

На правах рукописи



Егоров Юрий Владимирович

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ
МИОКАРДА У ГИБЕРНИРУЮЩИХ И НЕГИБЕРНИРУЮЩИХ
ЖИВОТНЫХ.

03.03.01- физиология

11 НОЯ 2010

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2010



Работа выполнена в лаборатории электрофизиологии сердца
Института экспериментальной кардиологии ФГУ «Российский
Кардиологический Научно-Производственный Комплекс»
Минздравсоцразвития РФ.

Научный руководитель: академик РАН, чл.-корр. РАН, доктор
биологических наук, профессор
Розенштраух Леонид Валентинович

Официальные оппоненты:

д.б.н., профессор Каменская Марина Александровна;

д.б.н. Емельянова Татьяна Георгиевна.

Ведущая организация:

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет.

Защита состоится 16 ноября 2010г. в 13³⁰ на заседании
диссертационного совета Д 208.073.01 по присуждению ученой степени
кандидата биологических наук в ФГУ «Российский кардиологический
научно-производственный комплекс» Минздравсоцразвития РФ (121552
Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «РКНПК»
Минздравсоцразвития РФ.

Автореферат разослан 16 ноября 2010 года.

Ученый секретарь диссертационного
совета, д.м.н., профессор

В.Е. Синицын

ВВЕДЕНИЕ

В зависимости от степени гипотермии функциональные системы организма человека и других негибернирующих млекопитающих испытывают различные сдвиги и нарушения. В ряде работ авторы указывают на то, что гипотермия способствует увеличению уязвимости сердца к аритмиям (Перцов А.М. и Фаст В.Г., 1985; Duker G.D. et al., 1983; Mortensen E. et.al., 1993; Ujhelyi M.R. et.al., 2001) и развитию нарушений ритма у негибернирующих млекопитающих (Mortensen E. et.al., 1993; Bjornstad H., 1994; Johansson B.W., 1996; Ujhelyi M.R. et.al., 2001; Chorro F.J. et.al., 2002). Проведенный анализ температурного порога функционирования сердца человека (Johansson B.W., 1996; Mattu A., 2002) и других негибернирующих млекопитающих (Кобрин В.И., 1991; Жегунов Г.Ф., 1993; Kenyon J.R. and Ludbrook J., 1957; Bader H., 1958; Mouritzen C.V. and Anderson M.N., 1966; Nielsen K.C. and Owman C., 1968) показывает, что снижение температуры тела сначала увеличивает вероятность возникновения экстрасистолической активности и фибрилляции желудочков (ФЖ), а затем приводит к полному блоку проведения возбуждения по сердцу.

Тем не менее, среди млекопитающих существуют животные, устойчивые к возникновению ФЖ при низких температурах и способные выживать при температурах тела 0-7⁰С, погружаясь в состояние гибернации. Гибернация – это состояние полного оцепенения (торпора) при понижении температуры тела животного до значений, близких к температуре окружающей среды. Гибернантами являются некоторые млекопитающие, обитающие в зонах с резкими колебаниями погодно-климатических условий.

При понижении температуры во время зимней спячки сохраняется функционирование наиболее важных органов – сердца, головного мозга, печени. Кровоснабжение этих органов является обязательным условием сохранения жизни гибернантов и обусловлено адекватным функционированием сердечно-сосудистой системы. Несмотря на

существование нескольких типов нарушений сердечной деятельности, устойчивые желудочковые тахикардии, в том числе фибрилляции желудочков, и блоки проведения возбуждения, не наблюдались у гибернантов (Dave A.R. and Morrison P.R., 1955; Johansson B.W., 1967; Eagles D.A. et al., 1988) ни при входе в состояние гибернации, ни при выходе из него. Несмотря на многолетнее изучение гибернантов, механизмы работы их сердца во время гибернации до сих пор остаются загадкой для ученых.

Как известно, для возникновения ФЖ необходима повышенная неоднородность среды – анизотропия проведения и дисперсия рефрактерности (Мандел В.Дж., 1996; Wu J. and Zipes D.P., 2004). Увеличенная электрофизиологическая неоднородность миокарда будет создавать условия, необходимые для развития однонаправленного блока проведения. Даже при нормальном синусовом ритме в миокарде существует неоднородность (стационарная неоднородность) и пространственный градиент длительности потенциала действия (ДПД) (Laurita K.R. et al., 1996). В ряде работ последних лет (Weiss J.N. et al., 2000; Cheng Y.J. et al., 2003; Wilson L.D., 2009; Dobrovolny N.M., 2009) показано, что существующая при нормальном синусовом ритме пространственная неоднородность рефрактерности по сердцу может значительно увеличиваться вплоть до блока проведения (Laurita K.R. et al., 1996; Laurita K.R. and Rosenbaum D.S., 2000) при высокочастотной стимуляции или преждевременном стимуле, такую неоднородность принято называть динамической. Однако данные о динамической неоднородности во время гипотермии и ее связи с возникновением ФЖ отсутствуют.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Выяснить роль динамической неоднородности миокарда в развитии желудочковых тахикардий (ЖТ) во время гипотермии у негиберирующих животных (кроликов) и устойчивости миокарда гиберирующих животных (сусликов - *Spermophilus undulatus*) к ЖТ.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ.

1. Провести сравнительное исследование влияния гипотермии и высокочастотной стимуляции на электрическую активность клеток

изолированного препарата сердца (папиллярная мышца) зимнеспящих сусликов (в различных состояниях активности) и негибернирующих млекопитающих (кролики).

2. Исследовать влияние гипотермии и высокочастотной стимуляции на спонтанный аритмогенез в сердце гибернирующих и негибернирующих млекопитающих.
3. Провести сравнительное исследование влияния гипотермии и высокочастотной стимуляции на пространственно-временные характеристики процессов активации и реполяризации сердца сусликов и кроликов.
4. С помощью метода оптического картирования проанализировать причины развития желудочковых тахикардий у негибернантов.
5. Исследовать сезонные изменения устойчивости сердца зимнеспящих сусликов *Spermophilus undulatus* к гипотермии.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА.

1. В работе впервые проведено детальное исследование обоних компонент хронотопографии реполяризации миокарда (стационарной и динамической) у гибернирующих и негибернирующих животных при гипотермии, а также исследована их роль в холодовом аритмогенезе.
2. Впервые исследовано влияние гипотермии на аритмогенные альтернации параметров активации и реполяризации миокарда гибернирующих и негибернирующих животных.
3. Получены экспериментальные данные о влиянии гипотермии на зависимость анизотропии проведения возбуждения от частоты сердечных сокращений у гибернирующих и негибернирующих животных.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ. Полученные данные приближают нас к пониманию механизмов, с помощью которых гибернанты защищены от возникновения нарушений ритма в условиях выраженной гипотермии. Исследованная в работе взаимосвязь между ФЖ и стационарной и динамической неоднородностью может указать на

дополнительные механизмы, обеспечивающие устойчивость сердца гибернирующих сусликов к развитию тахикардий при гипотермии. Изучение этих механизмов представляет большой интерес как теоретический, так и практический: понимание механизмов защиты сердца гибернантов от ФЖ в дальнейшем может привести нас не только к более глубокому пониманию основных механизмов образования наиболее опасных нарушений сердечного ритма, но и к разработке новых способов их предотвращения и купирования.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Диссертационная работа апробирована на межлабораторном семинаре НИИ экспериментальной кардиологии ФГУ «РКНПК» Минздравсоцразвития РФ (Москва 2010).

ПУБЛИКАЦИИ. По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ и 6 тезисов.

СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материалов и методов исследования, полученных экспериментальных данных, обсуждения результатов, выводов и заключения. Список литературы содержит 141 работу, из них 8 отечественных и 133 зарубежных источников. Работа изложена на 105 страницах машинописного текста, содержит 34 рисунка и 5 таблиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Эксперименты выполнены на сердце длиннохвостых сусликов *Spermophilus undulates*, находящихся в различных состояниях активности: летние активные (ЛА) суслики (36-37⁰С, июнь-июль), зимние гибернирующие (ЗГ) суслики (температура тела 0-2⁰С, декабрь-февраль) и зимние суслики, проснувшиеся на короткий промежуток времени между двумя спячками (ЗА, температура тела 36-37⁰С, декабрь-февраль). Контрольные эксперименты проведены на негибернирующих животных – кроликах Шиншилла.

В работе использованы методики микроэлектродных отведений потенциала действия (ПД) и оптического картирования электрической

активности сердца с применением потенциал-чувствительного красителя. В качестве флуоресцентного красителя использовали di-4-ANEPPS.

Проведено 2-е серии опытов – контрольные измерения параметров ПД с помощью микроэлектродных отведений и с использованием оптического картирования для определения пространственно-временных характеристик возбуждения миокарда. В опытах с оптическим картированием для устранения артефактов, вызванных механическими сокращениями сердечной мышцы, в перфузат добавляли блокатор электромеханического сопряжения 2,3-бутандион-моноксим (BDM, 15мМ).

Эксперименты с оптическим картированием проводили на перфузируемом по Лангендорфу сердце. Изолированное сердце перфузировали по Лангендорфу при давлении в аорте 70 ± 5 мм рт.ст. нормальным раствором Тироде следующего состава (в мМ/л): NaCl – 130; CaCl₂ – 1,8; MgCl₂·6H₂O – 1,05; KCl – 4,7; NaH₂PO₄ – 1,2; NaHCO₃ – 18; глюкоза – 11. Перфузионный раствор оксигенировали газовой смесью (95% O₂ и 5% CO₂), pH = $7,35 \pm 0,05$. Все измерения проводили последовательно при значениях температуры перфузируемого раствора (от 37°C до 17°C). Скорость охлаждения перфузионного раствора составляла 0,5-1°C/мин.

Эксперименты с микроэлектродным отведением ПД проводили на папиллярной мышце правого желудочка. Папиллярную мышцу помещали в камеру объемом 6 мл и перфузировали с постоянной скоростью 18 мл/мин раствором Тироде следующего состава (в мМ/л): NaCl-125; KCl-4; CaCl₂ –3; MgCl₂ –1; NaHCO₃ -20; NaH₂PO₄ – 1,5; глюкоза – 10 (для кролика) и NaCl-130; KCl-4,7; CaCl₂ –3; MgCl₂ –1,05; NaHCO₃ -18; NaH₂PO₄ – 1,2; глюкоза – 11 (для суслика). Перфузионный раствор непрерывно оксигенировали газовой смесью (95% O₂ и 5% CO₂), pH = $7,35 \pm 0,05$.

ИЗМЕРЕНИЕ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ. При каждой выбранной температуре препарат адаптировали не менее 10 минут. По истечении адаптационного периода начинали постепенно повышать частоту стимуляции до тех пор, пока сохранялось возбуждение сердца в соотношении стимул-ответ 1:1, при этом производили запись ПД не ранее

чем через 20 стимулов после изменения частоты. Минимальный период стимуляции, при котором навязывался ритм, принимали за желудочковый функциональный рефрактерный период (ЖФРП). В конце протокола сердце в течении 30 минут нагревали до 37 °С и проводили повторные измерения.

При микроэлектродных отведениях измеряли потенциал покоя (ПП), амплитуду потенциала действия (АПД), максимальную скорость нарастания переднего фронта ПД (dV/dT_{max}), длительность потенциала действия на 50% и 90% реполяризации (ДПД_{50%} и ДПД_{90%} соответственно). Диастолический интервал (ДИ) вычисляли как $ДИ = T - ДПД$ (T - период стимуляции). Альтернации ДПД высчитывали как разность между (N)-ым и (N+1)-ым ПД.

Регистрация интенсивности флуоресцентного сигнала от потенциал-чувствительного красителя di-4-ANEPPS, которым было прокрашено сердце, проводилось при помощи высокоразрешающей и высокоскоростной ССД камеры (Dalsa Inc., Канада) с поверхности сердца примерно 16 на 16 мм и разрешением 128 на 128 точек. Контроль оборудования, ввода и анализа данных осуществлялся с помощью модифицированной системы визуализации флуоресцентного изображения, разработанного в лаб. Ефимова И.Р. (Сент-Луис, США) (Ефимов И.Р. и др., 2000). Подробное описание используемой методики, а также модифицированной установки оптического картирования представлено в работе (Fedorov V.V. et al., 2005).

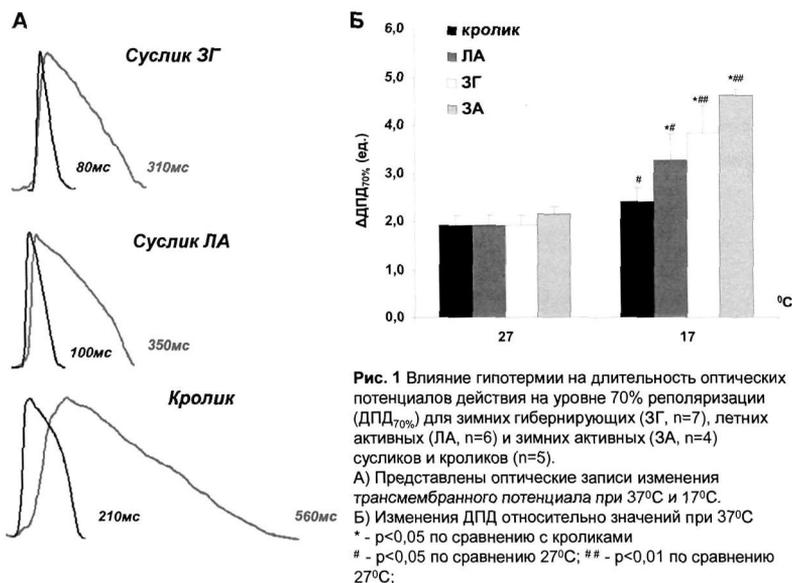
Во время оптического картирования сердца измерялись: ДПД на 70% реполяризации (ДПД_{70%}), скорость проведения (СП) вычисляли как отношение пройденного расстояния (вычисляемого по цифровой фотографии) на время. СП измеряли в направлении максимально быстрого распространения возбуждения (продольная скорость проведения) и в перпендикулярном направлении (поперечная скорость проведения). Анизотропию проведения определяли как отношение скоростей в продольном и поперечном направлениях. Альтернации ДПД высчитывали как разность между (N)-ым и (N+1)-ым ПД.

МОДЕЛЬ ЖЕЛУДОЧКОВЫХ АРИТМИЙ. Предрасположенность сердец к нарушениям ритма определяли при помощи быстрой электрической стимуляции близкой к ЖФРП. За ФЖ принимали >20 последовательных желудочковых экстрвозбуждений. При возникновении тахикардии продолжительностью более 1 мин. производили электрическую дефибрилляцию сердца с помощью внутривенного катетера, конец которого устанавливали в верхушке левого желудочка. Электроды катетера соединялись с внешним дефибриллятором (Gold, USA).

АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ. Все величины, указанные в работе, представлены как средние значения, а их ошибки – стандартными ошибками среднего. Оценка статистической значимости изменений электрофизиологических параметров и различий по группам проводилась с помощью анализа для вариаций ANOVA, непарного t-теста Стьюдента и критерия χ^2 . Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для сравнения альтернатив между разными группами животных среднее значение альтернатив нормировали на среднее значение ДПД при каждой частоте стимуляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СЕРДЦА. На **рис. 1** показаны примеры потенциалов действия, полученных при помощи оптического картирования, а рядом представлена гистограмма, на которой показано относительное (относительно ДПД_{70%} при 37°C) изменение ДПД при понижении температуры.



В **табл. 1** представлены параметры потенциалов действия, измеренные с помощью микроэлектродной техники.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными, измеренными при помощи оптического картирования сердца, а так же данными других авторов (Кандидатская дис. Глухова А.В.; Fedorov V.V. et al., 2005).

ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА СТАЦИОНАРНУЮ И ДИНАМИЧЕСКУЮ НЕОДНОРОДНОСТЬ У ГИБЕРНИРУЮЩИХ И НЕГИБЕРНИРУЮЩИХ ЖИВОТНЫХ. Гипотермия вызывала значительное замедление СП как у кроликов, так и у сусликов. На **рис. 2** представлены карты активации желудочков сердца ЗГ, ЗА и ЛА сусликов и кролика при различных

Параметры ПД	Вид	37°C	27°C	17°C
ПП (мВ)	ЗГ	-77 ± 1	-74 ± 2	-65 ± 1
	ЗА	-79 ± 1	-75 ± 1	-70 ± 2
	кролик	-84 ± 1	-77 ± 2	-61 ± 2
АПД (мВ)	ЗГ	89 ± 2	92 ± 3	82 ± 3
	ЗА	94 ± 2	94 ± 2	84 ± 3
	кролик	103 ± 2	99 ± 2	66 ± 8
dV/dT _{max} (В/с)	ЗГ	137 ± 5	83 ± 3	22 ± 2
	ЗА	135 ± 4	85 ± 6	22 ± 3
	кролик	132 ± 5	85 ± 4	8 ± 2
ДПД _{50%} (мс)	ЗГ	19 ± 5	31 ± 6	48 ± 6
	ЗА	20 ± 4	37 ± 5	43 ± 4
	кролик	85 ± 9	154 ± 19	121 ± 17
ДПД _{90%} (мс)	ЗГ	66 ± 4	117 ± 12	281 ± 26
	ЗА	68 ± 3	131 ± 17	254 ± 10
	кролик	121 ± 15	224 ± 24	306 ± 42

Таблица 3.1.1 Параметры потенциалов действия от изолированных папиллярных мышц кролика (n = 5), ЗГ (n = 12), ЗА (n = 6).

ЗГ-зимний гибернирующий, ЗА - зимний активный, ПД - потенциал действия, ПП - потенциал покоя, АПД - амплитуда потенциала действия, dV/dT_{max} - максимальная производная скорость нарастания переднего фронта потенциала действия, ДПД_{50%} - длительность потенциала действия на уровне 50% реполяризации, ДПД_{90%} - длительность потенциала действия на уровне 90% реполяризации.

* - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

температурах и нормальном ритме, полученные во время стимуляции левого желудочка. На картах активации видно, что при понижении температуры до 17°C проведение возбуждения по миокарду желудочков сохраняется, хотя и значительно замедляется. Причём у кроликов замедление проведения происходит сильнее в поперечном направлении (см. рис. 2). У всех сусликов, напротив, при понижении температуры до 17°C наблюдается малоизменяющаяся пространственно-временная картина активации сердца. На картах стрелкой отмечены направления, вдоль которых измеряли СП, рядом указаны соответствующие значения СП при каждой температуре. Рядом с картами приведены временные шкалы активации области картирования при каждой температуре.

На рис. 3 показана зависимость анизотропии проведения (отношение продольной СП к поперечной СП) от периода стимуляции для ЗА, ЗГ и ЛА сусликов и кроликов при различных температурах. Анизотропия проведения у ЗГ сусликов достоверно не изменялась ни при изменении температуры, ни при изменении частоты стимуляции. В то же время, уже при 37°C и ЖФРП анизотропия проведения у кроликов достоверно возрастала (с $2,1 \pm 0,06$ до $2,39 \pm 0,05$) и была достоверно выше, чем у всех видов сусликов (см. рис. 3). Дальнейшее понижение температуры приводило к достоверному увеличению анизотропии у кроликов даже при нормальном ритме. У ЛА сусликов анизотропия проведения начала достоверно увеличиваться при 27°C, как и у кроликов. Сначала анизотропия отреагировала на высокий ритм, а потом и на понижение температуры.

Для оценки аритмогенности миокарда мы применяли критерий Nolasco - Dahlen для максимального угла наклона «кривой восстановления ДПД» (кривая зависимости ДПД от предшествующего ДИ). Было показано, что при всех температурах кривые для сусликов более пологие, чем для кроликов. В соответствии с критерием Nolasco-Dahlen мы использовали графический метод определения наклона кривых восстановления.

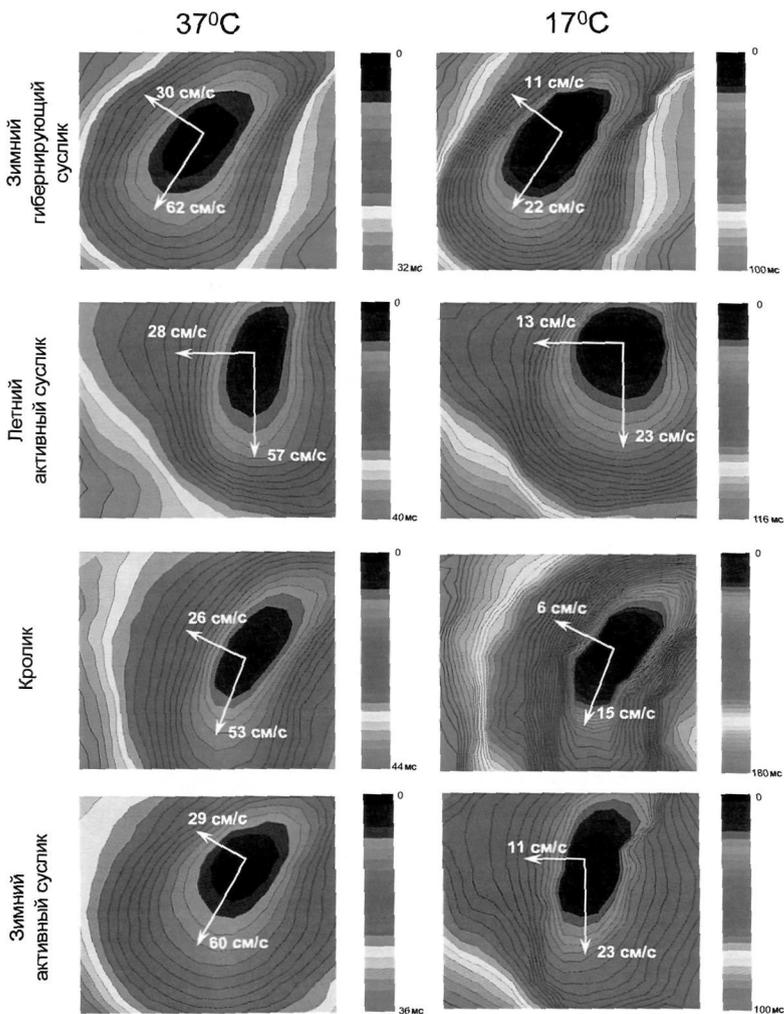


Рис. 2 Карты активации желудочков сердца ЗГ, ЗА и ЛА сусликов и кролика во время стимуляции левого желудочка при различных температурах. Периоды стимуляции равны 300мс при 37°C, 750мс при 17°C. Изохроны построены через 2 мс на картах при 37°C, через 4 мс при 17°C. Стрелками показаны продольные и поперечные направления скорости проведения (СП), рядом указаны соответствующие значения СП при данной температуре.

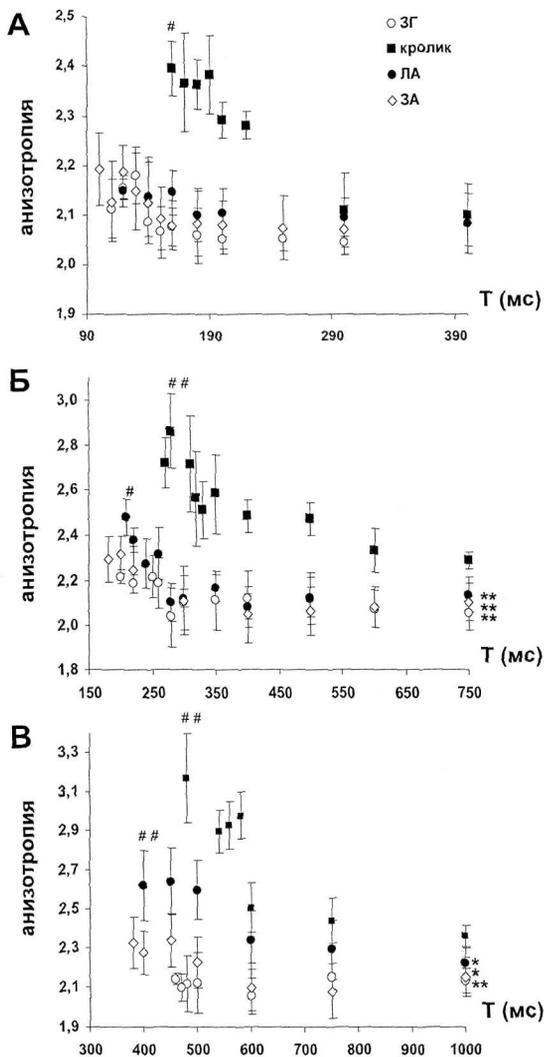


Рис. 3 Частотная зависимость анизотропии проведения (отношения продольной скорости проведения к поперечной) для зимних гибернирующих (ЗГ, n=7), летних активных (ЛА, n=6) и зимних активных (ЗА, n=4) сусликов и кроликов (n=5) при температурах 37°C, 27°C и 17°C.

- p<0,05 по сравнению с ЗГ; ## - p<0,01 по сравнению с ЗГ

* - p<0,05 по сравнению с кроликами; ** - p<0,01 по сравнению с кроликами.

Так, у всех животных при понижении температуры происходит увеличение угла наклона кривых. В таблице. 2 даны значения максимальных углов наклона кривых при 37°C, 27°C и 17°C. У всех животных понижение температуры до 27°C не вызывает достоверных изменений наклона кривых. Однако при 37°C и 27°C максимальный угол наклона кривых для всех сусликов значительно меньше, чем у кроликов, и не превышает 45°. При дальнейшем снижении температуры до 17°C достоверно увеличивался максимальный угол наклона у всех видов сусликов по сравнению с 37°C, а у ЗА и ЗГ еще и по сравнению с 27°C. Так, у ЛА сусликов максимальный угол наклона варьируется в непосредственной близости от критического значения в 45°, иногда превышая его. У ЗГ и ЗА сусликов максимальный угол наклона, так же как и у ЛА сусликов, колеблется в непосредственной близости от критического значения в 45°, не превышая его. Увеличение ошибки при определении максимального угла у кролика при 17°C связано с увеличением дисперсии по реполяризации

	37°C	27°C	17°C
ЗГ	18±4° **	28±4° **	40±1° ##
КРОЛИК	60±2°	64±2°	48±10°
ЗА	15±1° **	24±2° **	38±3° ##
ЛА	26±3° **	35±4° **	43±2° ##

Табл. 2 Среднее значение максимальных углов наклона кривых восстановления длительности потенциалов действия (в градусах) для зимних гибернарующих (ЗГ, N=7), летних активных (ЛА, N=6) и зимних активных (ЗА, N=4) сусликов и кроликов (N=5) в диапазоне температур от 37°C до 17°C.

** - P<0,01 для ЗГ, ЛА и ЗА по сравнению с кроликами

- P<0,01 по сравнению с тем же животным при 37°C

На рис. 4 представлена гистограмма максимальных альтернатий ДПД (альтернатиями называется чередование коротких и длинных ПД) в процентах от средней ДПД при 37°C, 27°C и 17°C. Видно, что при 37°C нормированные альтернатии ДПД не отличаются между ЛА, ЗА и ЗГ сусликами и не превышают 5%, но достоверно меньше, чем у кроликов.

Дальнейшее понижение температуры до 27°C приводит к достоверному росту максимальных альтернаций ДПД у ЛА сусликов, и, как следствие, к достоверной разнице между ЛА и кроликами по сравнению с ЗГ. Как у ЛА и ЗА сусликов, так и у кроликов нормированные максимальные альтернации ДПД при 27°C превышают 5%, а у ЗГ сусликов - нет. При 17°C уже у всех групп животных нормированные максимальные альтернации превышают пятипроцентный порог, а у ЛА и ЗГ альтернации достоверно выше, чем при 27°C. Таким образом, у кроликов, в отличие от ЗГ, ЗА и ЛА сусликов, при всех температурах альтернации больше 5%, а у ЗГ сусликов сохраняются минимальные значения величины альтернаций <5% до 27°C включительно.

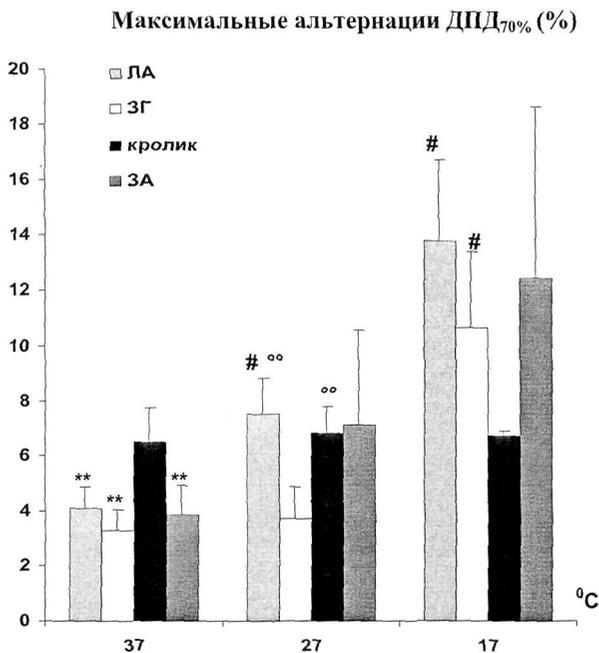


Рис. 4 Среднее значение максимальных альтернаций длительности потенциала действия для зимних гибернирующих (ЗГ, n=7), летних активных (ЛА, n=6) и зимних активных сусликов (ЗА, n=4) и кроликов (n=5) в диапазоне температур от 37°C до 17°C.

-p<0,01 по сравнению с тем же животным при более высокой температуре

** -p<0,01 для ЗГ, ЛА и ЗА по сравнению с кроликами

°° -p<0,01 для ЛА и кроликов по сравнению с ЗГ сусликами

Как говорилось выше, для возникновения циркуляции необходима повышенная неоднородность среды – анизотропия проведения и дисперсия рефрактерности (Мандел В.Дж., 1996; Wu J. and Zipes D.P., 2004). Увеличенная электрофизиологическая неоднородность миокарда будет создавать условия, необходимые для развития однонаправленного блока проведения. Тем не менее, ни один из вышерассмотренных параметров: высокая степень анизотропии, высокие альтернации и превышение критерия Nolasco-Dahlen при охлаждении до 17°C не удалось однозначно сопоставить с возникновением ФЖ. Данные критерии показывают увеличение повышения неоднородности и, как следствие, повышение вероятности возникновения ФЖ, но не являются достаточными условиями для возникновения ФЖ.

Однако наибольший вклад в увеличение дисперсии реполяризации вносят рассогласованные альтернации – альтернации в разных частях сердца сдвинутые по фазе. Для того чтобы их оценить, мы измерили максимальную дисперсию (D_{\max}) по картируемой области, а потом вычислили стандартную ошибку D_{\max} ($\text{CO}(D_{\max})$) (см. рис. 5). На рис. 5А показана гистограмма изменения D_{\max} при нормальном ритме (нижние столбики гистограммы) и высокочастотной стимуляции (верхние столбики гистограммы) в зависимости от температуры. Из гистограммы видно, что увеличение частоты стимуляции достоверно увеличивало дисперсию у сусликов при всех температурах, но не вызывало значительных рассогласованных альтернаций (см. рис. 5Б) $\text{CO}(D_{\max}) < 7\%$. В то же время у кроликов повышение частоты стимуляции не вызывало достоверного роста D_{\max} , но вызывало рост рассогласованных альтернаций, причем под действием низких температур рост $\text{CO}(D_{\max})$ увеличивался. Данный факт может свидетельствовать о разных механизмах защиты сердца от ФЖ при нормальной температуре. При гипотермии у кроликов увеличивалась как стационарная, так и динамическая составляющая неоднородности, в то время как у сусликов достоверно увеличивалась только динамическая неоднородность.

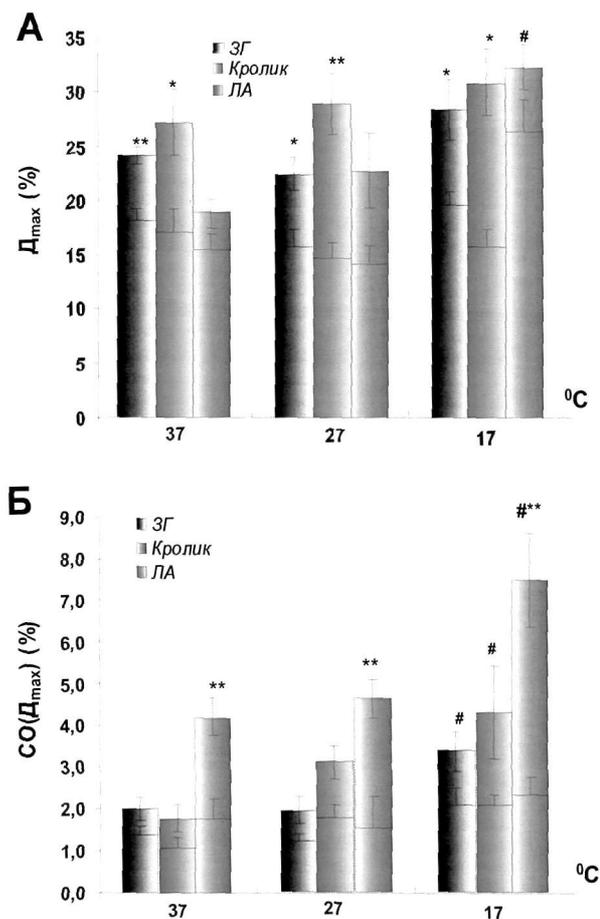


Рис. 5 Влияние гипотермии на D_{max} и $CO(D_{max})$ при нормальном ритме, близком к синусовому ритму в покое (весь столбец) и при желудочковом функциональном рефрактерном периоде (малый столбец) для зимних гибернирующих (ЗГ, $n=7$) и летних активных (ЛА, $n=6$) сусликов и кроликов ($n=5$).

** - $p < 0,01$ достоверность изменения под действием высокого ритма;

* - $p < 0,05$ достоверность изменения под действием высокого ритма;

- $p < 0,01$ изменения при ЖФРП по сравнению с 37°C.

В ходе экспериментов у трех животных возникли ФЖ. Во всех случаях возникновения ФЖ наблюдалась повышенная неоднородность миокарда ($D_{\max} \geq 30\%$) и сильные рассогласованные альтернации ($CO(D_{\max}) \geq 7\%$). ФЖ не возникала при наличии только повышенной неоднородности, которая наблюдалась у всех животных при высоком ритме. Так же стоит отметить, что высокие альтернации $CO(D_{\max}) = 8,5\%$, наблюдаемые в одном из случаев при среднем значении $D_{\max} = 19,5\%$, так же не приводили к ФЖ. На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что для возникновения и поддержания ФЖ необходимы как стационарная, так и динамическая неоднородность. Можно предположить, что величины стационарной и динамической неоднородности, необходимые для возникновения ФЖ, обратно зависимы: и чем больше одна из них, тем меньше необходима вторая. Данные выводы хорошо согласуются с рассуждениями, сделанными Weiss J.N. (2002) в обзоре, посвященном взаимодействию стационарной и динамической неоднородностей в механизме развития ФЖ.

ВЫВОДЫ

1. В работе впервые проведено детальное исследование обеих компонент хронотопографии реполяризации миокарда (стационарной и динамической) у гибернирующих и негибернирующих животных при гипотермии, а также исследована их роль в холодовом аритмогенезе. У сусликов при охлаждении до 17°C показано сохранение функциональной однородности миокарда желудочков, как стационарной, так и динамической, и значительное увеличение неоднородности обоих типов у кроликов при понижении температуры.
2. У сусликов альтернации максимальной дисперсии реполяризации были более устойчивы к повышению частоты стимуляции и достоверно изменялись только во время гипотермии. В то же время, у кроликов повышение частоты стимуляции и понижение температуры приводило к нестабильности максимальной реполяризации, что способствовало развитию блоков проведения возбуждения и возникновению желудочковых аритмий по принципу re-entry.
3. Впервые исследовано влияние гипотермии на аритмогенные альтернации параметров активации и реполяризации миокарда гибернирующих и негибернирующих животных. Выявлено, что во всех состояниях сезонной активности гибернанты более толерантны к возникновению аритмогенных альтернаций ДПД и СП по сравнению с негибернирующими кроликами.
4. Получены экспериментальные данные о влиянии гипотермии на зависимость анизотропии проведения возбуждения от частоты сердечных сокращений у гибернирующих и негибернирующих животных. Показано, что максимальная анизотропия проведения у зимних гибернирующих сусликов достоверно не изменяется ни при высоком ритме, ни при гипотермии. В то же время, у кроликов и повышение частоты ритма, и гипотермия приводили к росту максимальной анизотропии проведения.
5. У сусликов обнаружены сезонные различия (в ДПД, СП, углах наклона кривых восстановления ДПД, анизотропии проведения, альтернации ДПД) в устойчивости сердца к гипотермии и высокочастотной стимуляции, которые, по-видимому, обусловлены наличием в период зимней спячки специализированных адаптационных механизмов, определяющих функциональное состояние миокарда и связанных с изменениями работы Na^+ , Ca^{2+} и межклеточных каналов и/или уровня экспрессии белков, формирующих эти каналы.

СПИСОК РАБОТ, ОБУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ СТАТЬИ.

1. **Ю.В. Егоров**, А.В. Глухов, В.С. Артюхов, И.Р. Ефимов, Л.В. Розенштраух «Сравнительное исследование альтернатив длительности потенциала действия при гипотермии у сусликов и кроликов», Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова, 2009, Т95, №5, ст. 532-543.
2. А.В. Глухов, **Ю.В. Егоров**, И.Р. Ефимов, Л.В. Розенштраух, «Влияние гипотермии на хронотопографию активации сердца гибернирующих и негибернирующих млекопитающих», Кардиология, 2008, №12, ст. 34-41.
3. А.В. Глухов, **Ю.В. Егоров**, В.В. Федоров, И.Р. Ефимов, Л.В. Розенштраух, «Влияние гипотермии на длину волны возбуждения и уязвимость сердца к возникновению тахиаритмий у гибернирующих и негибернирующих животных», Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова, 2007, Т93, №3, ст. 289-298.
4. А.В. Глухов, А.В. Резник, Н.В. Коваленко, **Ю.В. Егоров**, Л.В. Розенштраух «Влияние нибентана на дисперсию реполяризации миокарда желудочков кролика». Кардиология 2008, №7, ст. 40-47
5. Fedorov VV, Glukhov AV, Sudharshan S, **Egorov Y**, Rosenshtaukh LV, Efimov IR. «Electrophysiological mechanisms of antiarrhythmic protection during hypothermia in winter hibernating versus nonhibernating mammals.» Heart Rhythm, 2008, 5(11), ст. 1587-1596.

ТЕЗИСЫ.

6. Fedorov VV, Glukhov AV, Sudharshan S, **Egorov Yu**, Rosenshtaukh LV, Efimov IR. Cardiac gap junction enhancement prevents conduction disturbances and arrhythmias in winter-hibernating mammals. Heart Rhythm, San Francisco, California, USA, May 14-17, 2008, 5(5), тезисы ст. 60.
7. Glukhov AV, Fedorov VV, **Egorov Yu**, Rosenshtaukh LV, Efimov IR. Electrophysiological mechanisms of resistance to hypothermic ventricular fibrillation in the heart of hibernator Citellus undulatus. Heart Rhythm, Boston, Massachusetts, USA, May 17-20, 2006, 3(1S), тезисы ст. 221.

8. **Егоров Ю.В., Глухов А.В.** Изучение механизмов устойчивости сердца гибернирующих сусликов *CITELLUS UNDULATUS* к возникновению аритмии при гипотермии. Тезисы 5 ежегодной международной молодежной конференции ИБХФ РАН-ВУЗЫ, Москва, Россия, декабрь 14-16, 2005, ст. 356-358.
9. **Глухов А.В., Егоров Ю.В.** Длина волны возбуждения и уязвимость сердца к возникновению тахиаритмий при гипотермии у гибернирующих и негибернирующих млекопитающих. Тезисы 10-ой Пущинской школы-конференции молодых ученых “Биология наука 21 века”, Пущино, Московская область, Россия, Апрель 17-21, 2006, ст. 133.
10. **Глухов А.В., Егоров Ю.В.** Влияние гипотермии на неоднородность активации и реполяризации сердца сусликов *CITELLUS UNDULATUS* и кроликов. Тезисы девятой всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей “Человек и его здоровье”, Санкт-Петербург, Россия, Апрель 22-23, 2006, ст. 71-72.
11. **Егоров Ю.В., Артюхов В.С., Глухов А.В.** Осцилляции длительности реполяризации и уязвимость сердца к развитию желудочковых тахиаритмий при гипотермии. Тезисы десятой всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей “Человек и его здоровье”, Санкт-Петербург, Россия, Апрель 20-21, 2007, ст. 132-134.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ.

ФЖ – фибрилляция желудочков;

ЖФРП – желудочковый функциональный рефрактерный период;

ПД – потенциал действия;

ЗГ – зимний гибернирующий суслик;

ЗА – зимний проснувшийся суслик;

ЛА – летний активный суслик;

СП – скорость проведения;

ДПД – длительность потенциала действия;

ДИ – диастолический интервал;

ЖТ – желудочковые тахикардии.

Стационарная неоднородность – неоднородность присутствующая в любом сердце при нормальном ритме.

Динамическая неоднородность – неоднородность, вызванная возбуждениями с коротким интервалом сцепления (высокочастотной стимуляцией или преждевременным стимулом во время фазы относительной рефрактерности).

Альтернации ДПД – чередование коротких и длинных потенциалов действия;

Рассогласованные альтернации – альтернации у которых фазы в различных областях сердца не совпадают.