

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 591.112.1

Характеристики быстрого натриевого тока в изолированных кардиомиоцитах перепела**Т.С. Филатова^{1, *} , Д.В. Абрамочкин^{1, 2} **

¹*Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;*

²*Лаборатория электрофизиологии сердца, Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии, Россия, 121552, г. Москва, ул. Черепковская 3-я, д. 15а*

*e-mail: filatova@mail.bio.msu.ru

Быстрый натриевый ток (I_{Na}) обеспечивает деполяризацию рабочего миокарда, определяя возбудимость его клеток и скорость распространения возбуждения. Нарушения активации и инактивации каналов натриевого тока могут приводить к развитию различных аритмий. У большинства позвоночных, за исключением млекопитающих, I_{Na} исследован достаточно слабо – в том числе и у птиц, представляющих большой интерес для сравнительной физиологии. Данная работа впервые рассматривает характеристики быстрого натриевого тока в миокарде взрослых птиц. С использованием метода пэтч-кламп мы зарегистрировали I_{Na} в изолированных предсердных и желудочковых кардиомиоцитах японского перепела. Ток имел большую амплитуду (в сравнении с другими позвоночными) и быстро восстанавливался после инактивации; быстрая временная константа инактивации I_{Na} в предсердных миоцитах оказалась меньше, чем в желудочковых. Параметры стационарной активации и инактивации позволяют предположить меньшую выраженность оконного натриевого тока в миокарде птиц по сравнению с таковым в миокарде млекопитающих. В желудочковых кардиомиоцитах перепела блокатор позднего натриевого тока ранолазин вызывал слабое снижение пиковой амплитуды I_{Na} и не менял кинетику инактивации, однако сдвигал кривую стационарной активации в сторону более отрицательных потенциалов, укорачивал потенциалы действия и снижал максимальную скорость нарастания их переднего фронта. Таким образом, можно предполагать, что данные характеристики I_{Na} в миокарде перепела отражают адаптацию к высокой частоте сокращений сердца птиц и могут указывать на возможные различия в структуре и функционировании натриевых каналов в сердцах птиц и млекопитающих.

Ключевые слова: *птицы, миокард, изолированные кардиомиоциты, быстрый натриевый ток, пэтч-кламп, ранолазин*

Быстрый натриевый ток (I_{Na}) опосредует вход ионов натрия внутрь клетки, обеспечивая быструю деполяризацию в фазе 0 потенциала действия (ПД) и определяя возбудимость ткани, а также характер и скорость проведения возбуждения. Многообразие аритмий, связанных с нарушениями натриевого тока, указывает на его исключительно важную роль для работы сердца [1]. Современные модели, описывающие функционирование натриевых каналов, включают 10 и более состояний каналов, а вспомогательные субъединицы могут дополнительно изменять кинетические и стационарные характеристики канала [2–4]. Доступность натриевых каналов и возбудимость миокарда определяются динамическим взаимодействием активации и инактивации каналов. Нарушения этих процессов могут привести к появле-

нию позднего натриевого тока I_{NaL} , в основе которого может лежать как замедленная инактивация, так и реактивация части каналов. Поздний ток, дополнительно деполяризующий кардиомиоциты во время фаз плато и окончательной реполяризации ПД, провоцирует возникновение постдеполяризий и re-entry, что делает актуальным поиск новых экспериментальных объектов для моделирования патологических состояний, связанных с усилением I_{NaL} , и способов их купирования [5]. В свете последних работ сердце птиц, благодаря сходному с человеческим набору ионных токов, рассматривается как перспективный модельный объект для исследований в области кардиологии [6]. Однако I_{Na} в миокарде птиц практически не изучен. В более ранних работах было показано, что I_{Na} появляется в миокарде эмбрио-

нов птиц на второй день развития, однако в ходе онтогенеза его характеристики меняются; была показана чувствительность I_{Na} в миокарде птиц к тетродотоксину [7, 8]. При этом, поскольку птицы в ходе эволюции независимо от млекопитающих приобрели гомойотермность и четырехкамерное сердце, способное сокращаться с большой частотой, можно ожидать, что электрическая активность их сердца и I_{Na} также претерпели соответствующие адаптационные изменения [9]. Настоящая работа ставила своей целью изучение кинетических и стационарных характеристик I_{Na} в сердце взрослых птиц, а также оценку потенциального участия позднего натриевого тока в электрической активности миокарда.

Материалы и методы

В работе использовали японских перепелов (*Coturnix japonica*, эстонская разновидность) обоих полов в возрасте 2–4 мес. с массой тела 250–350 г. Животные были получены с фермы «Орловский дворик» (г. Мытищи, Московская обл., Россия). Перед экспериментом животных содержали в течение 10 сут при световом режиме 12:12 с доступом *ad libitum* к воде и промышленному корму. Все процедуры соответствовали директиве 2010/63/EU по обращению с лабораторными животными. Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными и одобрены комиссией по биоэтике Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Изолированные кардиомиоциты перепела выделяли по описанной ранее методике [6]. Животным вводили гепарин в торакоабдоминальную полость (1000 МЕ/кг), после чего наркотизировали их изофлураном (3,5% во вдыхаемой смеси с O_2), проводили декаптацию, вскрывали торакоабдоминальную полость, вырезали сердце и помещали его на аппарат Лангендорфа для ретроградной перфузии. Сердце перфузировали несодержащим Ca^{2+} раствором для выделения (мМ): NaCl – 116; KCl – 4; NaH_2PO_4 – 1,7; $NaHCO_3$ – 25; $MgCl_2$ – 0,55; пируват натрия – 5; таурин – 20; глюкоза – 11; бычий сывороточный альбумин – 1 мг/мл; перфузию проводили при температуре 42°C; pH поддерживали на уровне 7,4 с помощью аэрации карбогеном (95% O_2 ; 5% CO_2). Спустя 5 мин после вымывания крови и остановки сердца перфузию переключали на раствор аналогичного состава, содержащий коллагеназу II (94 ед./мл, Worthington) и $CaCl_2$ (16 мкМ). Спустя 35–45 мин, после проявления признаков разрушения соединительнотканного каркаса, предсердия и желудочки разделяли, помещали в раствор Kraftbrühe (мМ): $MgSO_4$ – 3; KCl – 30; KH_2PO_4 – 30; EGTA – 0,5; глутамат калия – 50; HEPES – 20; таурин – 20; глюкоза – 10 (pH 7,2 при 24°C), измельчали и пипетировали. Изолированные клетки в течение 8 ч

хранили в растворе Kraftbrühe и использовали для работы.

Ионные токи и потенциалы действия регистрировали в изолированных кардиомиоцитах методом пэтч-кламп в конфигурации whole-cell в режиме поддержания потенциала или тока. Эксперименты проводили при комнатной температуре (24°C). Клетки помещали в экспериментальную камеру и перфузировали модифицированным физиологическим раствором. Контакт с клеткой устанавливали не менее чем через 3 мин после начала перфузии; регистрацию тока проводили спустя не менее чем 1 мин после формирования контакта. Для регистрации I_{Na} использовали раствор следующего состава (мМ): NaCl – 20; Трис-Cl 120; CsCl – 5,4; $CaCl_2$ – 1,8; $MgCl_2$ – 1; глюкоза – 10; HEPES – 10; pH 7,4. Для подавления кальциевого тока в раствор добавляли нифедипин (10^{-5} М). Для регистрации ПД использовали следующий перфузионный раствор (мМ): NaCl – 150; KCl – 5,4; $CaCl_2$ – 1,8; $MgCl_2$ – 1,2; глюкоза – 10; HEPES – 10; pH 7,4. Пэтч-пипетки изготавливали из боросиликатных стеклянных капилляров (Sutter Instruments, США). Пипеточный раствор для регистрации I_{Na} имел следующий состав (мМ): CsCl – 130; NaCl – 10; $MgCl_2$ – 1; EGTA – 5; Mg-АТФ – 4; Na_2 -ГТФ – 0,03; HEPES – 10; pH 7,2. Для регистрации ПД использовали следующий пипеточный раствор (мМ): KCl – 140; $MgCl_2$ – 1; EGTA – 5; Mg-АТФ – 4; Na_2 -ГТФ – 0,03; HEPES – 10; pH 7,2. Снижение движущей силы для Na^+ вкупе с 70% компенсацией последовательного сопротивления обеспечило стабильную регистрацию высокоамплитудного I_{Na} .

Амплитуду тока нормировали на емкость клетки и выражали в пА/пФ. Временную константу инактивации получали, используя стандартное биэкспоненциальное преобразование Чебышева в программной среде Clampfit 10.3 (Molecular Devices, США). Стационарную инактивацию тока оценивали как отношение тока при заданном потенциале предимпульса к его максимальной амплитуде (I/I_{max}). Стационарную активацию I_{Na} оценивали по соотношению проводимости g/g_{max} , где g определяется как:

$$g = \frac{I_V}{V - V_{rev}} \quad (1)$$

Зависимость полученных соотношений I/I_{max} и g/g_{max} от поддерживаемого потенциала выражали в виде функции Больцманна:

$$y = \frac{1}{1 + e^{-\frac{V - V_{50}}{k}}} \quad (2)$$

где V – поддерживаемый мембранный потенциал, V_{50} – потенциал, при котором остаются доступными для активации 50% каналов.

Восстановление I_{Na} от инактивации изучали, используя двухимпульсовый протокол (рис. 2) и оценивая соотношения амплитуд тестового и контрольного импульса (I_2/I_1); зависимость данного соотношения от интервала между импульсами выражали как моноэкспоненциальную зависимость:

$$I_2 / I_1 = 1 - a \times \exp(-t / \tau) \quad (3),$$

где τ – временная константа восстановления I_{Na} от инактивации.

При анализе конфигурации ПД оценивали максимальную скорость нарастания переднего фронта, а также длительность ПД на уровнях реполяризации 90%, 50% и 25%.

Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего для n клеток. Нормальность распределения выборок оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Статистическую значимость различий оценивали с использованием t -теста Стьюдента для связанных или несвязанных выборок; для сравнения стационарных параметров тока использовали критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Деполяризация от поддерживаемого потенциала -120 мВ до -60 мВ и более вызывала в желудочковых и предсердных кардиомиоцитах перепела активацию быстро активирующегося и инактивирующегося входящего тока (рис. 1, А, Б). Ток был чувствителен к тетродотоксину (10^{-6} М) и определен как I_{Na} [8]. Амплитуда I_{Na} и форма его вольт-амперной характеристики не различались между предсердными и желудочковыми клетками. Максимум пиковой амплитуды I_{Na} соответствовал деполяризации до -30 мВ, в желудочковых клетках он достигал $-54,55 \pm 2,32$ пА/пФ, в предсердных – $-56,61 \pm 2,58$ пА/пФ; значимых различий не было ($p = 0,563$; рис. 1, В). Сравнение с другими группами позвоночных показывает, что, видимо, для птиц характерна наибольшая плотность каналов I_{Na} в миокарде [8, 10]. Это согласуется с данными о высокой, по сравнению с таковой у других позвоночных, скорости нарастания переднего фронта ПД в миокарде птиц [6, 11, 12]. Быстрая временная константа инактивации τ для I_{Na} в предсердных миоцитах перепела была ниже, чем в желудочковых (рис. 1, Г), что характерно для

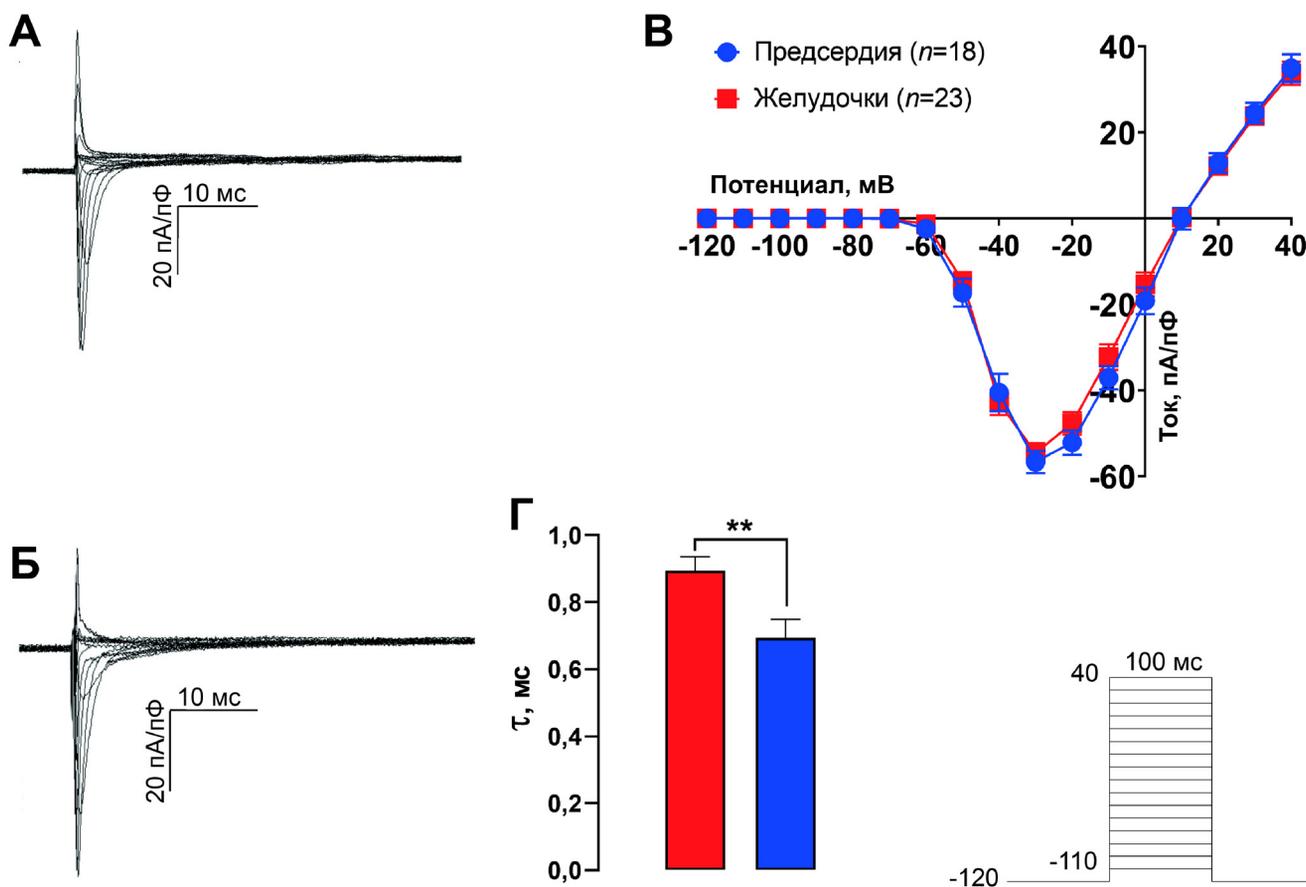


Рис. 1. Быстрый натриевый ток (I_{Na}) в изолированных кардиомиоцитах перепела. А, Б – репрезентативные записи I_{Na} в желудочковых и предсердных кардиомиоцитах перепела соответственно. В – вольт-амперные характеристики I_{Na} в желудочковых ($n = 23$) и предсердных ($n = 18$) кардиомиоцитах перепела. Г – быстрая временная константа инактивации в желудочковых ($n = 23$) и предсердных ($n = 18$) кардиомиоцитах перепела при -30 мВ; ** – $p < 0,01$ (t-тест Стьюдента).

многих позвоночных [10]. По сравнению с другими позвоночными, включая человека, инактивация I_{Na} в миокарде перепела происходит заметно быстрее [10].

Стационарная активация в предсердных и желудочковых кардиомиоцитах различалась (рис. 2, А): в предсердиях V_{50} имел более положительное значение по сравнению с таковым в желудочковых клетках ($-35,59$ мВ и $-38,26$ мВ соответственно; $p < 0,0001$, тест Фишера). Кривые стационарной инактивации, полученные с использованием протокола с длительностью предимпульса 100 мс (см. рис. 2), что приблизительно соответствует длительности ПД в миокарде перепела [6], также различались ($p < 0,0001$, тест Фишера): в предсердных миоцитах кривая была сдвинута в сторону более отрицательных потенциалов ($V_{50} = -88,52$ мВ) по сравнению с таковым в желудочковых ($V_{50} = -84,76$ мВ). Таким образом, пересечение кривых стационарной активации и инактивации в желудочковых миоцитах находится при значении мембранного потенциала $-58,52$ мВ (соответствует 4,7% активных каналов), а в предсердных – при $-62,7$ мВ (соответствует 4% активных каналов). Сравнение с другими позвоночными (рыбы, амфибии, млекопитающие) не выявило резких различий в конфигурации кривых стационарной активации и инактивации [13–16]. Однако во всех этих работах был задействован протокол с длительностью предимпульса не менее 500 мс. В кардиомиоцитах перепела при увеличении длительности предимпульса до 1 с происходил сдвиг кривых стационарной инактивации в сторону более отрицательных потенциалов (рис. 2, А): в желудочковых кардиомиоцитах V_{50} сдвинулся до $-106,3$ мВ, в предсердных – до $-107,1$ мВ ($p < 0,0001$, тест Фишера). Пересечение кривых стационарной активации и инактивации также сдвигалось в сторону более отрицательных потенциалов, а площадь под графиками ниже их пересечения уменьшалась до пренебрежимо малых размеров. Поскольку площадь под пересечением кривых стационарной активации и инактивации

коррелирует с выраженностью «оконного» тока [17], можно предполагать, что при увеличении длительности прекодиционирующей деполаризации возможность реактивации натриевых каналов и возникновения «оконного» тока в кардиомиоцитах перепела значительно снижается. Аналогичный сдвиг кривой инактивации при изменении длительности предимпульса был показан в кардиомиоцитах человека [18] – однако в кардиомиоцитах перепела при аналогичном увеличении длительности предимпульса V_{50} стационарной инактивации оказывается более отрицательным. Таким образом, по сравнению с натриевыми каналами в миокарде других позвоночных, натриевые каналы в миокарде перепела обладают такими параметрами стационарной кинетики, которые снижают вероятность активации «оконного» натриевого тока, что может служить адаптацией к высокой частоте сокращения сердца птиц.

Между предсердными и желудочковыми миоцитами не было различий по временному ходу восстановления I_{Na} от инактивации ($p = 0,3331$, тест Фишера). Поскольку в данной работе не рассматривалось восстановление I_{Na} от инактивации при интервалах менее 50 мс, результирующая кривая была моноэкспоненциальной; временная константа данного процесса составила 62,76 мс (рис. 2, Б). Прямое сравнение данных с результатами аналогичных исследований затруднительно в силу различий в экспериментальных условиях. Сравнение только временной константы малоинформативно: так, в кардиомиоцитах рыб *Danio rerio* при использовании сходного протокола временная константа составляет менее 30 мс – однако при межимпульсном интервале 50 мс соотношение I_2/I_1 в кардиомиоцитах перепела оказывается значительно выше [16]. То есть каналы I_{Na} в миокарде перепела переходят из инактивированного состояния в закрытое быстрее, чем, по крайней мере, у некоторых видов холоднокровных животных, и способны обеспечивать более высокие значения частоты сокращений сердца. В аналогичных исследованиях для кардиомиоцитов мле-

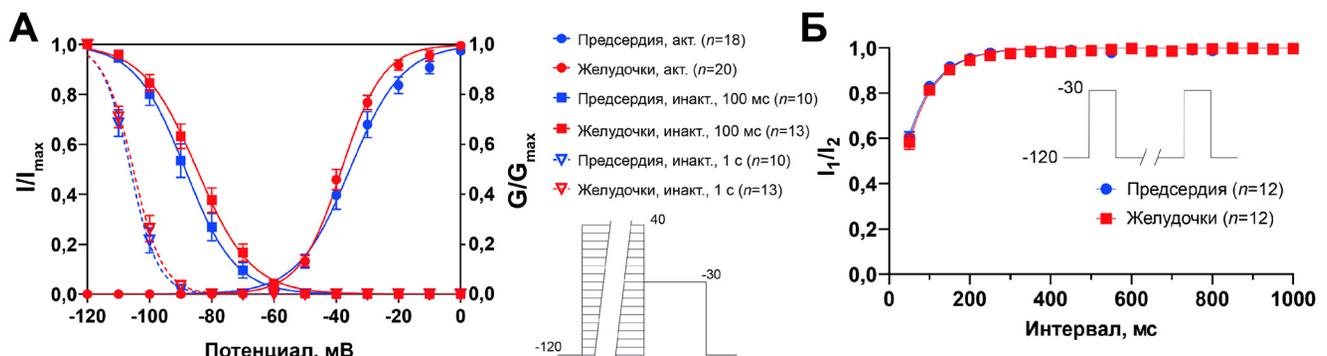


Рис. 2. Кинетические характеристики I_{Na} . А – кривые стационарной активации и инактивации в предсердных и желудочковых миоцитах перепела. Инактивационные кривые были построены с использованием разной длительности предимпульса (100 мс или 1 с). Б – восстановление I_{Na} от инактивации.

копитающих (человек, крыса), были показаны сходные значения соотношения I_2/I_1 и временной константы при одинаковых межимпульсных интервалах [14, 15, 19].

Поскольку ввиду большей длительности ПД (по сравнению с предсердным миокардом) электрическая активность желудочкового миокарда в большей степени благоприятствует проявлению позднего тока Na^+ [6, 20], мы изучили эффекты блокатора I_{NaL} ранолазина в желудочковых кардиомиоцитах перепела. Ранолазин в концентрации 10 мкМ вызывал сдвиг кривой стационарной инактивации в сторону более отрицательных потенциалов (рис. 3, А; $p < 0,0001$, тест Фишера) – то есть, как и в миокарде млекопитающих, ранолазин связывается с каналами I_{Na} в закрытом состоянии [21]. Ранолазин слабо влиял на инактивацию I_{Na} в желудочковых кардиомиоцитах (рис. 3, В, Г; $p = 0,055$ для τ_f , $p = 0,981$ для τ_s), однако подавлял пиковый I_{Na} , снижая его амплитуду на $13,26 \pm 2,90\%$ (рис. 3, Б). Предыдущие работы показали, что ранолазин оказывает более выраженное влияние на I_{Na} , в том числе на пиковый ток, в предсердном миокарде, что указывает на различия каналов I_{Na} в желудочковом и предсердном миокарде [22]. Однако в миокарде птиц структура α -субъединицы, а также набор и структура β -субъединиц практически не изучены и могут отличаться от таковых в миокарде млекопитающих. Ранолазин также изменял конфигурацию ПД в же-

лудочковых кардиомиоцитах перепела (рис. 3, Д): в концентрации 10 мкМ он вызывал снижение скорости нарастания переднего фронта ПД (рис. 3, Е), а также укорочение ПД на уровнях 90% и 50% реполяризации на $7,08 \pm 1,95\%$ и $6,11 \pm 1,42\%$ соответственно (рис. 3, Ж). Стоит отметить, однако, что поскольку ранолазин также подавляет калиевый ток задержанного выпрямления I_{Kr} , опосредующий реполяризацию миокарда перепела, то наблюдаемое в результате подавления I_{NaL} снижение длительности ПД было замаскировано замедлением реполяризации из-за подавления I_{Kr} [6, 23]. Поскольку восстановление I_{NaL} после инактивации происходит гораздо медленнее по сравнению с таковым для пикового I_{Na} , можно ожидать, что при физиологической частоте сокращений сердца перепела вклад I_{NaL} будет гораздо менее значительным [24]. Однако в ситуациях, когда частота сердечного ритма снижается, а длительность ПД увеличивается – как, например, в состоянии торпора – I_{NaL} может играть более значительную роль.

Таким образом, кинетические и стационарные характеристики I_{Na} в миокарде перепела предположительно отражают адаптацию электрической активности сердца птиц к высоким частотам сокращений, что необходимо для обеспечения высоких энергетических потребностей. При этом полученные данные указывают на определенные различия в функционировании быстрых натриевых каналов в сердце птиц и млекопитающих, проистекающие

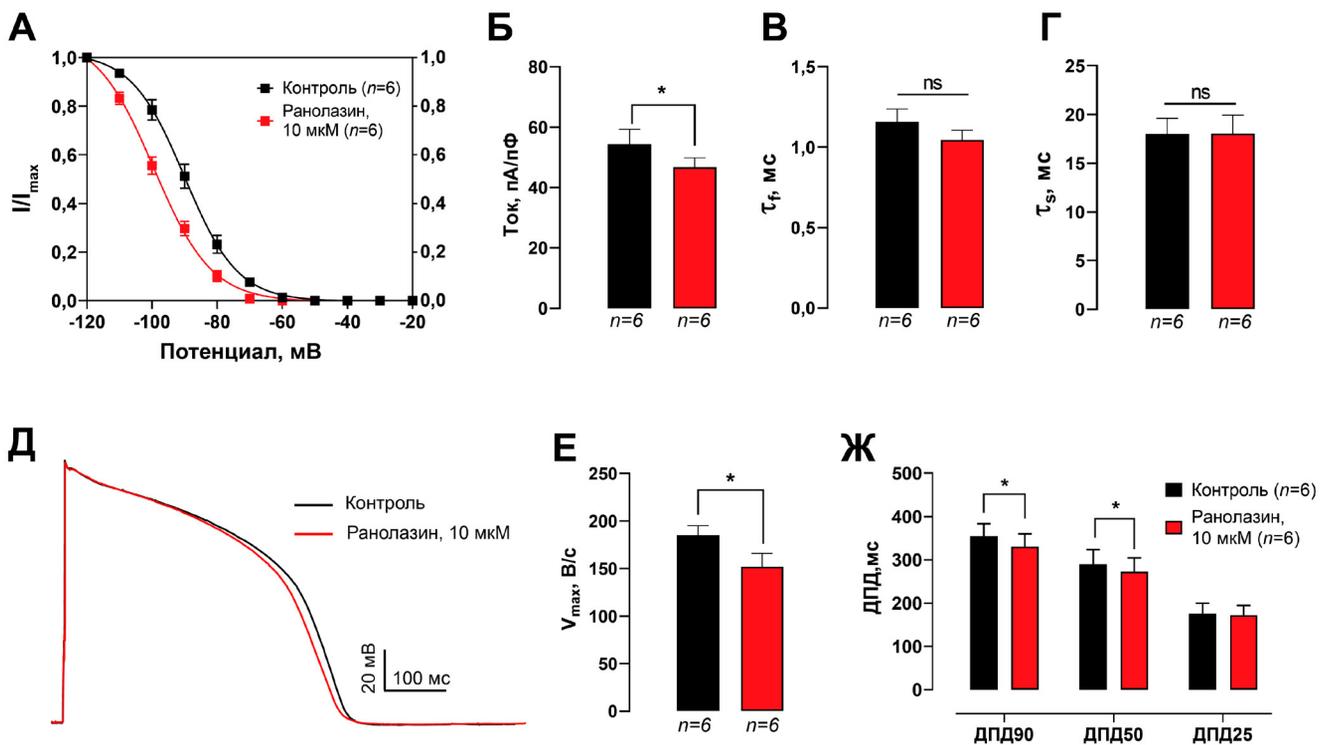


Рис. 3. Влияние ранолазина на конфигурацию I_{Na} и потенциалов действия в желудочковых кардиомиоцитах перепела. **А, Б, В, Г** – влияние ранолазина на стационарную инактивацию, пиковую амплитуду и временные константы (τ_f и τ_s) инактивации I_{Na} соответственно. **Д** – репрезентативные записи ПД в желудочковых миоцитах перепела в контроле и в присутствии 10 мкМ ранолазина. **Е, Ж** – влияние ранолазина на максимальную скорость нарастания переднего фронта и на длительность ПД в желудочковых миоцитах перепела; * – $p < 0,05$ (t -тест Стьюдента для связанных выборок).

из независимого, конвергентного приобретения эволюционных изменений и, вероятно, имеющие под собой в основе различия в структуре и наборе субъединиц натриевых каналов.

Работа выполнена в рамках государственного задания (проект № 122012100156-5) и научно-об-

разовательной школы МГУ «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология». Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными и одобрены комиссией по биоэтике Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Amin A.S., Asghari-Roodsari A., Tan H.L. Cardiac sodium channelopathies // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2010. Vol. 460. N 2. P. 223–237.
2. Asfaw T.N., Bondarenko V.E. A mathematical model of the human cardiac Na⁺ channel // *J. Membr. Biol.* 2019. Vol. 252. N 1. P. 77–103.
3. Isom L.L., Jongh K.S. De, Patton D.E., Reber B.F.X., Offord J., Charbonneau H., Walsh K., Goldin A.L., Catterall W.A. Primary structure and functional expression of the $\beta 1$ subunit of the rat brain sodium channel // *Science.* 1992. Vol. 256. N 5058. P. 839–842.
4. Haufe V., Cordeiro J.M., Zimmer T., Wu Y.S., Schiccitano S., Benndorf K., Dumaine R. Contribution of neuronal sodium channels to the cardiac fast sodium current I_{Na} is greater in dog heart Purkinje fibers than in ventricles // *Cardiovasc. Res.* 2005. Vol. 65. N 1. P. 117–127.
5. Chadda K.R., Jeevaratnam K., Lei M., Huang C.L.H. Sodium channel biophysics, late sodium current and genetic arrhythmic syndromes // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2017. Vol. 469. N 5–6. P. 629–641.
6. Filatova T.S., Abramochkin D. V., Pavlova N.S., Pustovit K.B., Konovalova O.P., Kuzmin V.S., Dobrzynski H. Repolarizing potassium currents in working myocardium of Japanese quail: Novel translational model for cardiac electrophysiology // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2021. Vol. 255: 110919.
7. Fujii S., Ayer R.K., DeHaan R.L. Development of the fast sodium current in early embryonic chick heart cells // *J. Membr. Biol.* 1988. Vol. 101. N 1. P. 209–223.
8. Vornanen M., Hassinen M., Haverinen J. Tetrodotoxin sensitivity of the vertebrate cardiac Na⁺ current // *Mar. Drugs.* 2011. Vol. 9. N 11. P. 2409–2422.
9. Jensen B., Wang T., Christoffels V.M., Moorman A.F.M. Evolution and development of the building plan of the vertebrate heart // *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell Res.* 2013. Vol. 1833. N 4. P. 783–794.
10. Abramochkin D. V., Filatova T.S., Pustovit K.B., Voronina Y.A., Kuzmin V.S., Vornanen M. Ionic currents underlying different patterns of electrical activity in working cardiac myocytes of mammals and non-mammalian vertebrates // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2022. Vol. 268: 111204.
11. Hassinen M., Abramochkin D. V., Vornanen M. Seasonal acclimatization of the cardiac action potential in the Arctic navaga cod (*Eleginus navaga*, Gadidae) // *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 2014. Vol. 184. N 3. P. 319–327.
12. Islam M.A., Nojima H., Kimura I. Muscarinic M1 receptor activation reduces maximum upstroke velocity of action potential in mouse right atria. // *Eur. J. Pharmacol.* 1998. Vol. 346. N 2–3. P. 227–236.
13. Clark R.B., Giles W. Sodium current in single cells from bullfrog atrium: voltage dependence and ion transfer properties // *J. Physiol.* 1987. Vol. 391. N 1. P. 235–265.
14. Sakakibara Y., Wasserstrom J.A., Furukawa T., Jia H., Arentzen C.E., Hartz R.S., Singer D.H. Characterization of the sodium current in single human atrial myocytes // *Circ. Res.* 1992. Vol. 71. N 3. P. 535–546.
15. Sakakibara Y., Furukawa T., Singer D.H., Jia H., Backer C.L., Arentzen C.E., Wasserstrom J.A. Sodium current in isolated human ventricular myocytes // *Am. J. Physiol. Hear. Circ. Physiol.* 1993. Vol. 265. N 4. P. H1301–H1309.
16. Haverinen J., Hassinen M., Korajoki H., Vornanen M. Cardiac voltage-gated sodium channel expression and electrophysiological characterization of the sodium current in the zebrafish (*Danio rerio*) ventricle // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2018. Vol. 138. P. 59–68.
17. Zaza A., Rocchetti M. The late Na⁺ current – origin and pathophysiological relevance // *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2013. Vol. 27. N 1. P. 61–68.
18. Schneider M., Proebstle T., Hombach V., Hannekum A., Rüdell R. Characterization of the sodium currents in isolated human cardiocytes // *Pflugers Arch.* 1994. Vol. 428. N 1. P. 84–90.
19. Shander G.S., Fan Z., Makielski J.C. Slowly recovering cardiac sodium current in rat ventricular myocytes: effects of conditioning duration and recovery potential // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 1995. Vol. 6. N 10. P. 786–795.
20. Burashnikov A. Late I_{Na} inhibition as an antiarrhythmic strategy // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2017. Vol. 70. N 3. P. 159–167.
21. Rajamani S., El-Bizri N., Shryock J.C., Makielski J.C., Belardinelli L. Use-dependent block of cardiac late Na⁺ current by ranolazine // *Hear. Rhythm.* 2009. Vol. 6. N 11. P. 1625–1631.
22. Zygmunt A.C., Nesterenko V. V., Rajamani S., Hu D., Barajas-Martinez H., Belardinelli L., Antzelevitch C. Mechanisms of atrial-selective block of Na⁺ channels by ranolazine: I. Experimental analysis of the use-dependent block // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2011. Vol. 301. N 4. P. 1606–1614.
23. Antzelevitch C., Belardinelli L., Zygmunt A.C., Burashnikov A., Di Diego J.M., Fish J.M., Cordeiro J.M., Thomas G. Electrophysiological effects of ranolazine, a novel antianginal agent with antiarrhythmic properties // *Circulation.* 2004. Vol. 110. N 8. P. 904–910.
24. Carmeliet E. Action potential duration, rate of stimulation, and intracellular sodium // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2006. Vol. 17. Suppl. 1. P. S2–S7.

Поступила в редакцию 04.05.2022

После доработки 13.07.2022

Принята в печать 27.07.2022

RESEARCH ARTICLE

Characteristics of fast sodium current in isolated quail cardiomyocytes**T.S. Filatova^{1, *}** , **D.V. Abramochkin^{1, 2}** ¹ *Department of Human and Animal Physiology, Moscow State University, 1–12 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia*² *Laboratory of Cardiac Electrophysiology, National Medical Research Center for Cardiology, 15A-10 3rd Cherepkovskaya st., Moscow, 121552, Russia***e-mail: filatova@mail.bio.msu.ru*

Fast sodium current (I_{Na}) provides depolarization of working myocardium and defines the excitability of its cells and the velocity of excitation propagation in the tissue. Alterations in activation and inactivation of I_{Na} channels can lead to the onset of various arrhythmias. Cardiac I_{Na} is poorly studied in most vertebrate animals (excepting mammals) – including birds which are of great interest for comparative physiology. In the present work we for the first time study the characteristics of fast sodium current in myocardium of adult bird. Using standard patch clamp method, we recorded I_{Na} in isolated atrial and ventricular cardiomyocytes of Japanese quail. The current had great amplitude and quickly recovered from inactivation both in atrial and ventricular cells; the fast inactivation time constant of I_{Na} in atrial cells was lower than that of ventricular cells. Steady-state activation and inactivation suggest that sodium window current in avian myocardium is less pronounced in comparison to that in mammalian heart. In quail ventricular myocytes the blocker of late sodium current ranolazine caused a slight decrease in peak current amplitude and did not affect inactivation – however, it shifted steady-state inactivation curve towards more negative potentials, shortened action potentials and caused a decrease in maximum upstroke velocity. Thus, the characteristics of I_{Na} in quail myocardium reflect an adaptation to high heart rates in birds, and also suggest possible differences in the structure and function of I_{Na} channels between birds and mammals.

Keywords: *birds, myocardium, isolated cardiomyocytes, fast sodium current, patch clamp, ranolazine*

Funding: The research was supported by government funding (project number 122012100156-5) and by the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow University “Molecular Technologies of the Living Systems and Synthetic biology”.

Сведения об авторах

Филатова Татьяна Сергеевна – канд. биол. наук, мл. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ; Тел. 8-929-515-25-78; e-mail: filatova@mail.bio.msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0131-1911>

Абрамочкин Денис Валерьевич – докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ; зав. лабораторией электрофизиологии сердца Национального медицинского исследовательского центра кардиологии. Тел. 8-916-603-05-02; e-mail: abram340@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5751-8853>