

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 591.112.1

СУПРАВЕНТРИКУЛЯРНЫЙ МИОКАРД СЕРДЦА МЫШЕЙ В6СВАF1 ПРОЯВЛЯЕТ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННУЮ АРИТМОГЕННОСТЬ БЛАГОДАря ЭКТОПИЧЕСКОЙ АВТОМАТИИ И ТРИГГЕРНОЙ АКТИВНОСТИ**В.М. Потехина^{1,*}, О.А. Аверина², В.С. Кузьмин^{1,3}**

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

²*НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 40;*

³*Кафедра физиологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.*

*e-mail: vm-potekhina@yandex.ru

Значительное количество исследований направлено на изучение механизмов возникновения и способов предотвращения суправентрикулярных аритмий – в частности, фибрилляции предсердий. Ее возникновение в большинстве случаев связывают с особенностями электрофизиологии миокардиальной ткани легочных вен (ЛВ), наиболее важной из которых является склонность этой ткани к формированию эктопической автоматии. Однако к настоящему моменту отсутствуют сведения о существовании линий мышей, генетически предрасположенных к аритмиям благодаря эктопии в суправентрикулярном миокарде. Тем не менее, грызуны становятся все более частым модельным объектом для фундаментальных исследований в области электрофизиологии. В связи с вышесказанным, цель настоящей работы заключалась в исследовании биоэлектрических характеристик миокарда ЛВ и предсердий, а также в выявлении особенностей электрической активности сердца у мышей поколения F1 межлинейных гибридов линий C57Bl/6 и CBA (B6CBAF1). В экспериментах *ex vivo* регистрировали потенциалы действия (ПД) в тканевых препаратах предсердного миокарда и миокарде ЛВ мышей B6CBAF1, а также у мышей наиболее часто используемой линии – BALB/c – с помощью стандартной микроэлектродной техники. В экспериментах *in vivo* у мышей B6CBAF1 и BALB/c регистрировали и рассчитывали стандартные параметры электрокардиограммы (ЭКГ). В 80% экспериментов в миокарде ЛВ у мышей B6CBAF1 наблюдалась перманентная эктопическая автоматическая активность. Спонтанные ПД (СПД) в 55% случаев характеризовались осцилляциями мембранного потенциала в ходе реполяризации, благодаря чему длительность ПД достигала 1–20 с. СПД у мышей B6CBAF1 наблюдались не только в ЛВ, но и в миокарде левого предсердия в 80% экспериментов. У мышей BALB/c, в отличие от B6CBAF1, длительных эпизодов СПД, аномалий реполяризации ПД не наблюдали ни в одном из экспериментов ни в ЛВ, ни в предсердном миокарде. При регистрации ЭКГ у мышей B6CBAF1, как и у BALB/c, не было выявлено нарушений ритма, а также значимых отклонений основных параметров ЭКГ, за исключением повышенной частоты сердечных сокращений. Возможно, что мыши B6CBAF1 являются первым обнаруженным межлинейным гибридом, суправентрикулярный миокард которых предрасположен к аритмогенной автоматии за счет эктопической и триггерной активности.

Ключевые слова: C57Bl/6, CBA, сердце, легочные вены, фибрилляция предсердий, эктопическая активность, триггерная активность, ранние постдеполяризации, аритмия

Фибрилляция предсердий (ФП), представляющая собой один из типов суправентрикулярной тахикардии, является наиболее распространенной формой нарушения ритма сердца. ФП явля-

ется мультиэтиологическим заболеванием, однако в ее основе всегда лежат электрофизиологические механизмы [1], одним из которых является эктопическая автоматия (эктопическая активность,

фокальная активность), связанная со способностью внепейсмерных участков миокарда спонтанно генерировать внеочередные потенциалы действия (ПД). В свою очередь, эктопическая автоматия у млекопитающих и человека обусловлена целым рядом биоэлектрических явлений, среди которых выделяют постдеполяризации — нарушение реполяризации потенциалов действия (ПД) [2, 3]. Один из механизмов возникновения ФП связан с распространением фокального возбуждения из легочных вен (ЛВ) в ткань миокарда левого предсердия (ЛП).

В настоящее время показано, что источником эктопической автоматии и ФП в большинстве случаев является миокардиальная ткань ЛВ или так называемые «миокардиальные рукава»/«обкладка ЛВ». Известно, что миокардиальная ткань не только формирует стенки сердца, но также выходит за пределы его камер — обнаруживается в стенке торакальных вен, к которым относятся и ЛВ [4]. У человека миокард ЛВ проявляет аритмогенные свойства за счет особенностей строения, эмбрионального происхождения и биоэлектрических характеристик кардиомиоцитов. Вместе с тем, миокардиальная ткань ЛВ обладает и рядом типичных для предсердного миокарда биоэлектрических свойств [5].

Миокардиальные рукава ЛВ имеют разную протяженность у различных млекопитающих и человека. У грызунов, таких как крысы или мыши, миокардиальная ткань в ЛВ развита достаточно хорошо: она не только выстилает внелегочные участки стенок вен, но также обнаруживается во внутрилегочных участках [6]. Миокард ЛВ грызунов функционально связан с предсердиями и образован несколькими слоями кардиомиоцитов. Такие свойства миокарда ЛВ грызунов делают эту ткань хорошим модельным объектом для экспериментальных работ, связанных с ФП. Известно, что именно мыши наиболее часто используются в электрофизиологических исследованиях благодаря возможности получения нокаутных и генетически модифицированных животных. Однако, в отличие от крупных животных, у грызунов для миокарда ЛВ характерна низкая «аритмогенность»: эктопическая, или триггерная, активность у них не наблюдается в нормальных условиях.

Таким образом, выявление линии мышей, для миокарда предсердий или ЛВ которых характерна эктопическая проаритмическая активность, будет способствовать пониманию фундаментальных аспектов развития ФП и изучению способов предотвращения аритмии. Цель данной работы заключается в исследовании электрофизиологических характеристик миокардиальной ткани ЛВ и левого предсердия мышей гибридной линии B6CBAF1, как потенциальной генетически обу-

словленной модели грызунов, обладающих суправентрикулярным миокардом, предрасположенным к аритмиям.

Материалы и методы

Использовали взрослых самцов первого поколения (F1) межлинейных гибридов мышей (B6CBAF1, 25–30 г), полученных в результате скрещивания инбредных линий C57Bl/6NCrl (самцы, «B6») и CBA/CaClr (самки, «CBA»). Мыши родительских линий были получены из генетически контролируемых популяций питомников Charles River Laboratories (США). Также в качестве контрольных животных использовали белых мышей инбредной линии BALB/c. В ходе экспериментов были соблюдены все актуальные требования этических норм работы с лабораторными животными. Всех животных перед экспериментом 2 нед. содержали в виварии в стандартных условиях, при 12-ти часовом световом дне с доступом к воде и пище *ad libitum*.

В *ex vivo* экспериментах по регистрации потенциала покоя (ПП) и ПД использовали изолированные многоклеточные препараты, включающие участки миокардиальной ткани ЛВ, а также многоклеточные препараты ЛП. В данных экспериментах было использовано 62 животных (36 — B6CBAF1, 26 — BALB/c).

Эксперименты выполнены с помощью стандартной микроэлектродной техники, подробно описанной ранее [7]. Для регистрации ПП и ПД использовали стеклянные микроэлектроды (сопротивлением 15–30 МОм), подключенные к усилителю (А-М system 1600, США). Усиленный сигнал поступал на АЦП (Е-154; L-Card, Россия) и далее на компьютер для записи. Запись и анализ сигнала осуществляли с помощью программы «Power Graph 3.3» (Ди-софт, Россия). ПП и ПД регистрировали с «эндокардиальной» стороны препаратов после получасового периода адаптации. В течение периода адаптации, а также частично в ходе эксперимента препараты работали в навязанном ритме (частота 5 Гц, длительность импульса — 2 мс, амплитуда — 3–10 В). Тканевые миокардиальные препараты перфузировали при 37°C оксигенированным (O₂ — 95%, CO₂ — 5%) раствором Тирода (состав, мМ: NaCl — 129, KCl — 4, NaH₂PO₄ — 20,9, MgSO₄ — 0,5, NaHCO₃ — 20, CaCl₂ — 1,2, глюкоза — 5, pH 7,2–7,4) со скоростью потока 10 мл/мин. Оценивали уровень ПП и длительность ПД на уровне 90% и 50% реполяризации (ДПД90% и ДПД50%, соответственно) с помощью программ Power Graph 3.3 и MiniAnalysis 6.0.7. (Synaptosoft, США).

В экспериментах *in vivo* регистрировали ЭКГ (всего использовано 15 мышей, из них — 8 B6CBAF1, 7 — BALB/c). Животных наркотизиро-

вали раствором уретана (1 г/кг, интраперитонеально). После достижения должной анестезии животное фиксировали на хирургическом столике; температуру тела поддерживали принудительно (термоконтроллер bio-tc1; НПФ «Биотехнологии», Россия). ЭКГ регистрировали с помощью поверхностных электродов, подключенных к усилителю PL3516 PowerLab 16/35, Animal Bio Amp (ADInstruments, США) в отведении, эквивалентном II отведению по Эйнтховену. Запись и анализ сигнала осуществляли при помощи программного обеспечения LabChart Pro (ADInstruments, США).

При анализе ЭКГ оценивали следующие параметры: ЧСС (частота сердечных сокращений, ударов в минуту – уд./мин, рассчитывали на основе длительности RR-интервалов); интервал PR (мс), соответствующий общему времени атрио-вентрикулярного проведения; QRS (мс) – время, деполяризации желудочкового миокарда; интервал QT (мс), соответствующий продолжительности деполяризации желудочкового миокарда (QT оценивали в соответствии с рекомендациями Boukens [8]). Также оценивали наличие или отсутствие нарушений ритма.

Для статистической обработки результатов использовали программу Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Статистически значимые различия между группами выявляли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением апостериорных тестов для множественных сравнений в группах с независимыми измерениями (с внесением поправки Даннета после предварительной проверки нормальности распределения в группах с помощью теста Шапиро-Вилка). Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение за исключением репрезентативных записей.

Результаты и обсуждение

В экспериментах регистрировали (1) ПД, возникающие при ритмической стимуляции тканевых препаратов возбуждающими стимулами, т.е. «электрически-вызванные» ПД, а также (2) биоэлектрическую активность (спонтанные ПД – СПД) в отсутствие электрической стимуляции. В обоих случаях регистрировали и оценивали ПП. Указанные два режима работы тканевых препара-

тов моделируют (1) «естественные» условия, когда ткань находится под ритмическим контролем ритмоводителя, а также (2) «патологические» условия, когда возбуждение ткани импульсами ритмоводителя заблокировано. В тех условиях, когда электрическая стимуляция отсутствует, возникно-

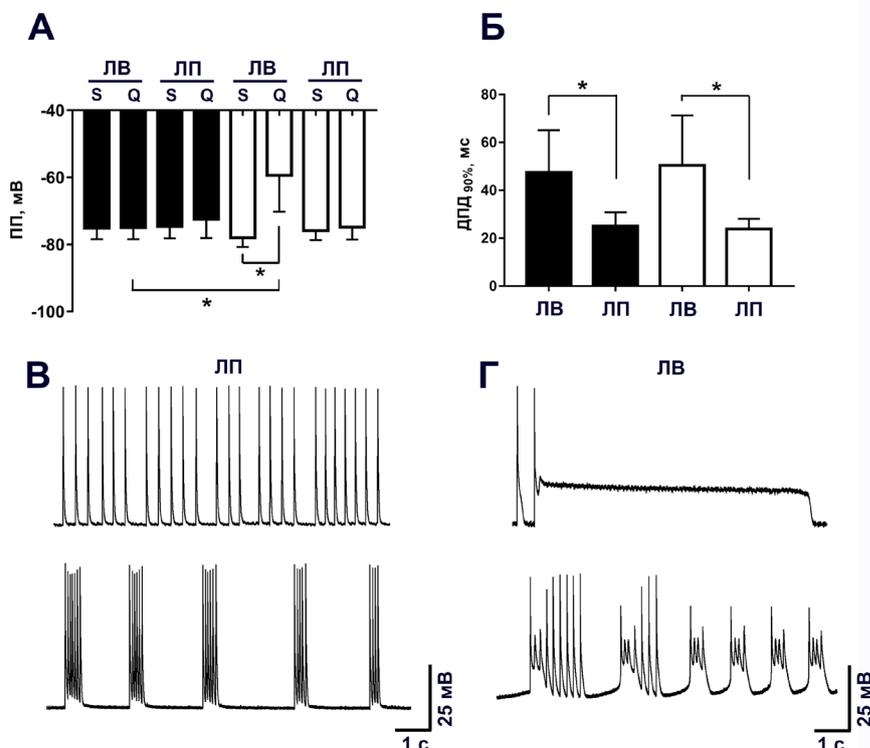


Рис. 1. Особенности биоэлектрической активности миокардиальной ткани легочных вен (ЛВ) и левого предсердия (ЛП) мышей В6СВАF1 в сравнении с мышами BALB/c. А. Значения потенциала покоя (ПП) в стимулируемых (S – stimulated) и нестимулируемых («покоящихся», Q – quiescent) препаратах миокардиальной ткани ЛВ и миокарда ЛП у мышей В6СВАF1 (черные столбики) и мышей BALB/c (белые столбики). * – $p < 0,05$. Б. Длительность потенциала действия на уровне 90% реполяризации (ДПД_{90%}) в препаратах ЛВ и ЛП у мышей В6СВАF1 (черные столбики) и BALB/c (белые столбики). * – $p < 0,05$. В. Репрезентативные примеры автоматической активности в препаратах миокарда ЛП у мышей линии В6СВАF1. Г. Репрезентативные примеры автоматической активности с ранними постдеполяризациями (сверху) и с триггерной активностью (снизу) в препаратах миокарда ЛВ у мышей линии В6СВАF1.

вание проаритмической активности гораздо более вероятно.

При ритмической электрической стимуляции в миокарде ЛВ и ЛП у мышей В6СВАF1 наблюдали ПД, типичные для рабочего предсердного миокарда. В миокарде ЛВ мышей В6СВАF1 ДПД_{90%} составила 48 ± 17 мс, а ДПД_{50%} 9 ± 1 мс ($n=8$). Значения длительности ПД статистически не отличались от аналогичных показателей у мышей линии BALB/c, где ДПД_{90%} составила 50 ± 20 мс, а ДПД_{50%} – 13 ± 4 мс ($n=5$, рис. 1 Б). В предсердном миокарде у мышей В6СВАF1 ДПД_{90%} была статистически значимо меньше, чем в препаратах ЛВ и составила 25 ± 5 мс, а ДПД_{50%} 7 ± 2 мс ($n=7$). У мышей BALB/c ДПД_{90%} в ЛП составила 24 ± 4 мс, а

ДПД_{50%} 6 ± 1 мс ($n=5$, рис. 1Б). Статистически значимых различий в значениях длительности электрически вызванных ПД как в миокарде ЛВ, так и в предсердном миокарде у мышей двух линий обнаружено не было. Таким образом, в условиях ритмической электрической стимуляции миокард ЛВ и предсердий гибридов В6СВАF1 демонстрировал типичную биоэлектрическую активность, сходную с таковой у мышей других линий.

У мышей BALB/c в электрически стимулируемых препаратах ЛВ ПП составил -78 ± 3 мВ ($n=9$), а в покоящихся препаратах ЛВ происходил сдвиг ПП, в результате которого значения ПП устанавливались на новом уровне: -59 ± 10 мВ ($n=5$). Сдвиг ПП в ЛВ является типичным свойством ЛВ и описан у целого ряда лабораторных животных: крыс [3], мышей других линий [9]. Уровни ПП, регистрируемые при стимуляции и в ее отсутствии в ЛВ, различаются статистически значимо ($p < 0,05$, рис. 1А).

ПП в электрически стимулируемых препаратах ЛВ мышей В6СВАF1 составлял -75 ± 3 мВ ($n=14$), что сопоставимо со значением у мышей BALB/c. ПП оставался на таком же уровне и тогда, когда ритмическая стимуляция отсутствовала (-74 ± 4 мВ, $n=14$, рис. 1А). Таким образом, сдвиг ПП в ЛВ у гибридов В6СВАF1 отсутствовал. Такая особенность миокардиальной ткани ЛВ выявлена впервые.

ПП был одинаков в стимулируемых и покоящихся препаратах ЛП гибридов В6СВАF1: -74 ± 4 мВ ($n=10$) и -72 ± 5 мВ ($n=9$), соответственно. У мышей линии BALB/c в стимулируемом предсердном миокарде ПП в наших экспериментах составил -76 ± 3 мВ, а в нестимулируемом -75 ± 4 мВ ($n=6$ в обоих случаях, рис. 1А). Значения ПП в предсердном миокарде мышей В6СВАF1 и BALB/c статистически не различались. Стабильный уровень ПП характерен для предсердного миокарда, в отличие от миокарда ЛВ, практически для всех млекопитающих и гибриды В6СВАF1 не оказались исключением в этом аспекте.

Несмотря на сходство биоэлектрической активности в условиях ритмической стимуляции тканевых препаратов гибридов В6СВАF1 и мышей контрольной линии BALB/c, нами были обнаружены существенные различия в условиях отсутствия стимуляции.

В 80% (в 15 из 19) тканевых препаратов ЛВ мышей В6СВАF1 наблюдали спонтанную (автоматическую) внеузловую (эктопическую) активность: в течение 10–60 с после прекращения стимуляции в ЛВ возникали СПД, при этом ПП оставался на постоянном уровне. Спонтанная активность имела перманентный (сохранялась на протяжении всего периода регистрации) и регулярный характер. В 55% (в 8 из 15) таких пре-

паратов реполяризация СПД сопровождалась повторяющимися длительными осцилляциями мембранного потенциала (рис. 1В). Наблюдаемые у В6СВАF1 осцилляции имеют характерный вид т.н. «триггерной активности», служащей одним из механизмов ФП [10, 11]. Длительность ПД за счет таких осцилляций была крайне увеличена и могла достигать 20 с, что значительно превышает нормальную длительность ПД (рис. 1В). В миокарде ЛВ мышей BALB/c никогда не наблюдали перманентной спонтанной активности и только в 20% (в 3 из 15) случаев единичные СПД возникали в ходе периода стабилизации ПП (5–15 с) при изменении режима стимуляции. Также в ЛВ мышей BALB/c не наблюдали осцилляций мембранного потенциала в ходе реполяризации ПД.

Как и в ЛВ, в предсердном миокарде мышей В6СВАF1 наблюдали спонтанную активность, которая имела перманентный, регулярный или периодический характер и возникала в 80% экспериментов (в 13 из 17). СПД в предсердном миокарде возникали либо сразу, либо в течение первых 60 с после прекращения стимуляции. В отличие от ЛВ, в предсердном миокарде СПД не характеризовались осцилляциями мембранного потенциала в ходе реполяризации. У мышей линии BALB/c не наблюдали спонтанной активности ни в одном из препаратов предсердного миокарда ($n=7$). Согласно данным литературы, спонтанная активность в нормальных условиях не характерна для рабочего миокарда предсердий грызунов и более крупных животных [3, 12, 13]. Также, согласно нашим предварительным данным, спонтанная автоматия не является характерной для суправентрикулярного миокарда мышей родительских линий C57Bl/6 и CBA.

Таким образом, нами впервые показано, что миокард ЛВ и предсердий гибридов В6СВАF1 в отличие от мышей BALB/c склонен к эктопической автоматии и/или нарушениям реполяризации ПД триггерного характера, служащим обычно основой формирования ФП у крупных млекопитающих и человека. Согласно нашим представлениям и данным литературы, спонтанная активность и аномалии реполяризации ПД в нормальных условиях (то есть без адренергической/симпатической стимуляции) ранее не были показаны ни для одной из линий мышей, и, более того, линии грызунов. Возможно, миокардиальная ткань ЛВ гибридов В6СВАF1 может рассматриваться как генетически обусловленная «естественная» модель проаритмического миокарда.

Причины эктопической автоматии и триггерной активности в миокарде ЛВ и предсердий гибридов В6СВАF1 остаются не до конца понятными. В настоящее время разведение гибридов линий C57Bl/6 и CBA осуществляет несколько

компаний. Гибриды B6CBAF1 используются в ряде биомедицинских исследований и, в частности, служат для получения Стг-зависимых тканеспецифических нокаутов [14]. Тем не менее, фенотип и особенности физиологии, в том числе электрофизиологии сердца мышей данной линии описаны слабо. Известно, что самки B6CBAF1 от-

С другой стороны, увеличение длительности ПД и появление аритмогенной триггерной активности может быть связано со снижением экспрессии каналов, переносящих реполяризующие калиевые токи, которыми у грызунов являются I_{ss} , I_{to} , I_{Kur} [20, 21]. Предположение о сниженном уровне I_{ss} , I_{to} или I_{Kur} у B6CBAF1 требует дополнительных экспериментов.

Большинство аномалий биоэлектрической активности приводят к изменению ЭКГ. В наших экспериментах ЭКГ гибридов B6CBAF1 не имела ярко выраженных изменений: как и у мышей BALB/c на ЭКГ были видны зубец P, QRS-комплекс и T-волна (рис. 2Б). У мышей B6CBAF1 ЧСС в наших экспериментах составляла 596 ± 42 уд./мин, длительность PR-интервала – $34,3 \pm 2$ мс, длительность зубца P – $14,9 \pm 2$ мс, длительность QRS-комплекса $9,2 \pm 2$ мс, а длительность QT интервала – $46,8 \pm 4$ мс ($n=8$ во всех случаях, рис. 2А). У мышей линии BALB/c ЧСС составляла 533 ± 21 уд./мин, что статистически значимо ниже ЧСС мышей B6CBAF1 ($p < 0,05$). Остальные параметры ЭКГ статистически значимо не различались: длительность PR-интервала у белых беспородных мышей составила $31,3 \pm 1$ мс, длительность зубца P – $15,9 \pm 1$ мс, длительность QRS-комплекса – $12,7 \pm 2$ мс, длительность QT интервала – $60,4 \pm 4$ мс ($n=7$ во всех случаях, рис. 2А). Параметры ЭКГ B6CBAF1 имели типичные для мыш-

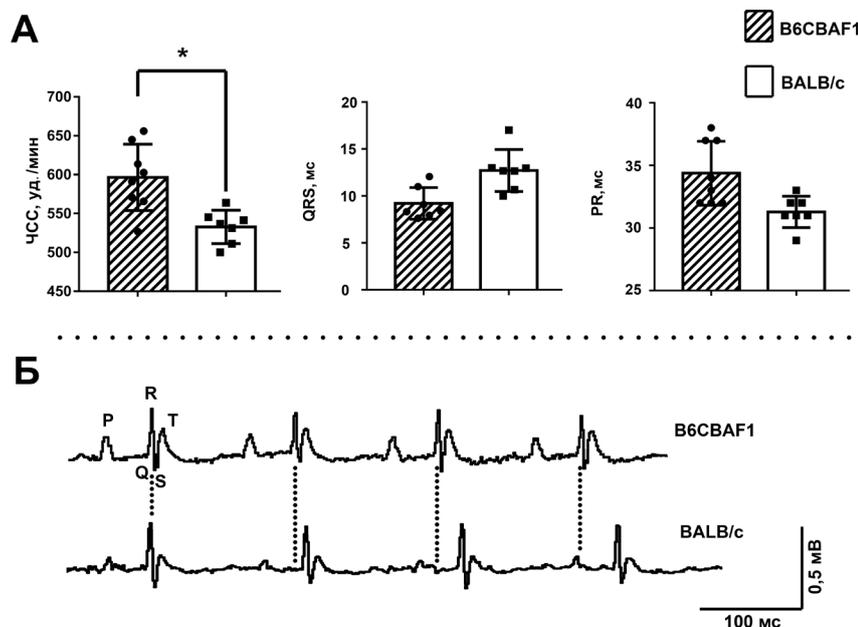


Рис. 2. А. Сравнение частоты сердечных сокращений (ЧСС, удары в минуту – уд./мин), длительности QRS-комплекса и PR-интервала у мышей B6CBAF1 и BALB/c. * – $p < 0,05$. Б. Репрезентативные примеры записи последовательных циклов ЭКГ у мышей линии B6CBAF1 (вверху) и мышей BALB/c (внизу). У мышей B6CBAF1 хорошо видны более короткие RR-интервалы, чем у BALB/c.

личаются усиленным материнским инстинктом, для B6CBAF1 характерна повышенная продолжительность жизни [15], у этих мышей ослаблены возрастные гистопатологические изменения в почках [16]; показано, что у данных гибридов изменена регуляция болевой чувствительности [17]. Следует отметить, что для получения гибридов используют, как правило, самцов линии CBA. В данной работе гибриды получены с использованием CBA-самок. Эта особенность скрещивания могла повлиять на формирование электрофизиологических свойств B6CBAF1.

В настоящее время считается, что такая особенность миокарда ЛВ грызунов как сдвиг ПП связана с повышенной натриевой трансмембранной проводимостью, избыточной хлорной проводимостью [18] и со сниженным уровнем экспрессии каналов, переносящих трансмембранный калиевый ток I_{K1} [19]. Отсутствие сдвига ПП позволяет предположить, что в ЛВ у мышей B6CBAF1 уровень экспрессии I_{K1} выше, чем у мышей BALB/c.

Также при записи ЭКГ в течение 60 мин у мышей B6CBAF1, как и у BALB/c не было обнаружено никаких электрокардиографических признаков нарушений ритма, связанных с эктопической автоматией или аномальной реполяризацией ПД.

Результаты экспериментов *in vivo* позволяют сделать несколько предположений касательно эктопии у интактных мышей. Возможно, что эктопическая автоматия оказывается подавлена при ритмическом воздействии со стороны пейсмекера сердца, генерирующего более высокий, чем эктопический ритм, благодаря, например, механизму иерархии автоматии [22] и, таким образом, не проявляется у здоровых животных без дополнительных патологических воздействий. В наших экспериментах с тканевыми препаратами, СПД не возникали при ритмической электрической стимуляции, что говорит в поддержку данного предположения. С другой стороны, известно, что фокальная активность может персистировать в

миокарде ЛВ или ЛП и при синусном ритме, при этом не распространяться и не «захватывать» весь суправентрикулярный миокард. В таком случае нарушений ритма не возникает, а на стандартной ЭКГ влияние этих фокусов не сказывается. Отсутствие ЭКГ признаков нарушений ритма у мышей B6CBAF1 не противоречит выявленной нами склонности миокарда предсердий и ЛВ к эктопической активности.

Таким образом, результаты данной работы позволяют предположить, что для ткани ЛВ и предсердий мышей гибридов B6CBAF1 характерна эктопическая автоматия и они могут рассматри-

ваться как, возможно, генетически обусловленная модель проаритмически трансформированного миокарда в фундаментальных и прикладных исследованиях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 18-34-00931, № 18-29-07005 мк).

Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биоэтике МГУ. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schotten U., Verheule S., Kirchhof P., Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal // *Physiol. Rev.* 2011. Vol. 91. N 1. P. 256–325.
2. Chen Y.J., Chen S.A., Chang M.S., Lin C.I. Arrhythmogenic activity of cardiac muscle in pulmonary veins of the dog: Implication for the genesis of atrial fibrillation // *Cardiovasc. Res.* 2000. Vol. 48. N 2. P. 265–273.
3. Doisne N., Maupoil V., Cosnay P., Findlay I. Catecholaminergic automatic activity in the rat pulmonary vein: electrophysiological differences between cardiac muscle in the left atrium and pulmonary vein // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009. Vol. 297. N 1. P. 102–108.
4. Chen Y.J., Chen S.A. Thoracic vein arrhythmias // *Circ. J.* 2007. Vol. 71. Suppl. A. P. A20–A25.
5. Chen Y.J., Chen S.A. Electrophysiology of pulmonary veins // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2006. Vol. 17. N 2. P. 220–224.
6. Hosoyamada Y., Ichimura K., Koizumi K., Sakai T. Structural organization of pulmonary veins in the rat lung, with special emphasis on the musculature consisting of cardiac and smooth muscles // *Anat. Sci. Int.* 2010. Vol. 85. N 3. P. 152–159.
7. Kuzmin V.S., Abramochkin D.V., Sukhova G.S., Ashmarin I.P. Studies of the receptor mechanisms of the effects of ADP-ribose on the rat heart // *Neurochem. J.* 2008. N 2. P. 23–32.
8. Boukens B.J., Rivaud M.R., Rentschler S., Coronel R. Misinterpretation of the mouse ECG: ‘musing the waves of *Mus musculus*’ // *J. Physiol.* 2014. Vol. 592. N 21. P. 4613–4626.
9. Tsuneoka Y., Kobayashi Y., Honda Y., Namekata I., Tanaka H. Electrical activity of the mouse pulmonary vein myocardium // *J. Pharmacol. Sci.* 2012. Vol. 119. N 3. P. 287–292.
10. Wit A.L., Boyden P.A. Triggered activity and atrial fibrillation // *Heart Rhythm.* 2006. Vol. 4. Suppl. 3. P. S17–S23.
11. Iwasaki Y.K., Nishida K., Kato T., Nattel S. Atrial fibrillation pathophysiology: implications for management // *Circulation.* 2011. Vol. 124. N 20. P. 2264–2274.
12. Barajas-Martinez H., Goodrow R.J., Hu D., Patel P., Desai M., Panama B.K., Treat J.A., Aistrup G.L., Cordeiro J.M. Biophysical and molecular comparison of sodium current in cells isolated from canine atria and pulmonary vein // *Pflugers Arch.* 2017. Vol. 469. N 5–6. P. 703–712.
13. Holmes A.P., Yu T.Y., Tull S., Syeda F., Kuhlmann S.M., O'Brien S.M., Patel P., Brain K.L., Pavlovic D., Brown N.A., Fabritz L., Kirchhof P. A regional reduction in Ito and IKach in the murine posterior left atrial myocardium is associated with action potential prolongation and increased ectopic activity // *PLoS One.* 2016. Vol. 11. N 5. e0154077.
14. Raso A., Dirkx E., Philippen L.E., et al. Therapeutic delivery of miR-148a suppresses ventricular dilation in heart failure // *Mol. Ther.* 2019. Vol. 27. N 3. P. 584–599.
15. Harrison D.E., Archer J.R. Genetic differences in effects of food restriction on aging in mice // *J. Nutr.* 1987. Vol. 117. N 2. P. 376–382.
16. Hackbarth H., Harrison D.E. Changes with age in renal function and morphology in C57BL/6, CBA/HT6, and B6CBAF1 mice // *J. Gerontol.* 1982. Vol. 37. N 5. P. 540–547.
17. Damaj M.I., Fonck C., Marks M.J., Deshpande P., Labarca C., Lester H.A., Collins A.C., Martin B.R. Genetic approaches identify differential roles for alpha4beta2* nicotinic receptors in acute models of antinociception in mice // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2007. Vol. 321. N 3. P. 1161–1169.
18. Okamoto Y., Kawamura K., Nakamura Y., Ono K. Pathological impact of hyperpolarization-activated chloride current peculiar to rat pulmonary

vein cardiomyocytes // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2014. Vol. 66. P. 53–62.

19. Malécot C.O., Bredeloux P., Findlay I., Maupoil V. A TTX-sensitive resting Na⁺ permeability contributes to the catecholaminergic automatic activity in rat pulmonary vein // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2015. Vol. 26. N 3. P. 311–319.

20. Xu H., Li H., Nerbonne J.M. Elimination of the transient outward current and action potential prolongation in mouse atrial myocytes expressing a dominant negative Kv4 alpha subunit // *J. Physiol.* 1999. Vol. 519. Pt. 1. P. 11–21.

21. Voigt N., Dobrev D. Atrial-selective potassium channel blockers // *Card. Electrophysiol. Clin.* 2016. Vol. 8. N 2. P. 411–421.

22. Graziani A.T., Vassalle M. Mechanisms underlying overdrive suppression and overdrive excitation in guinea pig sino-atrial node // *J. Biomed. Sci.* 2006 Vol. 13. N 5. P. 703–720.

Поступила в редакцию 29.03.2019 г.

После доработки 02.05.2019 г.

Принята в печать 08.05.2019 г.

RESEARCH ARTICLE

SUPRAVENTRICULAR MYOCARDIUM OF THE HEART OF THE B6CBAF1 MICE STRAIN REVEALS GENETICALLY DETERMINED ARRHYTHMOGENIC PROPERTIES DUE TO ECTOPIC AUTOMATICITY AND TRIGGERED ACTIVITY

V.M. Potekhina^{1,*}, O.A. Averina², V.S. Kuzmin^{1,3}

¹*Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;*

²*A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskye gory 1–40, Moscow, 119234, Russia;*

³*Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia*

*e-mail: vm-potekhina@yandex.ru

A lot of studies aimed to the investigation the mechanisms of occurrence and ways to prevent of supraventricular arrhythmias – in particular, atrial fibrillation. The origin of the atrial fibrillation in most part of cases is associated with abnormal electrophysiological properties of the pulmonary veins (PV) myocardium. The most important of characteristic of PV myocardium is highly prone to the ectopic automaticity. Moreover, no murine strains with hereditary predisposition to PVs-derived ectopy or arrhythmogenicity are known to the present moment. Nevertheless, mice become more frequent objects in the heart electrophysiology studies. Thus, the aim of the present investigation was to characterize, bioelectric properties of the PV and atrial myocardium of the F1 hybrids (B6CBAF1) received by crossing C57Bl/6 and CBA strains. In *ex vivo* experiments the action potentials were recorded in PV and atrial multicellular perfused preparations isolated from B6CBAF1 and control BALB/c mice heart using standard sharp microelectrodes technique. In addition, in *in vivo* experiments standard approach was used to receive and analyze ECG in B6CBAF1 and BALB/c mice. In 80% of experiments the PV myocardium of B6CBAF1 exhibits permanent ectopic automaticity. Spontaneous action potential (SAP) in 55% of experiments were characterized by excessive afterdepolarizations, which caused extreme repolarization delay reached 1–20 s. Besides PV, the atrial working myocardium of B6CBAF1 in 80% of cases demonstrated SAPs. Unlike B6CBAF1, both BALB/c PV and atrial myocardium were unable to generate permanent SAPs or demonstrate repolarization abnormalities in basal conditions. The *in vivo* ECG recording revealed no arrhythmia episodes of significant changes of ECG parameters in B6CBAF1 mice except increased heart beat frequency. It is possible that that B6CBAF1 hybrids are the first time described mouse strain with the intrinsically or probably hereditary arrhythmogenic supraventricular myocardium demonstrating an ectopic automaticity and triggered activity.

Keywords: C57Bl/6, CBA, heart, pulmonary veins, atrial fibrillation, ectopy automaticity, triggered automaticity, early post-depolarization, arrhythmia

Сведения об авторах

Потехина Виктория Маратовна – аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: *vm-potekhina@yandex.ru*

Аверина Ольга Александровна – мл. науч. сотр. НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-55-11; e-mail: *averina.olga.msu@gmail.com*

Кузьмин Владислав Стефанович – канд. биол. наук., доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ; вед. науч. сотр. кафедры физиологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: *ku290381@mail.ru*