysiology and Hemodynamics. Is NHE-InhИМПtion by Cariporide Still Advantageous? [Электронный ресурс] / A. Salameh, H. Zöbisch, B. Schröder, J. Vigelahn, M. Jahn, G. Abraham, J. Seeger, I. Dähnert, S. Dhein // Front Physiol. – 2020. – Vol. 11. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2020.00224/full>.

167. Samanta, A. Transient Receptor Potential (TRP) Channels / A. Samanta, T.E.T. Hughes, V.Y. Moiseenkova-Bell // Subcell Biochem. – 2018. – Vol. 87. – P. 141-165.

168. Santucci, A. Treatment of stable ischaemic heart disease: the old and the new / A. Santucci, C. Riccini, C. Cavallini // Eur Heart J Suppl. – 2020. – Vol. 22 (Suppl E). – P. E54-E59.

169. Schaefer, J. Laser-Induced Action Potential-Like Measurements of Cardiomyocytes on Microelectrode Arrays for Increased Predictivity of Safety Pharmacology [Электронный ресурс] / J. Schaefer, T. Danker, K. Gebhardt, U. Kraushaar // JoVE. – 2022. – 187. – Режим доступа: <https://www.jove.com/t/64355/laser-induced-action-potential-like-measurements-cardiomyocytes-on>.

170. Schild, A. Synthesis and Pharmacological Characterization of 2-Aminoethyl Diphenylborinate (2-APB) Derivatives for InhИМПtion of Store-

Operated Calcium Entry (SOCE) in MDA-MB-231 Breast Cancer Cells [Электронный ресурс] / A. Schild, R. Bhardwaj, N. Wenger, D. Tscherrig, P. Kandasamy, J. Dernič, R. Baur, C. Peinelt, M.A. Hediger, M. Lochner // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 16. – 5604. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7460636/pdf/ijms-21-05604.pdf>.

171. Shaik, F.A. Intra-procedural arrhythmia during cardiac catheterization: A systematic review of literature / F.A. Shaik, D.J. Slotwiner, G.M. Gustafson, X. Dai // *World J Cardiol.* – 2020. – Vol. 12, № 6. – P. 269-284.

172. Shi, J. Evidence that Orail does not contribute to store-operated TRPC1 channels in vascular smooth muscle cells / J. Shi, F. Miralles, J.P. Kinet, L. Birnbaumer, W.A. Large, A.P. Albert // *Channels (Austin).* – 2017. – Vol. 11, № 4. – P. 329-339.

173. Shim, A.L. Gadolinium as an Inhibitor of Ionic Currents in Isolated Rat Ventricular Cardiomyocytes / A.L. Shim, A.G. Kamkin, O.V. Kamkina, V.E. Kazanskii, V.M. Mitrokhin, A.S. Bilichenko, T.S. Filatova, D.V. Abramochkin // *Bull Exp Biol Med.* – 2019. – Vol. 168, № 2. – P. 187-192.

174. Shiou, Y.L. Very Low-Density Lipoproteins of Metabolic Syndrome Modulates STIM1, Suppresses Store-Operated Calcium Entry, and Deranges Myofilament Proteins in Atrial Myocytes [Электронный ресурс] / Y.L. Shiou, H.T. Lin, L.Y. Ke, B.N. Wu, S.J. Shin, C.H. Chen, W.C. Tsai, C.S. Chu, H.C. Lee // *J Clin Med.* – 2019. – Vol. 8, №6. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2077-0383/8/6/881>.

175. Singh, A.K. Structural bases of TRP channel TRPV6 allosteric modulation by 2-APB [Электронный ресурс] / A.K. Singh, K. Saotome, L.L. McGoldrick, A.I. Sobolevsky // *Nat Commun.* – 2018. – Vol. 9, № 1. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41467-018-04828-y>.

176. Sinha, M. Active Dendrites and Local Field Potentials: Biophysical Mechanisms and Computational Explorations / M. Sinha, R. Narayanan // Neuroscience. – 2022. – Vol. 489. – P.: 111-142.

177. Souza, D.S. Calcium overload-induced arrhythmia is suppressed by farnesol in rat heart [Электронный ресурс] / D.S. Souza, J.E.R. Menezes-Filho, A. Santos-Miranda, I.C.G. Jesus, J.A. Silva Neto, S. Guatimosim, J.S. Cruz, C.M.L. Vasconcelos // Eur J Pharmacol. – 2019. – Vol. 859. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299919304406?via%3Dihub>.

178. Spach, M.S. The discontinuous nature of propagation in normal canine cardiac muscle. Evidence for recurrent discontinuities of intracellular resistance that affect the membrane currents / M.S. Spach, W.T. Miller, D.B. Geselowitz, R.C. Barr, J.M. Kootsey, E.A. Johnson // Circ Res. – 1981. – Vol. 48, № 1. – P. 39-54.

179. Spira, M.E. Multisite Intracellular Recordings by MEA / M.E. Spira, S.H. Huang, N. Shmoel, H. Erez // Adv Neurobiol. – 2019. – Vol. 22. – P. 125-153.

180. Sprenkeler, D.J. Pro-Arrhythmic Ventricular Remodeling Is Associated With Increased Respiratory and Low-Frequency Oscillations of Monophasic Action Potential Duration in the Chronic Atrioventricular Block Dog Model [Электронный ресурс] / D.J. Sprenkeler, J.D.M. Beekman, A. Bossu, A. Dunnink, M.A. Vos // Front Physiol. – 2019. – Vol. 10. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.01095/full>.

181. Suchyna, T.M. Identification of a peptide toxin from Grammostola spatulata spider venom that blocks cation-selective stretch-activated channels / T.M. Suchyna, J.H. Johnson, K.Hamer, J.F. Leykam, D.A. Gage, H.F. Clemo, C.M. Baumgarten, F. Sachs // J Gen Physiol. – 2000. – Vol. 115, № 5. – P. 583-598.

182. Swift, L.M. Stop the beat to see the rhythm: excitation-contraction uncoupling in cardiac research / L.M. Swift, M.W. Kay, C.M. Ripplinger, N.G.

Posnack // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2021. – Vol. 321, № 6. – P. H1005-H1013.

183. Taccardi, B. Epicardial and intramural excitation during ventricular pacing: effect of myocardial structure / B. Taccardi, B.B. Punske, E. Macchi, R.S. Macleod, P.R. Ershler // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2008. – Vol. 294, № 4. – P. H1753-66.

184. Takahashi, K. L-type calcium channel modulates mechanosensitivity of the cardiomyocyte cell line H9c2 / K. Takahashi, S. Hayashi, M. Miyajima, M. Omori, J. Wang, K. Kaihara, M. Morimatsu, C. Wang, J. Chen, G. Iribe, K. Naruse, M. Sokabe // *Cell Calcium.* – 2019. – Vol. 79. – P. 68-74.

185. Tertoolen, L.G.J. Interpretation of field potentials measured on a multi electrode array in pharmacological toxicity screening on primary and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes / L.G.J. Tertoolen, S.R. Braam, B.J. van Meer, R. Passier, C.L. Mummery // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2018. – Vol. 497, № 4. P. 1135-1141.

186. Thanigaimani, S. Progression and reversibility of stretch induced atrial remodeling: Characterization and clinical implications / S. Thanigaimani, E. McLennan, D. Linz, R. Mahajan, T.A. Agbaedeng, G. Lee, J.M. Kalman, P. Sanders, D.H. Lau // *Prog Biophys Mol Biol.* – 2017. – Vol. 130 (Pt B). – P. 376-386.

187. Tkachenko, H. Changes in energetic metabolism and lysosomal destruction in the skeletal muscle and cardiac tissues of pigeons (*Columba livia f. urbana*) from urban areas of the northern Pomeranian region (Poland) / H. Tkachenko, N. Kurhaluk, T. Hetmański, A. Włodarkiewicz, V. Tomin // *Ecotoxicology.* – 2021. – Vol. 30, № 6. – P. 1170-1185.

188. Tomasello, D.L. Noninvasive Multielectrode Array for Brain and Spinal Cord Local Field Potential Recordings from Live Zebrafish Larvae / D.L. Tomasello, H. Sive // *Zebrafish.* – 2020. – Vol. 17, № 4. – P. 271-277.

189. Troupes, C.D. Role of STIM1 (Stromal Interaction Molecule 1) in Hypertrophy-Related Contractile Dysfunction / C.D. Troupes, M. Wallner, G. Borghetti, C. Zhang, S. Mohsin, D. von Lewinski, R.M. Berretta, H. Kubo, X. Chen, J. Soboloff, S. Houser // *Circ Res.* – 2017. – Vol. 121, № 2. – P. 125-136.

190. Tse, G. Traditional and novel electrocardiographic conduction and repolarization markers of sudden cardiac death / G. Tse, B.P. Yan // *Europace.* – 2017. – Vol. 19, № 5. – P. 712-721.

191. Turner, D. Electrophysiological and Molecular Mechanisms of Sinoatrial Node Mechanosensitivity [Электронный ресурс] / D. Turner, C. Kang, P. Mesirca, J. Hong, M.E. Mangoni, A.V. Glukhov, R. Sah // *Front Cardiovasc Med.* – 2021. – Vol. 8. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2021.662410/full>.

192. Uhlén, P. Gain-of-function/Noonan syndrome SHP-2/Ptpn11 mutants enhance calcium oscillations and impair NFAT signaling / P. Uhlén, P.M. Burch, C.I. Zito, M. Estrada, B.E. Ehrlich, A.M. Bennett // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2006. – Vol. 103, № 7. – P. 2160-2165.

193. van Schie, M.S. Identification of local atrial conduction heterogeneities using high-density conduction velocity estimation / M.S. van Schie, A. Heida, Y.J.H.J. Taverne, A.J.J.C. Bogers, N.M.S. de Groot // *Europace.* – 2021. – Vol. 23, № 11. – P. 1815-1825.

194. Varró, A., Tomek, J., Nagy, N., Virág, L., Passini, E., Rodriguez, B., & Baczkó, I. (2021). Cardiac transmembrane ion channels and action potentials: cellular physiology and arrhythmogenic behavior. *Physiological reviews*, 101(3), 1083–1176.

195. Wacker, M.J. Inhibition of thromboxane A<sub>2</sub>-Induced arrhythmias and intracellular calcium changes in cardiac myocytes by blockade of the inositol trisphosphate pathway / M.J. Wacker, L.M. Kosloski, W.J.R. Gilbert, C.D. Touchberry, D.S. Moore, J.K. Kelly, M. Brotto, J.A. Orr // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2009. – Vol. 331, № 3. – P. 917–924.

196. Wang, P. Evidence that 2-aminoethoxydiphenyl borate provokes fibrillation in perfused rat hearts via voltage-independent calcium channels / P. Wang, P.K. Umeda, O.F. Sharifov, B.A. Halloran, E. Tabengwa, H.E. Grenett, F. Urthaler, P.E. Wolkowicz // *Eur J Pharmacol.* – 2012. – Vol. 681, № 1-3. – P. 60-67.

197. Wang, J. GsMTx4-D is a cardioprotectant against myocardial infarction during ischemia and reperfusion / J. Wang, Y. Ma, F. Sachs, J. Li, T.M. Suchyna // *J Mol Cell Cardiol.* – 2016. – Vol. 98. – P. 83-94.

198. Wang, J. Orai1, 2, 3 and STIM1 promote store-operated calcium entry in pulmonary arterial smooth muscle cells [Электронный ресурс] / J. Wang, C. Xu, Q. Zheng, K. Yang, N. Lai, T. Wang, H. Tang, W. Lu // *Cell Death Discov.* – 2017. – Vol. 3. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/cddiscovery201774>.

199. Wang, Y. Cross-Talk between Mechanosensitive Ion Channels and Calcium Regulatory Proteins in Cardiovascular Health and Disease [Электронный ресурс] / Y. Wang, J. Shi, X. Tong // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 16. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/16/8782/htm>.

200. Wang, Z. Endothelial upregulation of mechanosensitive channel Piezo1 in pulmonary hypertension / Z. Wang, J. Chen, A. Babicheva, P.P. Jain, M. Rodriguez, R.J. Ayon, K.S. Ravellette, L. Wu, F. Balistreri, H. Tang, X. Wu, T. Zhao, S.M. Black, A.A. Desai, J.G.N. Garcia, X. Sun, J.Y. Shyy, D. Valdez-Jasso, P.A. Thistlethwaite, A. Makino, J. Wang, J.X. Yuan // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2021. – Vol. 321, № 6. – P. C1010-C1027.

201. Watanabe, M. Langendorff Perfusion Method as an Ex Vivo Model to Evaluate Heart Function in Rats / M. Watanabe, T. Okada // *Methods Mol Biol.* – 2018. – Vol. 1816. – P. 107-116.

202. Wells, S.P. Cardiomyocyte functional screening: interrogating comparative electrophysiology of high-throughput model cell systems / S.P. Wells, H.M. Waddell, C.B. Sim, S.Y. Lim, G.B. Bernasochi, D. Pavlovic, P. Kirchhof, E.R.

Porrello, L.M. Delbridge, J.R. Bell // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2019. – Vol. 317., №6. – P. C1256-C1267.

203. Wen, H. Potential Arrhythmogenic Role of TRPC Channels and Store-Operated Calcium Entry Mechanism in Mouse Ventricular Myocytes [Электронный ресурс] / H. Wen, Z. Zhao, N. Fefelova, L.H. Xie // *Front Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01785/full>.

204. Willebrords, J. Inhibitors of connexin and pannexin channels as potential therapeutics / J. Willebrords, M. Maes, S. Crespo Yanguas, M. Vinken // *Pharmacol Ther.* – 2017. – Vol. 180. – P. 144-160.

205. Wolkowicz, P.E. 2-APB induces instability in rat left atrial mechanical activity / P.E. Wolkowicz, H.C. Wu, F. Urthaler, D.D. Ku // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2007. – V. 49. – P. 325–335.

206. Wolkowicz, P.E. Pharmacological evidence for Orai channel activation as a source of cardiac abnormal automaticity / P.E. Wolkowicz, J. Huang, P.K. Umeda, O.F. Sharifov, E. Tabengwa, B.A. Halloran, F. Urthaler, H.E. Grenett // *Eur J Pharmacol.* – 2011. – Vol. 668, № 1-2. – P. 208-216.

207. Wu, M.Y. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury / M.Y. Wu, G.T. Yiang, W.T. Liao, A.P. Tsai, Y.L. Cheng, P.W. Cheng, C.Y. Li, C.J. Li // *Cell Physiol Biochem.* – 2018. – Vol. 46, № 4. – P. 1650-1667.

208. Wu, H. Modelling diastolic dysfunction in induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes from hypertrophic cardiomyopathy patients / H. Wu, H. Yang, J.W. Rhee, J.Z. Zhang, C.K. Lam, K. Sallam, A.C.Y. Chang, N. Ma, J. Lee, H. Zhang, H.M. Blau, D.M. Bers, J.C. Wu // *Eur Heart J.* – 2019. – Vol. 40, № 45. – P. 3685-3695.

209. Xu, H. Resveratrol pretreatment alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting STIM1-mediated intracellular calcium accumulation / H. Xu, J. Cheng, X. Wang, H. Liu, S. Wang, J. Wu, B. Xu, A. Chen, F. He // *J Physiol Biochem.* – 2019. – Vol. 75, № 4. – P. 607-618.

210. Yan, X. ASIC2 Synergizes with TRPV1 in the Mechano-Electrical Transduction of Arterial Baroreceptors / X. Yan, S. Zhang, H. Zhao, P. Liu, H. Huang, W. Niu, W. Wang, C. Zhang // *Neurosci Bull.* – 2021a. – Vol. 37, № 10. – P. 1381-1396.

211. Yan, Y. Small conductance calcium activated K<sup>+</sup> channel inhibition decreases stretch induced vulnerability to atrial fibrillation [Электронный ресурс] / Y. Yan, M.A. Skarsfeldt, J.G. Diness, B.H. Bentzen // *Int J Cardiol Heart Vasc.* – 2021b. – Vol. 37. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235290672100186X?via%3Dihub>.

212. Yang, Y. Connexin43 dephosphorylation at serine 282 is associated with connexin43-mediated cardiomyocyte apoptosis / Y. Yang, X. Yan, J. Xue, Y. Zheng, M. Chen, Z. Sun, T. Liu, C. Wang, H. You, D. Luo // *Cell Death Differ.* – 2019. – Vol. 26, № 7. – P. 1332-1345.

213. Yang, M. Hypoxia and metabolic inhibition alter the intracellular ATP:ADP ratio and membrane potential in human coronary artery smooth muscle cells [Электронный ресурс] / M. Yang, C. Dart, T. Kamishima, J.M. Quayle // *PeerJ.* – 2020. – Vol. 8. – Режим доступа: <https://peerj.com/articles/10344/>.

214. Yang, D. Ca<sup>2+</sup> and Membrane Potential Transitions During Action Potentials Are Self-Similar to Each Other and to Variability of AP Firing Intervals Across the Broad Physiologic Range of AP Intervals During Autonomic Receptor Stimulation [Электронный ресурс] / D. Yang, C.H. Morrell, A.E. Lyashkov, S. Tagirova Sirenko, I. Zahanich, Y. Yaniv, T.M. Vinogradova, B.D. Ziman, V.A. Maltsev, E.G. Lakatta // *Front Physiol.* – 2021. – Vol. 12. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.612770/full>.

215. Yoo, H.Y. Oxygen-dependent regulation of ion channels: acute responses, post-translational modification, and response to chronic hypoxia / H.Y. Yoo, S.J. Kim // *Pflugers Arch.* – 2021. – Vol. 473, № 10. – P. 1589-1602.

216. Zhang, S.L. STIM1 is a  $\text{Ca}^{2+}$  sensor that activates CRAC channels and migrates from the  $\text{Ca}^{2+}$  store to the plasma membrane / S.L. Zhang, Y. Yu, J. Roos, J.A. Kozak, T.J. Deerinck, M.H. Ellisman, K.A. Stauderman, M.D. Cahalan // Nature. – 2005. – Vol. 437, № 7060. – P. 902-905.

217. Zhang, L. Pharmaco-Electrophysiology of Isolated Perfused Rat Heart Assessed with Flexible Microelectrode Arrays [Электронный ресурс] / L. Zhang, Q. Meng, X. Zhou, Y. Li, Y. Lu, J. Zhang, Q. Xing, B. Tang // Journal of Veterinary Science & Technology. – 2017a. – Vol. 8, № 5 Режим доступа: <https://www.hilarispublisher.com/open-access/pharmacoelectrophysiology-of-isolated-perfused-rat-heart-assessed-withflexible-microelectrode-arrays-2157-7579-1000470.pdf>.

218. Zhang, T. A protein interaction mechanism for suppressing the mechanosensitive Piezo channels [Электронный ресурс] / T. Zhang, S. Chi, F. Jiang, Q. Zhao, B. Xiao // Nat Commun. – 2017b. – Vol. 8, № 1. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-01712-z>.

219. Zhang, H. Effects of gadolinium on cardiac mechanosensitivity in whole isolated swine hearts [Электронный ресурс] / H. Zhang, G.P. Walcott, J.M. Rogers // Sci Rep. – 2018. – Vol. 8. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-28743-w>.

220. Zhang, H. STIM1- $\text{Ca}^{2+}$  signaling in coronary sinus cardiomyocytes contributes to interatrial conduction [Электронный ресурс] / H. Zhang, V. Bryson, N. Luo, A.Y. Sun, P. Rosenberg // Cell Calcium. – 2020a. – Vol. 87. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143416020300051?via%3Dihub>.

221. Zhang, K. Role of ion channels in chronic intermittent hypoxia-induced atrial remodeling in rats [Электронный ресурс] / K. Zhang, Z. Ma, C. Song, X. Duan, Y. Yang, G. Li // Life Sci. – 2020b. – Vol. 254. – Режим

доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320520305464?via%3Dihub>.

222. Zhang, Y. Stretch-induced sarcoplasmic reticulum calcium leak is causatively associated with atrial fibrillation in pressure-overloaded hearts / Y. Zhang, Y. Qi, J.J. Li, W.J. He, X.H. Gao, Y. Zhang, X. Sun, J. Tong, J. Zhang, X.L. Deng, X.J. Du, W. Xie // *Cardiovasc Res.* – 2021. – Vol. 117, № 4. – P. 1091-1102.

223. Zhou, C. The role of endothelial leak in pulmonary hypertension (2017 Grover Conference Series) [Электронный ресурс] / C. Zhou, C.M. Francis, N. Xu, T. Stevens // *Pulm Circ.* – 2018. – Vol. 8, № 4. – Режим доступа: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6134503/pdf/10.1177\\_2045894018798569.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6134503/pdf/10.1177_2045894018798569.pdf).

224. Zhu, C. High-resolution structure-function mapping of intact hearts reveals altered sympathetic control of infarct border zones [Электронный ресурс] / C. Zhu, P.S. Rajendran, P. Hanna, I.R. Efimov, G. Salama, C.C. Fowlkes, K. Shivkumar // *JCI Insight.* – 2022. – Vol. 7, № 3. – Режим доступа: <https://insight.jci.org/articles/view/153913>.

225. Zverev, A.A. Effect of Neuropeptide Y on Action Potential Generation in Working Cardiomyocytes of the Right Atrium in Rat Heart / A.A. Zverev, T.A. Anikina, N.G. Iskakov, A.L. Zefirov, T.L. Zefirov // *Bull Exp Biol Med.* – 2018. – Vol. 165, № 5. – P. 610-612.