

*На правах рукописи*



**Лебедева Елена Александровна**

**РОЛЬ ТОКОВ ИОНОВ НАТРИЯ В МОРФОЛОГИИ  
ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК  
СИНУСНО–ПРЕДСЕРДНОГО УЗЛА У МЫШИ И КРОЛИКА**

03.03.01 – физиология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Сыктывкар 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель: доктор биологических наук,  
старший научный сотрудник,  
**Головко Владимир Александрович**

Официальные оппоненты: **Загидуллин Науфаль Шамилевич**  
доктор медицинских наук, доцент  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования «Башкирский  
государственный университет» Минздрава России,  
кафедра пропедевтики внутренних болезней,  
профессор

**Лопатина Екатерина Валентиновна**  
доктор биологических наук,  
Федеральное государственное бюджетное учреждение  
Северо-Западный федеральный медицинский  
исследовательский центр имени В. А. Алмазова  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, научно-исследовательский отдел  
экспериментальной физиологии и фармакологии,  
ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования «Санкт-  
Петербургский государственный университет»

Защита состоится « 8 » июня 2016 г. в 10:00 часов  
на заседании диссертационного совета Д 004.017.02 на базе Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии Коми научного  
центра Уральского отделения Российской академии наук по адресу: 167982, Сыктывкар,  
ГСП-2, ул. Первомайская 50, nivarlam@physiol.komisc.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института физиологии Коми научного центра Уральского  
отделения Российской академии наук по адресу: Сыктывкар, ул. Первомайская 50 и на  
сайте <http://www.physiol.komisc.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета –



Варламова Нина Геннадьевна

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Изучение вклада отдельных ионных токов в формирование потенциалов действия клеток, работающих в режиме водителя ритма, составляет важное направление исследований в электрофизиологии. Нарушение функции синусно-предсердного (СП) узла сопряжено с риском развития многих видов аритмий и жизнеугрожающих состояний, в том числе синдрома внезапной смерти [Полякова и др., 2008]. В последнее десятилетие исследования в области молекулярной биологии и генетики способствуют разработке подходов к созданию биологических пейсмекеров как альтернативы или дополнения к методу электрокардиостимуляции [Rosen et al., 2011]. Для решения этих проблем требуются более точные знания о механизмах формирования спонтанных импульсов [Dobrzynski et al., 2007; Zhang et al., 2010; Verkerk, Wilders, 2013].

Клетки синусно-предсердной области сердца неоднородны по своим электрофизиологическим свойствам. Их функциональная гетерогенность обусловлена различной экспрессией каналов на сарколемме для ионов натрия, кальция и калия. Полагают, что у клеток имеющих скорость фазы 0 потенциалов действия (ПД) свыше 20 В/с существенный вклад в формирование фазы быстрой деполяризации ПД (фаза 0) вносит чувствительный к тетродотоксину (ТТХ)  $\text{Na}^+$ -ток ( $I_{\text{Na}}$ ) [Baruscotti et al., 1996; Kodama et al., 1997]. Вопрос о роли ионов натрия в генерации фазы 0 у клеток с медленной  $dV/dt_{\text{max}} \leq 5$  В/с до сих пор остается предметом дискуссий. Считается, что у клеток с самой медленной скоростью нарастания ПД в фазу 0 натриевый ток инактивирован или пренебрежительно мал и ведущая роль принадлежит  $\text{Ca}^{2+}$ -току L-типа [Kodama, et al. 1997; Satoh, 2003; Kurata et al., 2008; Mangoni, Nargeot, 2008; Maltsev, Lakatta, 2009]. Однако в литературе имеются сведения о возможном участии  $I_{\text{Na}}$  в формировании фазы быстрой деполяризации [Головко, 2009; Verkerk et al., 2009]. В области СП узла сердца мыши, кролика и человека выявлена экспрессия двух изоформ  $\text{Na}^+$ -каналов:  $\text{Na}_v1.1$  и  $\text{Na}_v1.5$  [Maier et al., 2003; Lei et al., 2004; Marionneau et al., 2005; Chandler et al., 2009]. У пациентов с синдромом слабости СП узла обнаружены мутации в генах SCN5A, кодирующих порообразующую субъединицу изоформы  $\text{Na}_v1.5$  [Lei et al., 2007; Butters et al., 2010].

Поддержание гомеостаза  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в клетках является необходимым условием ритмичной генерации потенциалов действия сердца. Нарушение концентрации ионов натрия в плазме крови может существенно повлиять на электрическую активность клеток.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насос играет ключевую роль в поддержании гомеостаза ионов натрия и калия в клетке. В результате работы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса возникает направленный наружу гиперполярирующий ток [Болдырев, 1998, 2008; Sakai et al., 1996]. Сердечные гликозиды представляют собой класс лекарственных соединений, способных ингибировать работу  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса. Однако экспериментальные данные о влиянии сердечных гликозидов на спонтанную активность клеток водителя ритма единичны, функциональная роль тока  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса в поддержании автоматизма остается до конца невыясненной и оценка вклада  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы в морфологию ПД остается важной задачей.

К настоящему времени наиболее полно исследована электрофизиология клеток СП узла кролика [Denyer, Brown, 1990; Baruscotti et al., 1996; Kodama et al., 1997; Maltsev et al., 2004; DiFrancesco, 2010]. В последние годы все чаще проводят исследования на генетически модифицированных мышах [Lei et al., 2005; Liu et al., 2007; Pott et al., 2007]. Синусно-предсердный узел мыши благодаря генетической близости, сходству организации и функционирования с синусно-предсердным узлом человека на данный момент является распространенной экспериментальной моделью для решения актуальных проблем в электрофизиологии сердца. В отличие от кролика, СП узел мыши имеет небольшие размеры и окружен слоем соединительной ткани, что существенно усложняет исследования с помощью микроэлектродной техники. Остается актуальным вопрос насколько близки механизмы формирования автоматизма у клеток СП узла мыши и кролика – наиболее часто используемых экспериментальных животных.

**Теоретическое и практическое значение работы.** Полученные результаты вносят вклад в понимание физиологической роли токов ионов  $\text{Na}^+$  в механизмах генерации и регуляции автоматизма пейсмекерных клеток СП узла. Это важно для выявления причин формирования патологий, связанных с нарушениями электрической активности клеток водителя ритма. Выяснение механизмов автоматизма СП узла будет содействовать разработке способов направленного фармакологического регулирования активности клеток, работающих в режиме водителя ритма в синусно-предсердном узле.

Данная работа создает фундамент для развития и усовершенствования математических моделей генерации ПД с учетом электрической неоднородности клеток СП узла. Исследование основных токов, особенно с участием ионов натрия, в генерации и регуляции автоматизма СП узла сердца имеет большое практическое значение в биомедицине для создания биологических пейсмекеров, необходимых для пациентов с дисфункцией СП узла.

**Научная новизна исследования.** Впервые с помощью микроэлектродной техники получены данные, свидетельствующие об участии  $\text{Na}^+$ -тока в формировании ПД у клеток водителя ритма СП узла мыши с самой медленной скоростью нарастания переднего фронта ПД ( $\sim 3$  В/с) в условиях, близких к физиологическим. Доказано, что входящий  $\text{Na}^+$ -ток, чувствительный к ТТХ и лидокаину, вносит вклад в формирование фазы быстрой деполяризации и фазы медленной диастолической деполяризации потенциалов действия.

При сопоставимой скорости нарастания ПД в фазу 0, проведена оценка относительного вклада токов чувствительных к лидокаину ( $I_{\text{Na}}$ ) и нифедипину ( $I_{\text{CaL}}$ ) в формировании фаз ПД у клеток типа истинного и скрытого водителя ритма СП узла мыши и кролика. Впервые у клеток водителя ритма СП узла мыши и кролика выявлены различия в чувствительности к лидокаину – блокатору потенциалзависимых  $\text{Na}^+$ -каналов. На основании анализа дозозависимых кривых изменения скорости фазы быстрой деполяризации определена эффективная концентрация лидокаина, при которой достигается 50% ингибирующий эффект ( $\text{EC}_{50}$ ). Показано, что у клеток водителя ритма мыши концентрация  $\text{EC}_{50}$  в среднем в 8 раз ниже, чем у кролика. Препараты СП области мыши и кролика имеют различную чувствительность к нифедипину. Скорость фазы быстрой деполяризации ПД у клеток истинного водителя ритма кролика в два раза чувствительнее к ингибитору медленного  $\text{Ca}^{2+}$ -тока L-типа, чем у клеток мыши.

В синусно-предсердном узле мыши у клеток, работающих в режиме истинного и скрытого водителей ритма, снижение скорости нарастания переднего фронта ПД в фазу 0 ( $dV/dt_{\text{max}}$ ) происходит пропорционально снижению транссарколеммального градиента  $\text{Na}^+$ .

Получены новые данные о физиологической роли тока  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса ( $I_{\text{NaK}}$ ), участвующего в автоматизме клеток СП узла мыши и кролика. При ингибировании  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса убаином установлено, что препараты СП узла мыши в  $\sim 10$  раз устойчивее к этому блокатору по сравнению с препаратами СП узла кролика.

**Цель и задачи исследования.** Цель работы заключалась в исследовании роли токов с участием ионов натрия в формировании трансмембранных потенциалов действия клеток синусно-предсердного узла у мыши и кролика.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

1. На основе результатов ингибиторного анализа оценить вклад входящего  $\text{Na}^+$ -тока в генерацию потенциалов действия СП узла у мыши и кролика.
2. Изучить и проанализировать эффекты нифедипина – блокатора медленного  $\text{Ca}^{2+}$ -тока L-типа на основные электрофизиологические параметры ПД клеток СП области у мыши и кролика.
3. Охарактеризовать эффекты растворов с пониженным содержанием ионов натрия на формирование ПД клеток водителя ритма мыши.
4. Оценить влияние убаина, как блокатора  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса, на электрическую активность клеток СП узла мыши и кролика.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. В формировании фазы быстрой деполяризации ПД клеток типа истинного водителя ритма СП узла мыши с самой медленной  $dV/dt_{max}$  участвует  $Na^+$ -ток, чувствительный к ТТХ и лидокаину.

2. Клетки СП узла мыши и кролика имеют различную чувствительность к действию лидокаина – блокатору  $Na^+$ -каналов.

3. Скорость фазы быстрой деполяризации ( $dV/dt_{max}$ ) клеток водителя ритма СП узла у мыши замедляется пропорционально снижению внеклеточной концентрации ионов  $Na^+$ .

4. При ингибировании  $Na^+/K^+$ -насоса установлено, что многоклеточные препараты СП узла мыши в ~ 10 раз устойчивее к убаину по сравнению с препаратами СП узла кролика.

**Апробация диссертации.** Материалы работы были представлены на X – XIII молодежных научных конференциях Института физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН «Физиология человека и животных от эксперимента к клинической практике» (Сыктывкар, 2011–2014), XXX Annual Meeting of the European Section of the International Society of Heart research (Хайфа, Израиль, 2011), V –VI Всероссийских с международным участием школах–конференциях «Физиология кровообращения» (Москва, 2012, 2016), IV Съезде биофизиков России, (Н. Новгород, 2012), Cardiac & Respiratory Physiology Themed Meeting of Royal Physiological Society (Манчестер, 2012), 37th World Congress of the International Union of Physiological Sciences (Бирмингем, 2013).

**Личное участие автора в получении результатов.** Все экспериментальные процедуры и обработка полученных результатов выполнены автором лично. Материалы, вошедшие в представленную работу, обсуждались и публиковались лично и совместно с научным руководителем. По материалам диссертации опубликованы четыре статьи в журналах, рекомендованных ВАК, и десять тезисов.

**Легитимность исследования.** Экспериментальный протокол был одобрен независимым Комитетом по биоэтике Института физиологии Коми НЦ УрО РАН (заключение от 24 декабря 2009 г.) и соответствовал международными правилам «Для использования лабораторных животных» (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8-е издание, опубликованное National Academies Press (US) 2011 г.).

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 126 машинописных страницах, состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и обсуждение результатов), заключения, выводов и списка литературы (171 источников). Диссертация содержит 13 таблиц и 26 рисунков.

Работа выполнена в лаборатории физиологии сердца Института физиологии Коми НЦ УрО РАН в период прохождения курса аспирантуры (2009–2012 гг.) и является разделом плановой темы НИР «Механизм формирования функциональной электрической гетерогенности миокарда» (№ ГР 02.200 950623), поддержана грантами Президиума УрО РАН (проекты № 12–П–4–1054 и 12–У–4–8–1022) и Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 09-04-98812 p\_север\_a).

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

Приведены и проанализированы данные по электрофизиологии СП узла млекопитающих. Подробно рассмотрены морфология СП узла и ионные механизмы автоматизма клеток водителя ритма. Особое внимание уделено сведениям об ионных токах: входящему  $Na^+$ -току ( $I_{Na}$ ), выходящему току  $Na^+/K^+$ -насоса ( $I_{NaK}$ ), току, активируемому гиперполяризацией ( $I_f$ ), поддерживаемому (sustained) току ( $I_{st}$ ), току  $Na^+/Ca^{2+}$ -обменного механизма ( $I_{NCX}$ ) и  $Ca^{2+}$ -токам L-типа ( $I_{CaL}$ ) и T-типа ( $I_{CaT}$ ). Каждый раздел завершается постановкой задач, которые решаются в процессе данного исследования.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Объект исследования

Эксперименты проводили на самцах мышей альбиносов (возраст 8–10 недель, масса тела  $30 \pm 5$  г,  $n_{\text{препаратов}}=30$ ), и кроликах обоих полов породы Шиншилла (возраст 6–7 месяцев, масса тела 3.0–3.5 кг,  $n_{\text{препаратов}}=12$ ), полученных из питомника экспериментальных животных Института биологии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар). Животных обездвигивали введением золетила (кролики, 15 мг/кг массы тела) и путем мгновенного смещения шейных позвонков (мыши). После вскрытия грудной клетки сердце извлекали и помещали в чашку Петри с контрольным раствором Тироде ( $31 \pm 1^\circ\text{C}$ ) следующего состава (мм/л): NaCl 140,  $\text{NaHCO}_3$  10 мМ, KCl 5.4,  $\text{CaCl}_2$  1.8,  $\text{MgSO}_4$  1, глюкоза 10, HEPES 5; pH раствора доводили до 7.4 добавлением NaOH или HCl и насыщали газовой смесью 95%  $\text{O}_2$  и 5%  $\text{CO}_2$ . После идентификации нижней и верхней полых вен, сердце закрепляли на подложке в чашке Петри, удаляли желудочки, левое предсердие, вскрывали правое предсердие. Полученный препарат размером 3 мм  $\times$  2 мм  $\times$  0.3 мм включал в себя СП узел, фрагмент *crista terminalis* (поперечный гребешок) и сегменты верхней и нижней полых вен. У кролика препарат СП узла дополнительно разрезали на 2 спонтанно сокращающиеся полоски. Препарат помещали в экспериментальную камеру (объем 6 мл). Потенциалы действия (ПД) регистрировали со стороны субэндокарда вдоль артерии СП узла в центре между верхней и нижней полыми венами [Головко, 2009; Гонотков, Головко, 2011].

### Регистрация потенциалов действия

Регистрацию биопотенциалов проводили с помощью стандартной микроэлектродной техники [Крафтс, 1975]. Использовали стеклянные микроэлектроды, заполненные 2.5 моль/л KCl с начальным сопротивлением 50–60 МΩ. Рабочий диапазон усилителя «Electro 705» («World Precision Instruments», США) составлял от 0 до 5 кГц. Потенциалы действия записывали через аналого-цифровой преобразователь, тип E14-140 (L-CARD, Россия) на жесткий диск компьютера. Анализировали следующие показатели ПД: амплитуда ПД (АПД), максимальный диастолический потенциал ( $E_{\text{max}}$ ), овершут (ОВ), потенциал порога (ПП), амплитуда спонтанной деполяризации (СД), длительность пика на уровне 20% (ДПД<sub>20</sub>), 50% (ДПД<sub>50</sub>), 90% (ДПД<sub>90</sub>) и 100% (ДПД<sub>100</sub>) реполяризации, длительность медленной диастолической деполяризации (МДД), частота генерации ПД (ЧСС), максимальная скорость нарастания ПД в фазу 0 ( $dV/dt_{\text{max}}$ ) и скорость фазы медленной диастолической деполяризации ( $V_4$ ). Границы между отдельными фазами устанавливали графически с помощью тангенциальных кривых, что позволяло однозначно разделять и характеризовать фазы ПД. Данные приведены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm \sigma$ ). Значимость различий определяли по U- критерию Манна-Уитни и критерию Вилкоксона. Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ .

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Общая характеристика электрофизиологических параметров ПД синусно-предсердной области

*Характеристика ПД клеток СП области мышцы.* Частота генерации ПД многоклеточных препаратов СП области мышцы в контрольном растворе составила  $\sim 300$  имп/мин. В зависимости от места регистрации ПД клеток водителя ритма мышцы различались по своей конфигурации и скорости фазы быстрой деполяризации ( $dV/dt_{\text{max}}$ ). В зависимости от электрофизиологических характеристик ПД и места регистрации, клетки СП узла мышцы были условно разделены на три типа: 1) работающие в режиме истинного водителя ритма ( $dV/dt_{\text{max}} < 8$  В/с, в среднем  $3.0 \pm 1.5$  В/с), 2) клетки типа скрытого водителя ритма ( $dV/dt_{\text{max}} > 9$  В/с, в среднем  $26 \pm 13.6$  В/с) и 3) клетки сократительного миокарда предсердий ( $dV/dt_{\text{max}} = 152 \pm 28$  В/с) (табл. 1.).

*Характеристика ПД клеток СП узла кролика.* Частота генерации ПД полосок СП узла кролика составила  $\sim 110$  имп/мин, что почти в три раза медленнее, чем у мыши (табл.

1.). По аналогии с клетками водителя ритма мышцы, клетки СП узла кролика были разделены на два типа. Потенциалы действия клеток типа истинного водителя ритма (ИВР) имели скорость фазы быстрой деполяризации от 2 до 8 В/с (в среднем  $5.1 \pm 2.2$  В/с). Потенциалы действия с более отрицательным  $E_{\max}$ , более высокой амплитудой ПД и  $dV/dt_{\max}$  от 9 до 40 В/с (в среднем  $25.5 \pm 11.6$  В/с) идентифицировали как ПД клеток, работающих в режиме скрытого водителя ритма (СВР).

Скорость фазы быстрой деполяризации, характеризующая входящий суммарный ток, у клеток мышцы и кролика имела сопоставимые величины. При обработке экспериментальных данных, эффекты блокаторов на клетки ИВР и СВР анализировались отдельно, чтобы установить возможные различия.

Таблица 1

**Электрофизиологические характеристики ПД клеток СП области сердца у мыши и кролика**

Параметры ПД	Клетки СП области мыши			Клетки СП области кролика	
	Истинный водитель ритма n=30	Скрытый водитель ритма n=30	Клетки рабочего миокарда n=22	Истинный водитель ритма n=12	Скрытый водитель ритма n=12
$E_{\max}$ , мВ	$-59 \pm 8$	$-63 \pm 13$	–	$-64 \pm 5^*$	$-73 \pm 5$
ОВ, мВ	–	–	$19 \pm 8$	$9 \pm 6$	$10 \pm 6$
АПД, мВ	$43 \pm 5^{**}$	$55 \pm 7$	$96 \pm 7^{**}$	$68 \pm 5^*$	$81 \pm 7$
СД, мВ	$7 \pm 2$	$6 \pm 3$	–	$12 \pm 5$	$11 \pm 4$
ПП, мВ	$-53 \pm 8$	$-57 \pm 13$	$-77 \pm 6^{**}$	$-53 \pm 7^*$	$-62 \pm 8$
ДПД <sub>20</sub> , мс	$50 \pm 11^{**}$	$26 \pm 11$	$6 \pm 1^{**}$	$110 \pm 21$	$104 \pm 17$
ДПД <sub>50</sub> , мс	$66 \pm 12^{**}$	$49 \pm 11$	$14 \pm 5^{**}$	$156 \pm 23$	$147 \pm 17$
ДПД <sub>90</sub> , мс	$95 \pm 15^{**}$	$85 \pm 23$	$54 \pm 13^{**}$	$215 \pm 32$	$199 \pm 27$
ДПД <sub>100</sub> , мс	$127 \pm 20$	$122 \pm 23$	$103 \pm 19$	$275 \pm 41$	$258 \pm 35$
ЧСС, имп/мин	$295 \pm 28$	$292 \pm 34$	$305 \pm 27$	$108 \pm 10$	$116 \pm 18$
МДД, мс	$80 \pm 18$	$86 \pm 18$	–	$283 \pm 43$	$281 \pm 65$
$dV/dt_{\max}$ , В/с	$3.0 \pm 1.5^{**}$ ( $1.5 \div 7$ )	$26 \pm 13.6$ ( $11 \div 50$ )	$152 \pm 28^{**}$ ( $100 \div 200$ )	$5.1 \pm 2.2^{**}$ ( $2 \div 8$ )	$24 \pm 8$ ( $9 \div 40$ )
$V_4$ , мВ/с	$85 \pm 21^*$	$67 \pm 20$	–	$42 \pm 14$	$39 \pm 8$

Примечание.  $E_{\max}$  – максимальный диастолический потенциал; ОВ – овершут; АПД – амплитуда ПД; СД – амплитуда спонтанной деполяризации; ПП – потенциал порога; ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> и ДПД<sub>100</sub> – длительность потенциала действия на уровне 20%, 50%, 90% и 100% реполяризации; ЧСС – частота генерации ПД; МДД – длительность медленной диастолической деполяризации;  $dV/dt_{\max}$  – скорость фазы быстрой деполяризации;  $V_4$  – скорость медленной диастолической деполяризации. \* –  $p < 0.05$  и \*\* –  $p < 0.01$ , достоверность различий по сравнению с клетками, работающими в режиме скрытого водителя ритма у мыши и кролика, соответственно.

**Изменение морфологии ПД при блокировании входящего  $Na^+$ -тока,  $I_{Na}$**

Для проверки гипотезы о возможном вкладе входящего  $Na^+$ -тока в автоматизм клеток водителя ритма СП узла были изучены эффекты специфических блокаторов  $Na^+$ -каналов (лидокаин, ТТХ) на величину  $dV/dt_{\max}$  – показателя суммарного входящего тока во время фазы быстрой деполяризации. Одновременно анализировали влияние блокаторов на основные параметры ПД.

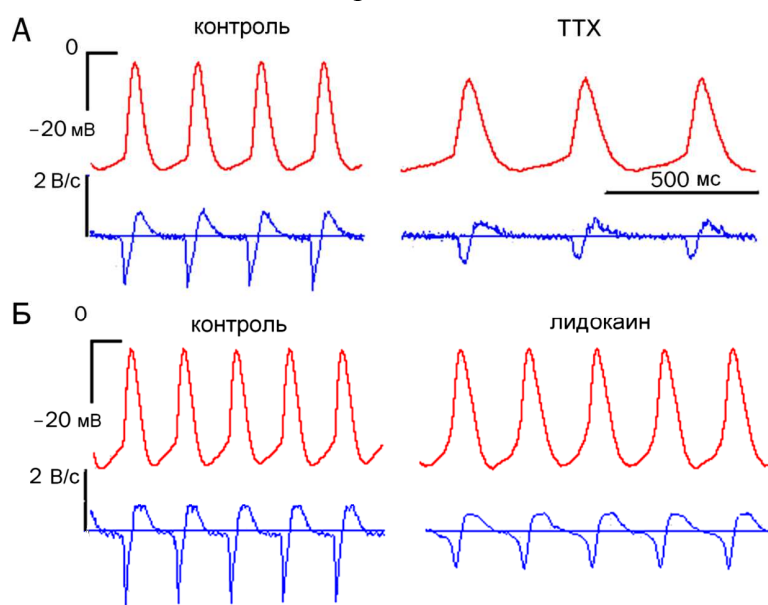
*Эффекты ТТХ на генерацию ПД клеток у мыши.* ТТХ (25 мкМ, n=3) у клеток типа ИВР вызывал снижение амплитуды ПД на 27%, замедление  $dV/dt_{\max}$  на 50%, увеличение длительности фазы медленной диастолической деполяризации (МДД) на 72% и снижение ее скорости на 55%. Частота генерации ПД замедлялась на 30% (рис. 1, 6). У клеток, работающих в режиме СВР, ТТХ (25 мкМ, n=3) снижал амплитуду ПД на 55% и замедлял  $dV/dt_{\max}$  на 87%. Длительность МДД увеличивалась в два раза, а ее скорость замедлялась на 62%, что приводило к снижению частоты генерации ПД на 29%.

Таким образом, оба типа пейсмекерных клеток СП узла мыши проявляли высокую чувствительность к ТТХ. При этом скорость фазы быстрой деполяризации клеток типа

СВР в присутствии блокатора замедлялась сильнее, чем у клеток типа ИВР. Частота генерации ПД у обоих типов пейсмекерных клеток снижалась на треть за счет увеличения длительности МДД.

*Эффекты лидокаина на ПД клеток водителя ритма у мыши.* Исследовано влияние лидокаина на основные электрофизиологические характеристики ПД в диапазоне концентраций от 12 до 1000 мкМ.

У клеток типа ИВР лидокаин (25 мкМ, n=5) приводил к замедлению  $dV/dt_{max}$  от  $2.6 \pm 0.8$  до  $1.4 \pm 0.3$  В/с (на 46%). Зарегистрировано увеличение ДПД<sub>20</sub> на 52% и ДПД<sub>90</sub> – на 27%, в результате чего частота генерации ПД замедлялась на 17%. Увеличение концентрации лидокаина до 50 мкМ (n=6) приводило к дальнейшему снижению  $dV/dt_{max}$  от  $2.6 \pm 0.8$  до  $1 \pm 0.2$  В/с (на 62%). Длительность фазы МДД увеличивалась от  $70 \pm 22$  до  $101 \pm 19$  мс (на 42%), а ее скорость замедлялась от  $73 \pm 26$  до  $59 \pm 18$  мВ/с (на 20%). При этом частота генерации ПД снижалась на 23% (рис. 1, б).



**Рис.1.** Изменение конфигурации ПД и скорости нарастания переднего фронта ПД в фазу 0 ( $dV/dt_{max}$ ) клеток типа ИВР у препаратов СП узла мыши при экспозиции ТТХ (А) и лидокаина (Б) [Головко, Лебедева, 2013; Golovko, Gonotkov, Lebedeva. 2015]

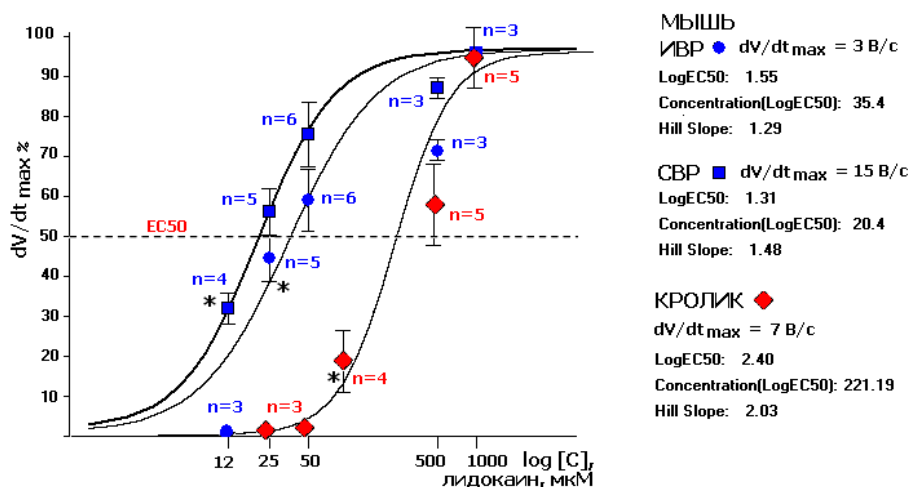
У клеток типа СВР лидокаин (25 мкМ, n=5) приводил к снижению  $dV/dt_{max}$  на 59%. Длительность фазы МДД увеличилась от  $89 \pm 15$  до  $121 \pm 12$  мс (на 36%),  $V_4$  замедлялась от  $63 \pm 15$  до  $46 \pm 12$  мВ/с (на 27%), а частота генерации ПД снижалась на 24%. Лидокаин в концентрации 50 мкМ (n=6) вызывал снижение амплитуды ПД на 20% и  $dV/dt_{max}$  – на 77%. Зафиксировано увеличение ДПД<sub>20</sub> в два раза (от  $27 \pm 8$  до  $53 \pm 13$  мс) и ДПД<sub>90</sub> – на 46% (от  $70 \pm 11$  до  $102 \pm 15$  мс). Фаза МДД изменялась так же, как при действии на клетки 25 мкМ лидокаина. В результате чего частота генерации ПД снижалась на 30%.

Построенная по результатам экспериментов кривая зависимости  $dV/dt_{max}$  от концентрации лидокаина соответствовала уравнению Хилла (рис. 2). Пороговая концентрация лидокаина для  $dV/dt_{max}$  у клеток ИВР составила  $\sim 20$  мкМ, тогда как концентрация, при которой данный параметр снижался на 50% ( $EC_{50}$ ) оказалась равной  $\sim 35$  мкМ. Для клеток, работающих в режиме СВР, пороговая концентрация лидокаина составила  $\sim 10$  мкМ, а концентрация  $EC_{50}$  –  $\sim 20$  мкМ. Прекращение электрической активности у препаратов СП узла мыши зарегистрировано при 1 мМ лидокаина. Эффекты лидокаина на  $dV/dt_{max}$  выражены сильнее (в 1.7 раза) у клеток типа СВР по сравнению с клетками типа ИВР. На остальные параметры ПД у обоих типов клеток водителя ритма лидокаин оказывал идентичные эффекты [Головко, Лебедева, 2013].

Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют о высокой чувствительности клеток водителя ритма СП узла мыши к ТТХ и лидокаину. Эффекты блокаторов на  $dV/dt_{max}$ , характеризующую суммарный выходящий ток во время фазы 0,



идентичны. Эти результаты позволяют заключить, что входящий  $\text{Na}^+$ -ток вносит заметный вклад в формирование фазы быстрой деполяризации ПД у клеток типа истинного и скрытого водителя ритма мышцы.



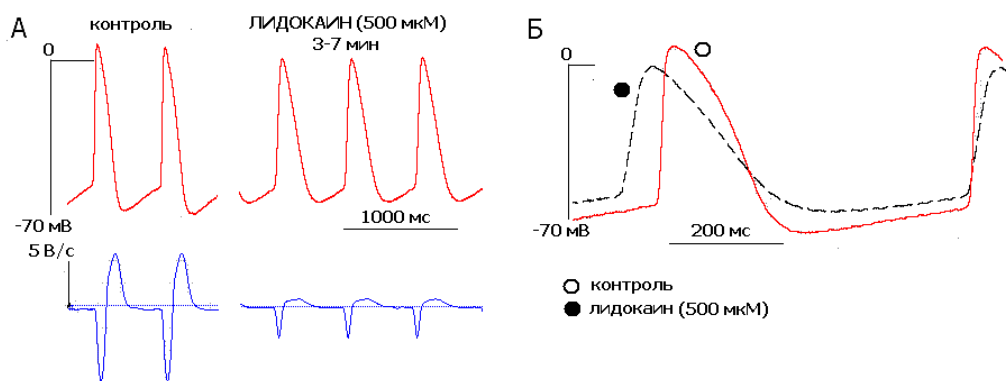
**Рис. 2.** Блокирование скорости фазы быстрой деполяризации ( $dV/dt_{\max}$ ) ПД клеток типа ИВР и СВР в СП узле мыши и пейсмекерных клеток кролика в зависимости от концентрации лидокаина. Сплошные линии соответствуют значениям, вычисленным по уравнению Хилла. Значения приведены как  $M \pm \sigma$ ; \* – достоверность различий по сравнению с контролем ( $p < 0.05$ ).

*Эффекты лидокаина на морфологию ПД клеток СП узла у кролика.* Для оценки роли  $\text{Na}^+$ -тока у клеток водителя ритма кролика применяли экспериментальный протокол, используемый для препаратов СП узла мыши. Скорость фазы быстрой деполяризации у клеток, предположительно функционирующих в режиме ИВР, в контроле составила  $\sim 7$  В/с.

Лидокаин в концентрации 25 и 50 мкМ не оказывал влияния на параметры ПД. Повышение концентрации лидокаина до 100 мкМ ( $n=4$ ) вызывало снижение  $dV/dt_{\max}$  от  $7 \pm 1$  до  $5.7 \pm 0.6$  В/с (на 20%). Остальные параметры ПД достоверно не изменялись.

Повышение лидокаина от 100 до 500 мкМ ( $n=5$ ) приводило к смещению максимального диастолического потенциала  $E_{\max}$  в сторону деполяризации (от  $-67 \pm 10$  до  $-54 \pm 4$  мВ), снижению АПД на 14% и замедлению  $dV/dt_{\max}$  от  $6.9 \pm 1.3$  до  $3.0 \pm 1.7$  В/с (на 57%). Длительность ПД на уровне 20 и 90% реполяризации увеличивалась на 30% и 51% соответственно. Скорость фазы МДД замедлялась на 21% за счет снижения амплитуды спонтанной деполяризации. Частота генерации ПД замедлялась на 15% (рис. 3). При 1 мМ лидокаина на 6–8 мин экспозиции происходило прекращение генерации ПД в результате блокирования фазы быстрой деполяризации.

Анализ кривой зависимости  $dV/dt_{\max}$  от концентрации лидокаина (рис. 2) показал, что пороговая концентрация блокатора для  $dV/dt_{\max}$  составила  $\sim 100$  мкМ, а концентрация  $EC_{50}$  – 220 мкМ. Сопоставление результатов, полученных на клетках водителя ритма у мыши и кролика, показало, что пейсмекерные клетки СП узла кролика ( $dV/dt_{\max} = 7$  В/с) устойчивее ( $\sim 8$  раз) к действию лидокаина, чем клетки типа истинного ( $dV/dt_{\max} = 3$  В/с) и скрытого ( $dV/dt_{\max} = 15$  В/с) водителя ритма СП узла мыши. У обоих видов животных лидокаин замедлял скорость фазы МДД на 20–30%. У клеток СП узла мыши замедление  $V_4$  происходило за счет увеличения длительности МДД (на 30–40%), у кролика – за счет снижения амплитуды спонтанной деполяризации (на  $\sim 30\%$ ).



**Рис. 3.** Изменение конфигурации ПД клеток водителя ритма СП узла кролика при экспозиции лидокаина (500 мкМ). А – ПД клеток и первая производная ( $dV/dt_{\max}$ ) в контрольном растворе и при добавлении лидокаина. Б – запись ПД при развернутой временной шкале.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что у пейсмекерных клеток СП узла мыши и кролика существует  $Na^+$ -ток, участвующий в формировании фазы быстрой деполяризации и фазы медленной диастолической деполяризации. Установлено, что  $dV/dt_{\max}$  пейсмекерных клеток СП узла кролика в 8 раз устойчивее к лидокаину, чем у клеток водителя ритма СП узла мыши.

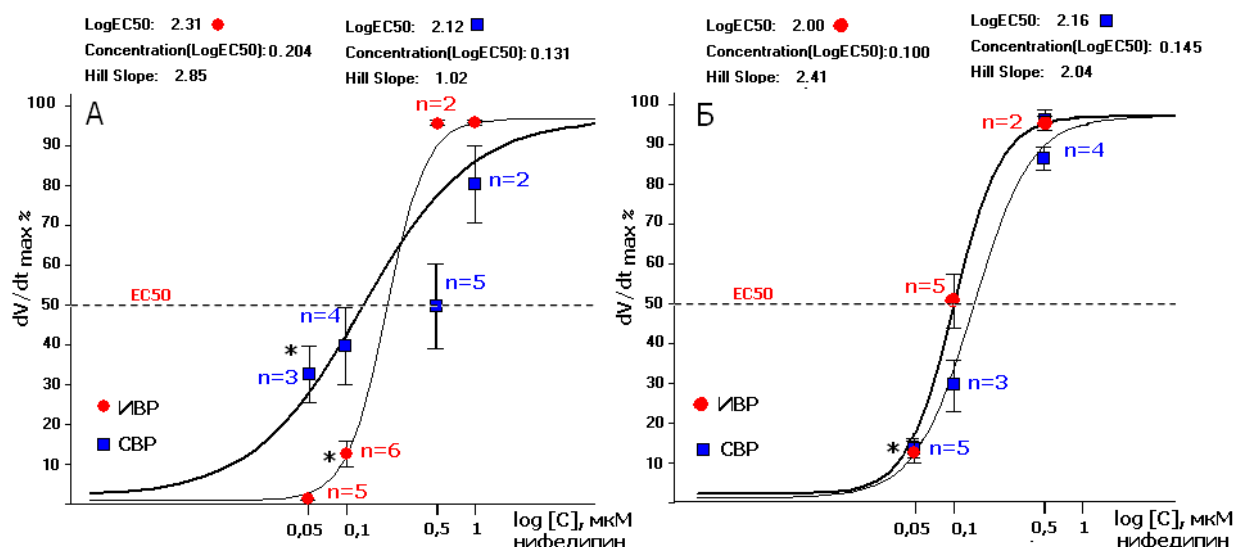
#### **Изменение морфологии ПД при блокировании $Ca^{2+}$ -тока L-типа, $I_{CaL}$**

Для более точной оценки вклада  $Na^+$ -тока в формирование ПД у разных типов пейсмекерных клеток, с помощью специфического блокатора  $Ca^{2+}$ -каналов – нифедипина, нами был исследован вклад  $Ca^{2+}$ -тока L-типа.

*Эффекты нифедипина на генерацию ПД у клеток СП узла мыши.* У клеток типа ИВР мыши нифедипин 0.1 мкМ (n=6) приводил к снижению амплитуды ПД на 10% и увеличению длительности ПД на уровне 20% и 100% реполяризации на 19% и 10% соответственно. Скорость фазы быстрой деполяризации снижалась на 16%. Фаза МДД удлинялась на 25%, а ее скорость замедлялась на 30%. В результате частота генерации ПД снижалась на 15%. Увеличение концентрации нифедипина от 0.1 до 0.5 мкМ (n=3) на 4–5 мин экспозиции вызывало прекращение генерации ПД. При этом наблюдали постепенное снижение амплитуды ПД и  $dV/dt_{\max}$ . Следует отметить, что полной остановки электрической активности у препаратов СП области мыши не происходило и регистрировали ПД с  $dV/dt_{\max}$  выше 10 В/с.

У клеток, работающих в режиме СВР, нифедипин 0.05 мкМ (n=3) вызывал замедление  $dV/dt_{\max}$  на 30% и увеличение ДПД<sub>100</sub> на 14%. Повышение концентрации нифедипина от 0.05 до 0.10 мкМ (n=4) приводило к снижению амплитуды ПД и удлинению ДПД<sub>100</sub> в среднем на 20%. Скорость фазы быстрой деполяризации замедлялась от  $24 \pm 10$  до  $13.7 \pm 7$  В/с (на 43%). Нифедипин 0.5 мкМ (n=5) вызывал снижение амплитуды ПД на 35% и удлинял ДПД<sub>100</sub> на 26%. Скорость фазы быстрой деполяризации замедлялась от  $28 \pm 10$  до  $14 \pm 5$  В/с (на 50%). Длительность фазы МДД увеличивалась на 22%, а ее скорость снижалась на 37%. В результате чего частота генерации ПД замедлялась на 20%. При 1 мкМ нифедипина у клеток СВР наступало прекращение генерации ПД.

По результатам проведенных экспериментов для клеток типа ИВР и СВР мыши построены дозозависимые кривые, описывающие изменения  $dV/dt_{\max}$  в присутствии нифедипина (рис. 4). Пороговая концентрация для клеток типа ИВР равна 0.1 мкМ, а эффективная концентрация ( $EC_{50}$ ) нифедипина составила 0.2 мкМ. Пороговая концентрация нифедипина для  $dV/dt_{\max}$  у клеток, работающих в режиме СВР, составила 0.03 мкМ, а концентрация  $EC_{50}$  – 0.13 мкМ. Прекращение электрической активности у клеток, работающих в режиме ИВР, наступало при 0.5 мкМ нифедипина, тогда как клетки типа СВР продолжали генерировать ПД.



**Рис. 4.** Блокирование  $dV/dt_{max}$  у клеток типа ИВР и СВР синусно-предсердного узла мыши (А) и кролика (Б) в зависимости от концентрации нифедипина. Сплошные линии соответствуют значениям, вычисленным по уравнению Хилла. Значения приведены как  $M \pm \sigma$ ; \* –  $p < 0.05$  достоверность различий по сравнению с контролем.

Таким образом, наиболее чувствительной к действию нифедипина у обоих типов пейсмекерных клеток мыши является фаза нарастания переднего фронта ПД ( $dV/dt_{max}$ ). Клетки типа СВР сохраняли способность генерировать ПД в присутствии высокой концентрации нифедипина. Ингибирование генерации ПД у клеток с медленной  $dV/dt_{max}$  наступало при концентрации нифедипина равной 0.5 мкМ, у клеток с высокой  $dV/dt_{max}$  – при 1 мкМ. Полное прекращение электрической активности у препаратов СП узла мыши наступало при действии 2 мкМ нифедипина.

*Эффекты нифедипина на параметры ПД клеток СП узла у кролика.* Анализ полученных результатов выявил, что у клеток, работающих в режиме ИВР ( $dV/dt_{max} = 5.6 \pm 1.8$  В/с), нифедипин 0.1 мкМ ( $n=5$ ) вызывал снижение амплитуды ПД от  $71 \pm 6$  мВ до  $53 \pm 14$  мВ (на 25%) и увеличение длительности ДПД<sub>20</sub> на 10%. Скорость фазы быстрой деполяризации замедлялась от  $5.6 \pm 1.8$  до  $2.8 \pm 1.3$  В/с (на 49%). У клеток, работающих в режиме СВР ( $dV/dt_{max} = 24.5 \pm 6.5$  В/с) нифедипин (0.1 мкМ,  $n=3$ ) приводил к снижению амплитуды ПД от  $80 \pm 2$  до  $72 \pm 2$  мВ (на 10%) и замедлению  $dV/dt_{max}$  от  $24.5 \pm 6.5$  до  $15 \pm 5$  (на 39%). Повышение концентрации нифедипина от 0.1 до 0.5 мкМ ( $n=4$ ) приводило к подавлению электрической активности у полосок СП узла кролика на 7–10 мин экспозиции.

Рассчитанная на основании уравнения Хилла эффективная концентрация ( $EC_{50}$ ) нифедипина для клеток, работающих в режиме ИВР, кролика составила  $\sim 0.10$  мкМ, для клеток типа СВР – 0.15 мкМ (рис. 4).

Таким образом, у клеток СП узла кролика наиболее подвержены действию нифедипина амплитуда ПД и  $dV/dt_{max}$ . При этом установлено, что клетки типа ИВР чувствительнее (в 1.4 раза) к ингибированию  $Ca^{2+}$ -тока, чем клетки типа СВР. Кроме того, нифедипин (0.5 мкМ) замедлял скорость фазы 4, что свидетельствует о вкладе  $Ca^{2+}$ -тока L-типа в формирование фазы медленной диастолической деполяризации.

#### **Влияние гипонатриевых растворов на параметры ПД клеток СП узла у мыши**

Для оценки суммарного вклада  $Na^+$ -токов в автоматизм исследованы эффекты гипонатриевых растворов на параметры ПД клеток СП узла мыши. В растворе Тироде  $Na^+$  заменяли на трис на 25, 50 и 70% по сравнению с контролем.

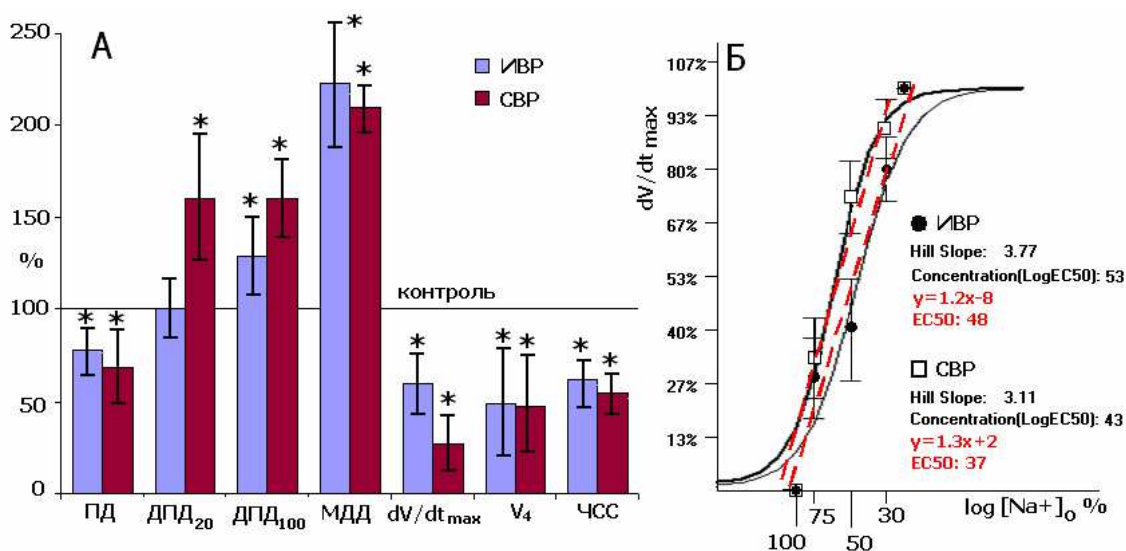
У клеток типа ИВР снижение  $[Na^+]_o$  в солевом растворе в два раза (на 50%,  $n=8$ ) приводило к снижению амплитуды ПД на 22% и увеличению ДПД<sub>100</sub> на 29%. Скорость нарастания ПД в фазу 0 замедлялась на 42% (от  $2.4 \pm 0.7$  до  $1.4 \pm 0.4$  В/с). Длительность

МДД возрастала в два раза, а  $V_4$  снижалась на 51%, что приводило к замедлению генерации ПД на 39% по сравнению с контролем (рис. 5, 6).

У клеток типа СВР при снижении внеклеточного  $Na^+$  на 50% ( $n=5$ ) зарегистрировано снижение амплитуды ПД от  $52 \pm 7$  до  $35 \pm 10$  мВ (на 32%). Длительность ПД на уровне 20% (ДПД<sub>20</sub>) и 100% (ДПД<sub>100</sub>) реполяризации увеличивалась на 60%. Скорость нарастания переднего фронта ПД замедлялась от  $17 \pm 3.6$  до  $4.5 \pm 4.0$  В/с (на 73%). Фаза МДД увеличивалась в два раза, а ее скорость снижалась на 53%, что приводило к замедлению частоты генерации ПД на 46%.

Прекращение спонтанной активности у препаратов СП узла мышцы регистрировали на 7–10 мин экспозиции в растворе с 30%  $[Na^+]_o$ . Это сопровождалось постепенным снижением амплитуды ПД и  $dV/dt_{max}$ . Частота генерации ПД замедлялась на 63% за счет удлинения МДД в 4 раза и замедления  $V_4$  на 91%.

По результатам экспериментов с помощью уравнения Хилла и линейного уравнения построены кривые зависимости  $dV/dt_{max}$  от  $[Na^+]_o$ . Для клеток типа ИВР значение  $[Na^+]_o$ , при которой  $dV/dt_{max}$  снижается на 50% ( $EC_{50}$ ), рассчитанное на основе уравнения Хилла и линейного уравнения составило  $\sim 70$  мМ/л, для клеток типа СВР – 84 мМ/л (рис. 5). Анализ кривых показал, что снижение скорости нарастания переднего фронта в фазу 0 происходило пропорционально снижению трансарколеммального градиента  $Na^+$ .



**Рис. 5.** Изменение электрофизиологических параметров ПД клеток водителя ритма СП узла мышцы при понижении трансарколеммального градиента  $Na^+$ . А. Изменение основных параметров ПД у клеток типа ИВР и СВР в присутствии 50 % гипонатриевого раствора. Уровень 100% соответствует контролю. \* –  $p < 0.05$  достоверность различий по сравнению с контролем. Б. Снижение скорости фазы быстрой деполяризации ПД клеток, работающих в режиме ИВР и СВР, при варьировании внеклеточной концентрации  $Na^+$ . Сплошные линии соответствуют значениям, вычисленным по уравнению Хилла, красные пунктирные линии соответствуют значениям, рассчитанным с помощью линейного уравнения. Значения приведены как  $M \pm \sigma$ .

Таким образом, клетки типа ИВР и СВР синусно–предсердного узла мышцы оказались чувствительны к снижению внеклеточного  $Na^+$ . Установлено, что  $dV/dt_{max}$  у клеток, работающих в режиме ИВР устойчивее к гипонатриевому раствору (50%), чем у клеток типа СВР. Эти данные согласуются с результатами ингибирования  $dV/dt_{max}$  блокаторами  $Na^+$ -каналов (лидокаином, ТТХ), описанными в этой работе ранее.

#### Изменение морфологии ПД при ингибировании тока $Na^+/K^+$ -насоса

Для исследования вклада тока  $Na^+/K^+$ -насоса ( $I_{NaK}$ ) в формирование ПД пейсмекерных клеток проведена серия экспериментов со специфическим блокатором  $Na^+/K^+$ -АТФазы – убаином.

*Эффекты убаина на генерацию ПД клеток типа истинного водителя ритма у мыши.* При добавлении 1 мкМ убаина в перфузирующий раствор наблюдали увеличение длительности ПД на уровне 20% и 90% реполяризации на 25% и 17% соответственно. Скорость фазы быстрой деполяризации замедлялась от 2.6 до 2.0 В/с (на 23%). В результате частота генерации ПД снижалась на 10% по сравнению с контролем. Повышение концентрации убаина от 1 до 10 мкМ (n=9) вызывало замедление частоты генерации ПД на 14% за счет увеличения длительности ПД (ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>90</sub>) и длительности фазы МДД на 20% и 25%, соответственно. Регистрировали снижение  $dV/dt_{max}$  и  $V_4$  на 34% и 27% соответственно (рис. 6). Ингибирование генерации ПД у препаратов СП узла мыши зарегистрировано при 100 мкМ убаина.

*Эффекты убаина на параметры ПД клеток СП узла у кролика.* При добавлении в перфузирующий раствор 1 мкМ убаина у клеток, работающих в режиме ИВР ( $dV/dt_{max}=4\pm 0.9$  В/с, n=3) и СВР ( $dV/dt_{max}=23\pm 2$  В/с, n=4), СП узла кролика зарегистрировано повышение скорости фазы быстрой деполяризации на 10–15%. Увеличение концентрации убаина от 1 до 10 мкМ (n=5) у клеток типа СВР ( $dV/dt_{max}=21.2\pm 4.6$  В/с) на 1 мин экспозиции приводило к повышению величины  $E_{max}$  на 4–5 мВ. На 2–4 мин регистрировали деполяризацию сарколеммы на 18% (от  $-69\pm 7$  до  $-56\pm 7$  мВ) и снижение амплитуды ПД на 33%. Скорость фазы быстрой деполяризации замедлялась на 41%. Длительность фазы МДД укорачивалась на 26%, что приводило к увеличению частоты генерации ПД на 13%. После 5 мин регистрировали урежение генерации ПД на 28% по сравнению с 2–4 мин экспозиции убаина и на 19% по сравнению с контролем, появление аритмий и на 7–9 мин подавление спонтанной электрической активности.

Таким образом, эффекты убаина (10 мкМ) на генерацию ПД у кролика носили двухфазный характер: сначала фаза диастолической деполяризации укорачивалась, а затем происходило ее удлинение. На первой минуте экспозиции блокатора амплитуда ПД повышалась, далее регистрировали постепенное снижение и на 8 мин осциляторную активность величиной около 10 мВ. Убаин (10 мкМ) замедлял скорость фазы быстрой деполяризации на 41% и 34% у кролика и мыши соответственно. Полное ингибирование генерации ПД зарегистрировано у кролика при действии 10 мкМ, у мыши – при 100 мкМ убаина.

#### **Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Проведено подробное сопоставление полученных результатов с данными литературы, на основании, которого выполнена оценка функциональной роли  $Na^+$ -тока, медленного  $Ca^{2+}$ -тока L-типа и тока  $Na^+/K^+$ -насоса. Оценен суммарный вклад ионов  $Na^+$  в формирование автоматизма пейсмекерных клеток СП узла мыши. Проведена сравнительная оценка эффектов блокаторов ионных токов и выявлены видовые различия в генерации ПД у клеток водителя ритма у мыши и кролика.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

С помощью микроэлектродной техники с использованием специфических блокаторов ионных каналов и растворов с пониженным содержанием ионов натрия на многоклеточных препаратах СП узла у мыши и кролика оценена функциональная роль  $Na^+$ -тока, тока  $Na^+/K^+$ -насоса и дополнительно  $Ca^{2+}$ -тока L-типа в формировании трансмембранных ПД клеток водителя ритма (рис. 6.).

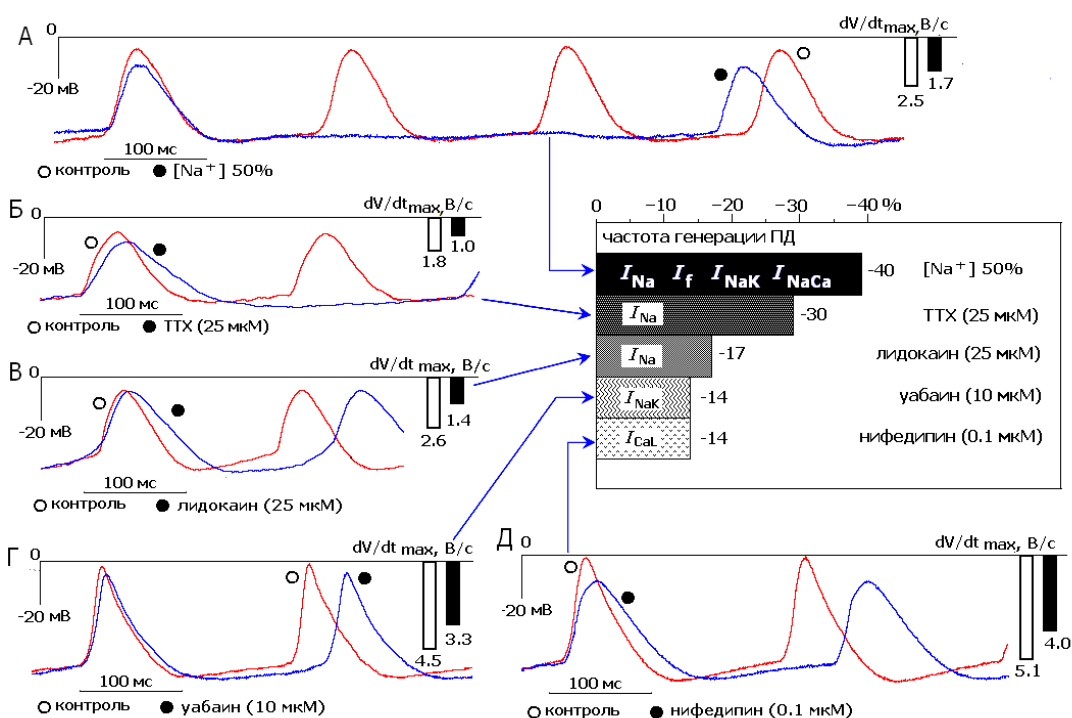


Рис. 6. Изменение конфигурации ПД и частоты генерации спонтанных импульсов у клеток, работающих в режиме истинного водителя ритма, СП узла мыши в присутствии гипонатриевго раствора (А) и селективных блокаторов  $Na^+$ -тока (Б, В), тока  $Na^+/K^+$ -насоса (Г) и медленного  $Ca^{2+}$ -тока L-типа (Д).

На основании полученных результатов мы полагаем, что у пейсмекерных клеток СП узла мыши входящий  $Na^+$ -ток участвует в формировании фазы быстрой деполяризации и фазы медленной диастолической деполяризации. Вклад  $Na^+$ -тока в фазу 0 составляет 30–35% у клеток типа истинного водителя ритма и 50–55% – у клеток типа скрытого водителя ритма. Участие  $Na^+$ -тока в формировании фазы 4 оценивается нами в ~10–15%. Вклад тока  $Na^+/K^+$ -насоса и  $Ca^{2+}$ -тока L-типа в частоту генерации ПД клеток СП узла мыши составляет ~14%. Суммарный вклад токов с участием ионов натрия в генерацию автоматизма клеток СП узла мыши приблизительно равен 40%.

Полученные данные свидетельствуют о различиях в эффектах блокаторов ионных каналов у клеток водителя ритма СП узла у мыши и кролика. Установлено, что  $Na^+$ -каналы в СП узле кролика в восемь раз устойчивее к ингибированию лидокаином, чем у клеток водителя ритма СП узла мыши. В тоже время пейсмекерные клетки СП узла кролика продемонстрировали высокую чувствительность к ингибированию тока  $Na^+/K^+$ -насоса (~10 раз) и к ингибированию  $Ca^{2+}$ -тока L-типа (~4 раз), чем было получено на клетках СП узла у мыши.

## ВЫВОДЫ

1. У клеток истинного и скрытого водителя ритма синусно-предсердного узла мыши тетродотоксин и лидокаин увеличивают длительность пика потенциала действия и диастолической деполяризации и приводят к замедлению максимальной скорости фазы быстрой деполяризации. Эффективная концентрация лидокаина, ингибирующая скорость фазы быстрой деполяризации на 50% у клеток водителя ритма мыши составила ~28 мкМ, что в восемь раз ниже, чем у кролика.

2. При сопоставимой скорости нарастания переднего фронта потенциала действия эффективная концентрация нифедипина, подавляющая скорость нарастания потенциала действия на 50% у клеток истинного водителя ритма мыши составляла 0.2 мкМ, что в два раза выше, чем у кролика.



3. Снижение концентрации ионов натрия в физиологическом растворе приводит к пропорциональному замедлению максимальной скорости деполяризации потенциалов действия в фазу 0 у клеток водителя ритма мыши.

4. Блокатор тока  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса убаин (10 мкМ) вызывает замедление частоты генерации потенциалов действия на 14% у клеток синусно-предсердного узла мыши и полностью подавляет спонтанную электрическую активность клеток синусно-предсердного узла кролика.

5. Ингибиторные эффекты блокаторов  $\text{Na}^+$ -каналов и гипонатриевого раствора свидетельствуют о том, что в клетках синусно-предсердного узла мыши с самой медленной скоростью нарастания переднего фронта потенциала действия (3 В/с) присутствует  $\text{Na}^+$ -ток, который вместе с  $\text{Ca}^{2+}$ -током L-типа участвует в формировании фазы 0 и фазы диастолической деполяризации. Вклад  $\text{Na}^+$ -тока в фазу 0 составляет 30–35%, а в фазу медленной диастолической деполяризации – 10–15%.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в журналах из списка ВАК РФ:

**Lebedeva E.A.**, Golovko V.A. An analysis of lidocaine and hyposodium solution effects on generation of pacemaker action potential in mouse sinoatrial node // In: Proceeding XXX Meeting ISHR, Haifa, Eds. Flugelman M., F. DeLisa, Medimond. 628. 2011. Bologna, P.38-42. (WoS, Scopus)

**Лебедева Е.А.** Электрофизиологические параметры потенциалов действия клеток типа скрытого водителя ритма сердца кролика и мыши при действии лидокаина // Изв. Коми НЦ УрО РАН. 2013. №3 (15). С. 58-61. (РИНЦ)

Головко В. А., **Лебедева Е. А.** Участие чувствительного к лидокаину и тетродотоксину тока в генерировании фазы быстрой деполяризации потенциалов действия с низкой  $dV/dt_{\max}$  у клеток синоаурикулярного узла мыши // Фізіологічний журн., Киев, Т. 59, №5, 2013, С 31-40. (WoS)

Golovko V, Gonotkov M, **Lebedeva E.** Effects of 4-aminopyridine on action potentials generation in mouse sinoauricular node strips // *Physiol Rep.* 2015. 3 (7). e12447. doi: 10.14814/phy2.12447. P. 1–8. (WoS, Scopus)

### Другие публикации:

**Лебедева Е.А.** Эффекты внеклеточной концентрации натрия и лидокаина на генерацию пейсмекерной активности синусно-предсердного узла мыши // Матер. докл. X Всерос. мол. науч. конф. Ин-та физиологии Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар: Изд-во ИФ Коми НЦ УрО РАН. 2011. С. 124-128.

**Лебедева Е.А.**, Головко В.А. Изменения конфигурации потенциалов действия клеток синусно-предсердного узла мыши при действии лидокаина // Физиология кровообращения. Сборник тезисов. М.: МАКС Пресс. 2012. С. 95.

**Лебедева Е.А.** Генерация потенциалов действия у клеток типа скрытого водителя ритма синусно-предсердного узла кролика и мыши при действии лидокаина // Матер. докл. XI Всерос. мол. науч. конф. Ин-та физиологии Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар: Изд-во ИФ Коми НЦ УрО РАН. 2012. С. 131-135.

**Лебедева Е.А.**, Артеева Н.В., Головко В.А. Различия в чувствительности к лидокаину натриевых каналов клеток синусно-предсердного узла кролика и мыши // Матер. докл. IV Съезд биофизиков России. Симпозиум I «Физико-химические основы функционирования биополимеров и клеток». Нижний Новгород. 2012. С. 173.

Gonotkov M., **Lebedeva E.** and V. Golovko. May the transient outward current 4-aminopyridine sensitive contribute to the “plateau” of the action potential in mouse sinoatrial node? // *Proc. Physiol. Soc.* V. 28. 2012. P. 25-26. (WoS 2.602).

**Lebedeva E., Golovko V.** Lidocaine and tetrodotoxin are decreased upstroke velocity of the action potentials in cells of mouse sinoauricular node with slowest  $dV/dt_{max}$  // Abst. 37<sup>th</sup> Inter. Congress of Physiol. Sciences. Birmingham, UK, July 21-26, 2013. P. 475-476.

**Лебедева Е.А.** Действие блокаторов натриевых каналов на электрическую активность клеток истинного водителя ритма в сердце мыши // Материалы докладов II всероссийской (XVII) молодежной научной конференции «Молодежь и наука на севере». Том I. Физиология человека и животных. Медицина и здравоохранение. Фундаментальные науки – медицине. Сыктывкар, Республика Коми, Россия, 22-26 апреля 2013 г. С. 186-187.

**Лебедева Е.А.** Эффекты убаина на генерацию трансмембранных потенциалов действия клеток водителя ритма сердца кролика и мыши // Матер. докл. XI Всерос. мол. науч. конф. Ин-та физиологии Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар: Изд-во ИФ Коми НЦ УрО АН. 2014. С. 82-85.

**Лебедева Е.А., Головкин В.А.** Вклад кальциевого тока в клетках синусно-предсердного узла мыши и кролика имеет видовые особенности // V Съезд биофизиков России. Материалы докладов. Ростов-на-Дону. 2015. Т. 2. С. 306.

**Лебедева Е.А., Гонотков М.А., Головкин В.А.** Вклад ионов натрия в формирование потенциалов действия у клеток синусно-предсердного узла мыши // Физиология кровообращения: VI Всероссийская с международным участием школа-конференция. Москва, 2-5 февраля 2016 г.: Тезисы докладов. М.: МАКС Пресс. 2016. С. 84.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

$[Na^+]_o$  – внеклеточная концентрация  $Na^+$

$dV/dt_{max}$  – максимальная скорость нарастания ПД в фазу 0

$EC_{50}$  – концентрация блокатора, при которой параметр снижается на 50%

$E_{max}$  – максимальный диастолический потенциал

$V_4$  – скорость фазы медленной диастолической деполяризации

АПД – амплитуда ПД

ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> и ДПД<sub>100</sub> – длительность потенциала действия на уровне 20%, 50%, 90% и 100% реполяризации

ИВР – истинный водитель ритма

МДД – длительность медленной диастолической деполяризации, фаза 4, пейсмекерный потенциал

ОВ – овершут

ПД – потенциал действия

ПП – потенциал порога

СВР – скрытый водитель ритма

СД – амплитуда спонтанной деполяризации

СП узел – синусно-предсердный узел

ТТХ – тетродотоксин

ЧСС – частота генерации ПД