

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ ТНЦ СО РАМН

На правах рукописи

ЛУКАВСКАЯ ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА  
КАРДИОМИОЦИТОВ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ АМИОДАРОНА И НИБЕНТАНА**

03.00.13 – физиология

14.00.06 – кардиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

академик РАМН,

доктор медицинских наук,

профессор Медведев

Михаил Андреевич

доктор медицинских наук,

старший научный сотрудник

Афанасьев Сергей Александрович

Томск – 2003

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР</b> .....	10
<b>1.1 Роль саркоплазматического ретикулула кардиомиоцитов в механизме сокращения сердечной мышцы</b> .....	10
1.1.1 Участие саркоплазматического ретикулула кардиомиоцитов в механизме электромеханического сопряжения.....	11
1.1.2 Ритмоинотропные эффекты сердечной мышцы.....	12
<b>1.2 Модификация клеток миокарда в условиях хронической сердечно-сосудистой патологии</b> .....	16
1.2.1 Особенности внутриклеточного метаболизма кардиомиоцитов при ишемических и реперфузионных воздействиях на миокард.....	17
1.2.2 Функциональные и биохимические изменения в сердечной мышце, вызванные гипертрофией и недостаточностью миокарда.....	18
<b>1.3 Электрофизиологические основы нарушения электрической стабильности сердца</b> .....	19
1.3.1 Физиологический автоматизм синатриального узла и латентных центров.....	20
1.3.2 Патологические механизмы образования импульса..	21
1.3.3 Ремоделирование миокарда, вызванное продолжительными эпизодами нарушения сердечного ритма..	24
<b>1.4 Возможности медикаментозного лечения нарушений сердечного ритма</b> .....	25
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	31

2.1	Объект исследования.....	31
2.2	Приготовление изолированных мышечных препаратов...	34
2.3	Оценка сократительной активности мышечных препаратов.....	37
2.4	Моделирование ритмоинотропных эффектов на перфузируемых мышечных препаратах сердца.....	37
2.5	Статистическая обработка.....	40
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ.....</b>		<b>41</b>
3.1	Влияние биологически активных веществ на параметры цикла сокращение-расслабление миокарда.....	41
3.2	Влияние амиодарона и нибентана на стационарную связь интервал-сила.....	45
3.3	Влияние биологически активных веществ на амплитуду экстрасистолического сокращения миокарда.....	47
3.4	Влияние биологически активных веществ на амплитуду постэкстрасистолического сокращения миокарда.....	52
3.5	Влияние биологически активных веществ на амплитуду потенцированных покоем сокращений миокарда...	60
<b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>		<b>70</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>		<b>96</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>		<b>99</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>		<b>101</b>

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- ААП – антиаритмические препараты
- АТФ – аденозинтрифосфат
- БАВ – биологически активные вещества
- ИБС – ишемическая болезнь сердца
- КМ – кардиомиоциты
- ПД – потенциал действия
- ПЭС – постэкстрасистолический
- СА – синатриальный
- СПР – саркоплазматический ретикулум
- ТЭА – тетраэтиламмония хлорид
- цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
- ЭС – экстрасистолический

## **ВВЕДЕНИЕ**

Одной из задач нормальной физиологии, как теоретической основы всех медицинских дисциплин, является изучение механизмов адаптации организма к действию различных факторов внешней и внутренней среды [36]. В результате адаптивных процессов, изменения происходят не только на уровне отдельных органов и систем организма [33], но и на тканевом и клеточном уровне [31].

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что активация адаптивных изменений в организме человека происходит под воздействием тех же самых факторов, которые вызывают хронические заболевания сердечно-сосудистой системы (например, хроническая коронарная недостаточность или гипертоническая болезнь сердца) [10,45]. Вполне очевидно, что адаптивные процессы, происходящие в организме больного, могут существенно влиять на кинетику используемых лекарственных средств, а в ряде случаев приводить к развитию их парадоксальных эффектов [23].

Вышесказанное в полной мере относится и к медикаментозной коррекции и предупреждению нарушений электрической стабильности сердца. Тем более, что подавляющее большинство известных на сегодня антиаритмических препаратов в определенных условиях могут оказывать и проаритмогенное действие [23, 34, 109, 180].

В тоже время, медикаментозная профилактика рецидивов аритмий предполагает длительное применение пациентами антиаритмических препаратов [48, 55]. В связи с этим, эффективное предупреждение сердечных аритмий не представляется без знаний широты адаптивных реакций, определяющих процессы функционирования внутриклеточных структур и меха-

низмов. По этой же причине успех в разработке новых антиаритмических препаратов возможен лишь при максимально полном учете всех молекулярных взаимодействий, происходящих в кардиомиоците на субклеточном уровне [48].

В последние годы возросло внимание кардиологов к изучению уже известных (соталол) и разработке новых (ибутилид, ибутилид, амателид) антиаритмических препаратов III класса по классификации E.M. Vaughan-Williams [96,161,162]. Основным механизмом действия этих препаратов является ингибирование  $K^+$ -каналов, приводящее к увеличению длительности потенциалов действия (ПД) в разных отделах сердца [7,26,42,48,51]. Наряду с высокой эффективностью в лечении угрожающих жизни аритмий, препараты этого класса демонстрируют возможность снижения смертности от желудочковых нарушений ритма и положительное влияние на выживаемость больных, перенесших инфаркт миокарда [42,55,76,110,170].

В тоже время, данные о действии наиболее популярного антиаритмического препарата III класса – амиодарона [4] – на внутриклеточном уровне недостаточны. В единичных исследованиях на эндотелиальных клетках легочной артерии человека показано дозозависимое увеличение концентрации внутриклеточного ионизированного кальция за счет влияния этого препарата на плазматическую мембрану клетки [142]. Имеется также несколько сообщений об ингибирующем действии амиодарона и его метаболита, деэтиламиодарона, на способность саркоплазматического ретикулума (СПР) кардиомиоцитов (КМ) крысы и эндоплазматического ретикулума эндотелиальных клеток легочной артерии человека аккумулировать ионы кальция [142,166]. Сведения о возможных меха-

низмах внутриклеточного воздействия отечественного антиаритмического препарата III класса нибентана [12] в отечественной и зарубежной научной литературе в настоящее время отсутствуют.

С представленных позиций исследование физиологических феноменов, происходящих на уровне саркоплазматического ретикулума в результате развития адаптивных процессов в миокарде и используемых в лечении сердечных аритмий фармакологических веществ, представляется важным шагом в решении проблемы эффективной терапевтической помощи кардиологическим больным, страдающим нарушениями сердечного ритма.

**Цель работы.** Изучить функциональное состояние саркоплазматического ретикулума клеток здорового и патологически измененного миокарда на фоне действия антиаритмических препаратов III класса амиодарона и нибентана.

**Задачи исследования:**

1. Исследовать функциональное состояние СПР КМ при обработке интактного миокарда крысы антиаритмическими препаратами III класса амиодароном и нибентаном.
2. Изучить роль СПР КМ в поддержании внутриклеточного гомеостаза ионов кальция на фоне действия амиодарона.
3. Провести сравнительное исследование влияния блокатора  $K^+$ -каналов тетраэтиламмония хлорида и антиаритмических препаратов амиодарона и нибентана на функциональное состояние СПР кардиомиоцитов.
4. Исследовать особенности инотропной функции изолированного миокарда больных ИБС на фоне действия амиодарона.

**Научная новизна.** С использованием электрофизиологических методов впервые дана оценка функционального состоя-

ния СПР кардиомиоцитов интактного миокарда крысы на фоне антиаритмических препаратов III класса амиодарона и нибентана. Обнаружено усиление способности СПР кардиомиоцитов "удерживать" ионы кальция в результате действия амиодарона и нибентана.

Впервые на изолированном перфузируемом миокарде больных ИБС выявлено два типа реакций мышечных полосок на ритмоинотропные воздействия. Показано, что адаптивные изменения функционального состояния СПР кардиомиоцитов при хронической коронарной недостаточности оказывают влияние на эффекты амиодарона.

**Практическая значимость.** В результате проведенного исследования получены сведения, расширяющие понимание механизмов действия антиаритмических препаратов III класса амиодарона и нибентана. Полученные данные позволяют лучше представлять процессы, происходящие под влиянием лекарственных препаратов в миокарде больных ИБС на субклеточном уровне. Выявленная в работе связь эффектов амиодарона с реализацией адаптивных изменений в СПР кардиомиоцитов способствует проведению адекватной антиаритмической терапии больным хронической коронарной недостаточностью.

**Апробация диссертации.** Основные положения и результаты научных исследований были доложены на II-ом конгрессе молодых ученых и специалистов "Науки о человеке" (Томск, СГМУ, 2001); на V-ой ежегодной сессии Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН (Москва, НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2001); на школе по интервенционной аритмологии (Томск, НИИК РАМН, 2001); на IV-ом съезде физиологов Сибири с международным участием (Новосибирск, НИИФ СО РАМН, 2002).



**Публикации.** По результатам проведенного исследования опубликовано 10 работ, включая 4 статьи в центральных журналах и 6 публикаций в сборниках материалов конференций.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных наблюдений, обсуждение полученных результатов), заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 23 рисунками и 19 таблицами. Библиографический указатель включает 180 источника, из них 56 отечественных и 124 иностранных.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

Влияние амиодарона и нибентана на функцию СПР кардиомиоцитов проявляется в увеличении  $Ca^{+2}$ -аккумулирующей способности саркоплазматического ретикулума и не зависит от локализации кардиомиоцитов и частоты мышечных сокращений.

Адаптивные изменения, происходящие в организме на уровне саркоплазматического ретикулума в результате протекающих в миокарде больных ИБС патологических процессов, существенно влияют на проявление эффектов антиаритмических препаратов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 РОЛЬ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА КАРДИОМИОЦИТОВ В МЕХАНИЗМЕ СОКРАЩЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

*Саркоплазматический ретикулум кардиомиоцита* представляет собой систему анастомозирующих мембранных каналов, пузырьков и трубочек [11]. Саркоплазматический ретикулум выполняет функцию связывания внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  и участвует в механизме секвестрации ионов кальция в цитозоль с последующим развитием сокращения [2, 9].

Основная часть СПР имеет вид мелкоячеистой сетки, специализирующейся и сегментирующейся в соответствии с формой соседнего саркомера. В структуре "сетчатого" СПР выделяют продольную часть и терминальные цистерны. Захват  $\text{Ca}^{2+}$  внутрь СПР происходит в продольной части ретикулума. Процесс переноса  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану СПР осуществляется против градиента концентрации и обеспечивается  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазными насосами с затратой энергии в соотношении одна молекула АТФ на два иона кальция [59, 106, 155]. Активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы определяется регуляторным белком фосфоламбаном [69, 145]. В основном нефосфорилированном состоянии фосфоламбан ингибирует  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазу, снижая сродство  $\text{Ca}^{2+}$ -насоса к  $\text{Ca}^{2+}$ . При его фосфорилировании сродство к  $\text{Ca}^{2+}$  усиливается, и активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы увеличивается. Фосфорилирование миокардиального фосфоламбана катализируется несколькими энзимами, включая  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулин зависимую протеинкиназу и цАМФ зависимую протеинкиназу А [145].

Выброс ионов кальция, депонированных в СПР, происходит по градиенту концентрации при активации рианодин-

чувствительных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, расположенных на мембране терминальных цистерн в непосредственной близости от сарколеммы. Транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  внутри везикул СПР от мест захвата к местам его депонирования и последующего выброса осуществляется  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающими белками, в частности кальсеквестрином [11,86,145].

Кроме "сетчатого" ретикулума, существует второе основное подразделение СПР кардиомиоцитов, так называемый, "контактный" ретикулум. Два элемента "контактного" СПР кардиомиоцитов в комплексе с одной Т-тубулой часто именуется "триадами". В миокарде обнаружено также множество других видов контактов СПР с сарколеммальной мембраной: кольца СПР, S-образные переплетения, "обратные триады" и др. [53].

### **1.1.1 Участие саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов в механизме электромеханического сопряжения**

*Электромеханическое сопряжение*, передача сигнала к сокращению от возбужденной клеточной мембраны к расположенным в глубине клетки миофибриллам, включает в себя несколько последовательных процессов, ключевую роль в которых играют ионы кальция [43,150].

В покое концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в миоплазме составляет  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  М, что на несколько порядков ниже величины, необходимой для инициации сокращения ( $10^{-5}$ - $10^{-6}$  М) [30,43]. В неповрежденное мышечное волокно даже при возбуждении внешний  $\text{Ca}^{2+}$  входит в очень небольших количествах, поэтому запуск сокращения осуществляется за счет выброса ионизированного кальция из его внутриклеточного де-

по – саркоплазматического ретикулума, в котором концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  может достигать  $10^{-4}$  М и более [30].

Проницаемость мембраны СПР для ионов кальция в покое мала, а утечка  $\text{Ca}^{2+}$  компенсируется постоянной работой кальциевого насоса СПР и задерживается электрической поляризацией мембраны. Выход  $\text{Ca}^{2+}$  по концентрационному градиенту осуществляется при открытии  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, происходящем в результате активации мембраны ретикулума.

Распространение возбуждения вглубь мышечного волокна, как показали Тейлор и Хаксли, составляет первый этап электромеханического сопряжения [104]. Потенциал действия саркоплазматической мембраны передается на мембрану поперечных трубочек (Т-системы) и далее на мембрану саркоплазматического ретикулума через электрический синапс, формируемый Т-системой и концевой цистерной ретикулума. Активация мембраны СПР вызывает высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из терминальных цистерн во внутриклеточную жидкость, окружающую миофибриллы [30, 43].

### **1.1.2 Ритмоинотропные эффекты сердечной мышцы**

*Ритмоинотропия* – зависимость силы сокращения сердечной мышцы от частоты стимуляции, в основе которой лежат клеточные саморегуляторные механизмы, обеспечивающие приспособительную реакцию сердца, вынужденного функционировать в условиях различных нагрузочных воздействиях [37]. Так называемый “феномен лестницы” был впервые описан Бюудичем в 1871 году для сердечной мышцы лягушки, а позже подтвержден многими исследователями на других видах животных: перфузируемом сердце собаки [177], папиллярной

мышце кошки [77], изолированном миокарде кролика [148]. Особенностью эффекта Боудича является разнообразие проявлений этого феномена у сердец различных животных, а также в пределах разных частей одного сердца [114]. По этому признаку выделяют три группы миокардиальной ткани: 1) миокард предсердий; 2) желудочки холоднокровных; 3) желудочки теплокровных [37,114].

Для сердца большинства млекопитающих при увеличении частоты стимуляции сила сердечных сокращений возрастает, а достигнув оптимума, падает [37]. Исключение представляет желудочек крысы, сократительная способность которого падает с ускорением ритма [18,68]. За явлением, отражающим рост силы сокращения сердечной мышцы в ответ на уменьшение интервала между регулярными стимулами в литературе закрепилось название *частотная* потенциация [37]. В настоящее время механизм возникновения частотной потенциации связывается с накоплением дополнительного количества кальция в СПР во время часто производимых стимулов [47].

В тех случаях, когда на ритмично сокращающийся миокард оказывается воздействие внеочередным электрическим импульсом, а сила следующего регулярного сокращения возрастает, говорят о явлении *постэкстрасистолической* (ПЭС) потенциации [37, 47, 86, 126, 180]. Наибольший эффект ПЭС потенциации наблюдается на промежуточных частотах и падает на высоких частотах [37]. При этом, независимо от частоты используемой электрической стимуляции, ПЭС потенциация увеличивается в ответ на удлинение временного интервала между регулярным и внеочередным электрическими импульсами. Однако при крайне малых интервалах величина ПЭС

потенциации также уменьшается [37]. Природа явления ПЭС потенциации связана с происходящим во время внеочередного возбуждения кардиомиоцита поступлением в миоплазму дополнительной фракции  $\text{Ca}^{2+}$  из экстрацеллюлярного пространства и депонированием этих ионов в СПР [126].

Потенциация покоем имеет место в тех случаях, когда после временного прекращения электрической стимуляции механической активности мышцы первое сокращение, полученное при возобновлении электрической стимуляции, превышает по амплитуде базовое. Данный феномен, по мнению большинства исследователей, объясняется увеличением уровня ионов кальция, депонированных в терминальных цистернах ретикулума кардиомиоцитов [62,63,70,120]. Дополнительное поступление  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазмы в СПР может обеспечиваться также за счет распада комплексов  $\text{Ca}^{2+}$  с лигандами [47].

*Видовая, типовая и онтогенетическая функциональная специфичность кардиомиоцитов* проявляется в особенностях протекания стационарных и переходных процессов в зависимости от вида животного, участка миокардиальной ткани и степени зрелости клеток сердечной мышцы. Так, у крыс зависимость сократимости миокарда от фракции  $\text{Ca}^{2+}$ , аккумулированного в СПР выше, чем у морских свинок и кроликов [91]. Причем, сокращение предсердного миокарда в большей степени, чем сокращение миокарда желудочков, обеспечивается рециркулирующей составляющей  $\text{Ca}^{2+}$  СПР [57,66,122]. Это связывается с более коротким ПД в предсердиях по сравнению с желудочками и меньшим, в связи с этим, количеством ионов кальция входящих в цитозоль из внеклеточного пространства [61,66,118,127]. Кроме того, в работах некоторых авторов показано, что в кардиомиоцитах предсер-

дий может наблюдаться несинхронный или двухфазный кальцийиндуцируемый выход  $\text{Ca}^{2+}$  из СПР [64,98]. Это, видимо, обусловлено тем, что в предсердных кардиомиоцитах СПР не образует комплексов с сарколеммой по принципу Т-системы [128].

В целом, саркоплазматический ретикулум кардиомиоцитов предсердия характеризуется более быстрой кинетикой захвата  $\text{Ca}^{2+}$  по сравнению с СПР кардиомиоцитов желудочков, что может быть связано с несколькими факторами: более низким уровнем активаторного  $\text{Ca}^{2+}$ , участвующего в сокращении [132]; объем и площадь поверхности СПР на единицу клеточного объема в кардиомиоцитах предсердия больше [70], а соотношение фосфоламбана к  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазе, напротив, почти в 4 раза меньше по сравнению с кардиомиоцитами желудочков [132].

Согласно экспериментальным данным, полученным на кардиомиоцитах морских свинок, соотношение между количеством  $\text{Ca}^{2+}$ , поступившего в клетку во время ее возбуждения из экстрацеллюлярного пространства и из СПР, соответствует отношению 1:10 [154]. Однако вклад СПР в развитие сокращения возрастает в процессе созревания миокарда [47]. Показано, что в незрелом миокарде основным источником  $\text{Ca}^{2+}$ , участвующего в сокращении, является межклеточная среда. Это связано с меньшим размером незрелых кардиомиоцитов [100], недостаточной развитостью Т-системы и миофибрилярного аппарата [112,124,125,137]. Установлено также, что число  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов на единицу поверхности мембраны терминальных цистерн СПР возрастает в процессе созревания кардиомиоцитов [169]. Секвестрирующая способность СПР и плотность АТФаз в продольном ретикулуле также значительно

ниже в незрелых клетках миокарда [73,105,125,137,168]. Кроме того, пассивная утечка  $\text{Ca}^{2+}$  из терминальных цистерн СПР эмбриональных кардиомиоцитов выше, чем в кардиомиоцитах взрослого животного [60,124].

С целью изучения функции саркоплазматического ретикулума в экспериментах на сердечной мышце используют кофеин. При изучении кардиомиоцитов кофеин применяют как средство, ингибирующее захват  $\text{Ca}^{2+}$  СПР [86,92,165] и облегчающее высвобождение ионов кальция из саркоплазматического ретикулума [19,86,157,165]. В ритмически сокращающихся мышцах спонтанная утечка ионов кальция из СПР в период между сокращениями уменьшает фракцию  $\text{Ca}^{2+}$ , выделяющегося из ретикулума при очередном возбуждении кардиомиоцитов. В связи с этим, на изолированное сердце крысы кофеин (0,05 - 0,5 мМ) оказывает отрицательное инотропное влияние [20], при этом уменьшается амплитуда концентрационных колебаний содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в миоплазме [108]. По данным В.И. Капелько с соавт., аналогичное влияние кофеин оказывает и на сердце морских свинок, но в значительно более высоких концентрациях [20,108]. Повышенная чувствительность миокарда крыс к кофеину отмечена также при исследованиях, проведенных на изолированных папиллярных мышцах [54].

## **1.2 МОДИФИКАЦИЯ КЛЕТОК МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ**

В современной научной литературе имеется большое количество публикаций, связанных с изучением изменения функционального состояния кардиомиоцитов при различных



формах сердечной патологии [85,97,121,136]. В частности, выявлены закономерность и динамика адаптивных изменений, происходящих в функционировании одной из основных внутриклеточных мембранных структур, ответственных за поддержание  $\text{Ca}^{+2}$ -гомеостаза клетки – саркоплазматического ретикула [1,11,31,48].

### **1.2.1 Особенности внутриклеточного метаболизма кардиомиоцитов при ишемических и реперфузионных воздействиях на миокард**

*Ишемия миокарда* – состояние относительного дефицита в обеспечении миокарда кислородом и энергетическими субстратами, поступающими с кровью, по отношению к глобальным или локальным потребностям сердца [173]. Следствием ишемии является нарушение процесса электромеханического сопряжения кардиомиоцитов, приводящее к снижению или полной потере сократительной активности мышечных волокон. Кроме того, ишемия может являться одной из причин развития в миокарде аномальной электрической активности, ведущей к возникновению аритмий [10,158].

Метаболические изменения, происходящие в условиях ишемии и реперфузии миокарда, вызывают повреждение плазматической мембраны кардиомиоцитов [45]. При этом раньше всего нарушаются функции специфических мембранных насосов, таких как  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза. Постепенно увеличивается проницаемость мембраны для поливалентных ионов и происходит деградация фосфолипидов [78]. В свою очередь, нарушение функции мембраны приводит к изменению потоков ионов натрия, калия, хлора и увеличению содержания воды, что

вызывает набухание клеток. Превышение поступления ионов кальция в кардиомиоциты над их элиминацией, происходящее при ишемическом повреждении и реперфузии миокарда, приводит к развитию токсических эффектов этого катиона на внутриклеточном уровне [10,45]. Кроме того, ишемия и реперфузия резко снижают устойчивость мембраны СПР к эндогенным повреждающим факторам [45].

### **1.2.2      Функциональные и биохимические изменения в сердечной мышце, вызванные гипертрофией и недостаточностью миокарда**

*Гипертрофия* является одной из основных реакций сердца на увеличение нагрузки, при которой происходит увеличение массы одного или двух желудочков или предсердий. В основе данного изменения сердца как органа лежит увеличение массы отдельных кардиомиоцитов без увеличения их числа [10].

Проявление другого патологического процесса – сердечной недостаточности – характеризуется неспособностью сердца перекачивать достаточное для обеспечения метаболизма периферических тканей количество крови. Одним из механизмов развития сердечной недостаточности считается диффузное повреждение внутриклеточных органелл. Сердечная недостаточность может развиваться как в нормальном, так и в гипертрофированном сердце. Обычно такая реакция проявляется в виде расширения камер желудочков, однако хроническая перегрузка объемом, вызывающая расширение камер сердца, может и не сопровождаться проявлением признаков сердечной недостаточности [10].

Основные биохимические изменения, происходящие в сердце в связи с гипертрофией и недостаточностью миокарда, заключаются в снижении энергетического метаболизма, ухудшении использования энергии, нарушении электромеханического сопряжения. Ранним проявлениям нарушения клеточного метаболизма в некоторых случаях сердечной недостаточности является разобщение процесса электромеханического сопряжения вследствие нарушения гомеостаза  $Ca^{2+}$ , в частности, изменения поглощения и освобождения  $Ca^{2+}$  из саркоплазматического ретикулума [10]. Биохимические изменения, связанные с гипертрофией миокарда, могут также влиять на внутриклеточную концентрацию  $Ca^{+2}$ , что сказывается на изменении свойств мембраны и ионных градиентов. Кроме того, изменение кинетики работы ионных каналов мембраны ведет к увеличению длительности потенциала действия кардиомиоцитов в сердце с перегрузкой желудочков давлением и гипертрофией [49].

### **1.3 ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАРУШЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ СЕРДЦА**

К аритмиям сердца в настоящее время принято относить изменения нормальной частоты, регулярности и источника возбуждения сердца, а также нарушения связи или последовательности между активацией предсердий или желудочков [23, 24, 35, 56].

Причины всех бради- и тахиаритмий можно разделить на три класса: 1) сдвиги нейрогенной, эндокринной (гуморальной) регуляции, изменяющие течение электрических процессов в специализированных или сократительных миокардиаль-

ных клетках; 2) болезни миокарда, его аномалии, врожденные и наследственные дефекты с повреждением электрогенных мембран или с разрушением клеточных структур; 3) сочетанные регуляторные и органические заболевания сердца [23]. Однако какими бы ни были пути патологических воздействий на сердце, конечный результат – нарушение базовых биоэлектрических процессов, происходящих на мембранах специализированных клеток [16,101,175].

### **1.3.1 Физиологический автоматизм синатриального узла и латентных центров возбуждения**

С электрофизических позиций, интервал между сокращениями сердца равен отрезку времени, в течение которого мембранный потенциал покоя в автоматических клетках СА узла смещается до уровня порогового потенциала возбуждения. На этот интервал оказывают влияние три механизма. Первый из них – *скорость диастолической деполяризации*. Второй механизм – *изменение мембранного потенциала покоя* клеток СА узла. При увеличении этого потенциала (гиперполяризации мембраны) расходуется больше времени до момента достижения порогового возбуждения. Третий – *изменение порогового потенциала возбуждения*. Его смещение по направлению к нулю удлиняет путь диастолической деполяризации, что приводит к урежению синусового ритма. Возможны однонаправленные и разнонаправленные эффекты этих трех механизмов [23,24,136].

Преобладание СА узла над остальными водителями ритма обеспечивается следующими факторами: 1) *наиболее высокий уровень автоматизма*, присущий клеткам СА узла, что приво-

дит к опережающей разрядке латентных пейсмекеров синусовыми импульсами; 2) *сверхчастое подавление* скрытых водителей ритма, т.е. временное угнетение их спонтанной активности после частой разрядки; 3) *электротоническое взаимодействие* между сократительными и автоматическими клетками. Ослабление любого из этих факторов создает предпосылки для синусовой тахикардии, брадикардии, активации латентных центров автоматизма и появления выскальзывающих комплексов и ритмов [23,24].

### **1.3.2 Патологические механизмы образования импульса**

В настоящее время известны четыре типа патологической электрической активности, ведущих к формированию эктопических очагов возбуждения и тахикардий: аномальный автоматизм, ранние и задержанные постдеполяризации, асинхронная реполяризация [23,24].

*Аномальный автоматизм* начинается в клетках Пуркинье при их частичной достаточно устойчивой деполяризации (снижении максимального диастолического потенциала), в результате чего "быстрые" клетки переходят в "медленные". Частота их автоматической активности выше физиологической. Аномальный автоматизм может быть причиной парасистолии, некоторых форм очаговых предсердных тахикардий, а также одной из разновидностей желудочковой тахикардии в остром периоде инфаркта миокарда [23,24].

*Постдеполяризации* – это вторичные подпороговые деполяризации мембраны (осцилляции мембранного потенциала), которые могут появляться: 1) во время 2 и 3 фаз реполяризации ПД – ранние постдеполяризации; 2) непосредственно

после окончания ПД, в фазе 4 – задержанные, или замедленные, постдеполяризации [82,83].

Для образования *ранних постдеполяризаций* необходимы замедление или остановка реполяризации ПД и урежение частоты основного ритма. Ионные механизмы, лежащие в основе этого явления, связаны с усилением входящего  $Ca^{+}$ -тока [107]. В клинике ранние постдеполяризации являются причиной таких нарушений сердечного ритма, как двунаправленная веретенообразная желудочковая тахикардия (“пируэт”); желудочковая тахикардия, возникающая при реперфузии миокарда после его ишемии; парасистолические тахикадии и другие аритмии [23,24].

*Задержанные постдеполяризации* образуются при условии гиперполяризации мембраны и учащении сердечного ритма. То и другое способствует повышению концентрации в клетках ионов  $Ca^{+}$ , регулирующего входящий ток ионов  $Na^{+}$  [93]. Задержанные постдеполяризации лежат в основе преждевременных предсердных и желудочковых комплексов, идиопатических тахикардий, ускоренных ритмов [23,24].

*Асинхронная реполяризация* является следствием замедления процесса реполяризации в клетках СА узла. Поскольку в предсердных волокнах скорость реполяризации не меняется, возникает разность потенциалов между мембраной специализированных синусовых клеток, еще не завершивших реполяризацию и мембраной сократительных предсердных клеток, уже восстановивших возбудимость [24].

Кроме нарушений сердечного ритма, связанных с аномальным автоматизмом клеток миокардиальной ткани, существуют аритмии, обусловленные *изменениями в проводящей системе сердца* [23]. Одним из механизмов нарушения ритмиче-

ской деятельности сердца в результате локальных изменений проводимости сердечного волокна является повторный вход импульса и его круговое движение – *reentry* [23,24,141,174]. Для формирования *reentry* необходимы определенные условия: 1) наличие устойчивой замкнутой петли, длина которой зависит от периметра анатомического или функционального невозбудимого препятствия, вокруг которого движется импульс; 2) однонаправленная блокада проведения в одном из сегментов петли [143]; 3) длина движущейся волны возбуждения должна быть короче длины петли, благодаря чему перед фронтом распространяющегося по кругу импульса всегда имеется участок ткани, вышедший из состояния рефрактерности и восстановивший свою возбудимость [56]. Механизм *reentry* лежит в основе трепетания предсердий и некоторых форм реципрокной тахикардии [23].

Повышенная активность саркоплазматического ретикулума в кардиомиоцитах, по мнению ряда авторов [8,87,101,156], может являться генератором нарушений сердечного ритма [23]. Особое значение придается осцилляторному высвобождению ионов  $\text{Ca}^{+2}$  из СПР кардиомиоцитов в возникновении желудочковых аритмий во время острой ишемии или реперфузии миокарда. На фоне избытка внутриклеточного  $\text{Ca}^{+2}$  этот процесс активизирует входящий деполяризующий ток ионов натрия с флуктуацией мембранного потенциала и образование постпотенциалов [23, 138].

### **1.3.3 Ремоделирование миокарда, вызванное продолжительными эпизодами нарушения сердечного ритма**

Продолжительные эпизоды нарушения сердечного ритма могут привести к развитию так называемого "электрического ремоделирования", выражающегося в устойчивом укорочении рефрактерных периодов миокарда [172], возрастании дисперсии рефрактерности разных участков миокарда [144] и увеличении дезорганизации процессов распространения возбуждения по отделам сердца [48].

Укорочение рефрактерных периодов кардиомиоцитов является не единственной причиной трансформации первоначально пароксизмальной формы мерцательной аритмии в постоянную форму. Чрезмерная нагрузка на кардиомиоциты во время эпизодов их фибрилляции через активацию нейрогуморальных механизмов и экспрессию генов может запускать механизм "структурного ремоделирования", приводящий к дилатации, гипертрофии, дезорганизации миофибрилл и фиброзированию миокарда, что также может поддерживать существование мерцательной аритмии [48].

Согласно литературным данным, молекулярные механизмы накопления  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке определяются наличием мембранных дефектов, структурными вариациями липидных компонентов мембран, интенсивностью процессов их окисления, что ведет к снижению активности ионтранспортирующих ферментов. Ингибирование  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^+$  и  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаз при нарушении сердечного ритма обуславливает нарушение последовательности процессов транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Na}^+$  в клетке, возможное их накопление с последующим нарушением электрохимических потенциалов мембран кардиомиоцитов [5, 6].



#### **1.4 ВОЗМОЖНОСТИ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА**

За последние десять лет, в результате многоцентровых проспективных исследований CAST и CAST II, SWORD, CASCADE и др., произошел коренной пересмотр принципов противоритмических мероприятий [21,55]. При этом основной акцент делается не столько на противозэктопической активности антиаритмических препаратов, сколько на их способности оказывать комплексное влияние на факторы электрической нестабильности миокарда и продолжительность жизни пациента [21,39].

В последние годы все большее внимание кардиологов уделяется разработке и изучению антиаритмических препаратов III класса по классификации E. Vaughan-Williams [96, 161,162], основным электрофизиологическим эффектом которых является способность замедлять выходящие калиевые токи и таким образом увеличивать продолжительность ПД клеток миокарда и специализированной проводящей системы сердца за счет избирательного удлинения фаз 2 и 3 реполяризации [7,26,39,42,48,51]. Наряду с высокой эффективностью в лечении угрожающих жизни аритмий, препараты III класса демонстрируют возможность снижения смертности от желудочковых нарушений ритма и положительное влияние на выживаемость больных, перенесших инфаркт миокарда [42, 55,76,110,170].

Антиаритмические препараты III класса условно подразделяют на две подгруппы: 1) "прототипы" III класса (амиодарон, бретилий, соталол); 2) "чистые" препараты III класса (нибентан, дофетидил, ибутилид). Последние лишены

других электрофизиологических влияний, помимо увеличения продолжительности ПД [23, 80, 103, 111, 153].

Амиодарон в настоящее время применяют в 1/4 всех назначений противоаритмических средств в мире (в Европе его назначают в 34,5% случаев, в Северной Америке – 32,0%, в Латинской Америке в 73,8%) [4].

Кроме своего основного ингибирующего действия на выходящий  $K^+$ -ток, амиодарон способен вызывать блокирование натриевых и медленных кальциевых каналов клеточных мембран [15, 23, 116, 117]. Препарат обладает рядом влияний, также имеющих противоаритмическую направленность, в частности, изменяет уровень симпатической нервной регуляции, тормозит активность альфа- и бета-адренорецепторов без их блокады, уменьшает воздействие глюкагона и адреналина на аденилатциклазную систему, ослабляет хроно-инотопные воздействия глюкагона на сердце, а кроме того, расширяет коронарные артерии, усиливая в них кровоток; одновременно понижаются работа сердца и поглощение миокардом кислорода [23, 39].

Предполагается, что механизмы острого и хронического противоаритмических эффектов амиодарона не идентичны. Блокада  $Na^+$  и  $Ca^{2+}$  мембранных каналов и противоадренергические влияния препарата лежат в основе ранних противоаритмических эффектов амиодарона (в основном подавление желудочковых экстрасистол в первые две недели лечения), в то время как поздние эффекты (предотвращение желудочковых тахикардий после 10 недель лечения) зависят преимущественно от действия его более активного метаболита, деэтилиамидарона [133].

Следует также заметить, что в основе некоторых фармакологических эффектов амиодарона лежит антитиреоидный механизм действия. Препарат может тормозить синтез тироксина в щитовидной железе и его превращение в более активный трийодтиронин [39,116,117].

*Нибентан* – первый отечественный антиаритмический препарат III класса синтезирован в научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте (г. Москва) [42].

Экспериментальные исследования показали, что нибентан при внутривенном введении в дозе 0,25–0,5 мг/кг вызывал выраженное увеличение продолжительности ПД волокон миокарда предсердий и желудочков, не влияя на сократительную функцию сердца, артериальное давление, процессы проведения возбуждения в предсердиях и желудочках [42].

Электрофизиологическое изучение нибентана выявило способность препарата дозозависимо угнетать  $K^+$ -ток замедленного выпрямления [7]. На трабекулах лягушки показано изменение продолжительности фазы реполяризации от 21 до 47% при возрастании концентрации нибентана от 0,1 до 5 мкМ [40]. В тоже время, на миокарде морских свинок нибентан в концентрации 0,1 мкМ вызывал увеличение продолжительности ПД на 30% [40].

Проведенные в последнее время эксперименты в условиях *in vivo* и *in vitro* установили наличие отрицательного хронотропного эффекта нибентана [51]. Имеются также сообщения о механизме подавления нибентаном активируемого ацетилхолином  $K^+$ -тока через блокаду  $M_2$ -холинорецепторов [50].

С 1991 года ведутся клинические испытания нибентана, в ходе которых препарат проявляет высокую антиаритмиче-

скую активность у больных, страдающих различными видами тахикардий [25,26,27,41,42].

Практически всем противоаритмическим средствам в разной степени свойственны *аритмогенные эффекты* [23]. По данным ряда авторов, блокада калиевых каналов, а также усиление входящего  $\text{Ca}^{+2}$ -тока в фазу 2 ПД могут способствовать появлению ранней постполяризации [72,180]. Амплитуда ранней постполяризации возрастает при брадикардии, что и свойственно "чистым" препаратам III класса [25,34]. Вызываемое этими препаратами увеличение времени реполяризации является причиной аритмогенных эффектов, в частности, возникновения двунаправленной веретенообразной (полиморфной) желудочковой тахикардии ("пируэт") [23]. В исследованиях Меркуловой (1997) нибентан, введенный внутривенно, способствовал учащению уже имевшихся желудочковых аритмий и появлению новых у 18% больных [34]. Проаритмогенные эффекты амиодарона проявлялись в 3-5% случаев [180], в их числе двунаправленная веретенообразная желудочковая тахикардия - 1% [109].

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Особый интерес кардиологов к проблеме лечения заболеваний, связанных с нарушением ритма сердца обусловлен, прежде всего, ведущей ролью этих заболеваний в развитии внезапной сердечной смерти [14,75,163]. Известно, что до половины пациентов с клинически выраженной сердечной недостаточностью умирают внезапно из-за развивающейся желудочковой тахикардии и фибрилляции желудочков [3,139]. В связи с этим, поиск новых путей снижения летальности, вы-

ываемой нарушениями ритма сердца, является актуальной задачей современной кардиологии [22,38].

В тоже время, адаптивные процессы, протекающие в кардиомиоцитах на субклеточном уровне при патологических состояниях сердечной мышцы, могут вести к изменению функционального состояния СПР КМ [85,97,135]. С одной стороны, гипертрофия миокарда и сердечная недостаточность вызывают повреждение мембраны саркоплазматического ретикулума [95,121,145], а с другой, дисфункция СПР кардиомиоцитов может являться одной из причин нарушения сократимости миокарда [130].

Возникающие в результате ишемии и реперфузии миокарда повреждения клеточной мембраны способствуют увеличению концентрации ионов кальция в кардиомиоците [5,6,10,49]. В результате токсических действий  $Ca^{2+}$  на внутриклеточном уровне, резко снижается устойчивость мембраны СПР кардиомиоцитов к эндогенным повреждающим факторам [45]. Спонтанный выброс  $Ca^{2+}$  из везикул СПР КМ вследствие нарушения его функции, способствует усилению триггерной активности кардиомиоцитов и может служить причиной нарушений ритма сердца [87,101]. Таким образом, функциональное состояние СПР кардиомиоцитов является важным фактором, влияющим на возникновение и течение патологии миокарда.

Следует также заметить, что изменения, происходящие в миокарде на микроуровне при различных формах сердечной патологии, оказывают существенное влияние на эффект фармакологических препаратов, применяемых с целью коррекции нарушений ритма [23]. Существование влияния антиаритмических III класса на функцию саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов в условиях истощения адаптивных возмож-

ностей СПР кардиомиоцитов могло бы объяснить парадоксальный эффект действия препаратов этой группы и служить причиной явлений аритмогенного характера.

Из вышесказанного можно заключить, что исследование влияния амиодарона и нибентана на функциональное состояние СПР кардиомиоцитов здорового и патологически измененного миокарда является важной задачей для понимания механизмов действия антиаритмических препаратов III класса, широко используемых в лечении сердечной патологии, сопровождающейся нарушениями ритма.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования использовали изолированные перфузируемые мышечные препараты миокарда крыс (предсердия и папиллярные мышцы левого желудочка) и человека (трабекулы ушка правого предсердия). В таб. 1 приводится распределение мышечных препаратов по сериям экспериментов.

**Таблица 1.** Распределение мышечных препаратов по сериям экспериментов.

<b>СЕРИИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ</b>	<b>Количество мышечных препаратов</b>
1. Влияние амиодарона на проявление связи интервал-сила папиллярной мышцы крысы	9
2. Влияние нибентана (25 мкМ/л) на проявление связи интервал-сила папиллярной мышцы крысы	12
3. Влияние амиодарона на проявление эффекта постэкстрасистолической потенциации папиллярной мышцы крысы	12
4. Влияние амиодарона на проявление эффекта постэкстрасистолической потенциации папиллярной мышцы крысы (частота стимуляции 0,1 Гц)	12

5. Влияние амиодарона на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы (частота стимуляции 1,0 Гц)	13
6. Влияние нибентана (2,5 мкМ/л) на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы	28
7. Влияние нибентана (25 мкМ/л) на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы	28
8. Влияние кофеина на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы	16
9. Влияние амиодарона на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы на фоне действия кофеина	16
10. Влияние тетраэтиламмония хлорида на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы	10
11. Влияние нибентана (2,5 мкМ/л) на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции миокарда предсердия крысы	12
12. Влияние нибентана (25 мкМ/л) на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции миокарда предсердия крысы	9
13. Влияние кофеина на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции миокарда предсердия крысы	12
14. Влияние амиодарона на проявление эффекта постэкстрасистолической потенции миокарда	12



предсердия крысы на фоне действия кофеина	
15. Влияние амиодарона на проявление эффекта постэкстрасистолической потенциации миокарда предсердия человека	14
16. Влияние амиодарона на кривую механической релаксации папиллярной мышцы крысы	12
17. Влияние амиодарона на кривую механической релаксации папиллярной мышцы крысы (частота регулярных стимулов 1,0 Гц)	14
18. Влияние нибентана (2,5 мкМ/л) на кривую механической релаксации папиллярной мышцы крысы (частота стимуляции 1,0 Гц)	6
19. Влияние нибентана (25 мкМ/л) на кривую механической релаксации папиллярной мышцы крысы (частота стимуляции 1,0 Гц)	6
20. Влияние кофеина на кривую механической релаксации папиллярной мышцы крысы	16
21. Влияние амиодарона на кривую механической релаксации папиллярной мышцы крысы на фоне действия кофеина	16
22. Влияние кофеина на кривую механической релаксации миокарда предсердия крысы	10
23. Влияние амиодарона на кривую механической релаксации миокарда предсердия крысы на фоне действия кофеина	9
24. Влияние амиодарона на кривую механической релаксации миокарда предсердия человека	14

## 2.2 ПРИГОТОВЛЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ МЫШЕЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В работе использовали крыс-самцов линии Вистар массой 200-250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). При проведении экспериментов руководствовались рекомендациями, изложенными в Приказе N 755 МЗ СССР от 12 августа 1977 г.

Папиллярные мышцы и предсердия выделяли у крыс, находящихся под легким эфирным наркозом. Животных обездвигивали смещением шейного отдела позвоночника, вскрывали грудную клетку и выделяли сердце. Выделенное сердце помещали в охлажденный физиологический раствор Кребса-Хейзелайта следующего состава (в мМ): NaCl - 120; KCl - 4,8; CaCl<sub>2</sub> - 2,0; MgSO<sub>4</sub> - 1,2; KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 1,2; NaHCO<sub>3</sub> - 20,0; глюкоза - 10,0 (все используемые реагенты имели химическую чистоту ХЧ или ЧДА).

Вскрывали полость левого желудочка и отпрепарировали папиллярную мышцу. Для фиксации мышечного препарата использовали тонкие капроновые петли, закрепленные на его обоих концах. Подготовленную мышцу помещали в термостабилизированную проточную камеру, объемом 1 мл. Один конец мышечного препарата фиксировали неподвижно к стенке камеры, а второй - закрепляли на штоке изометрического датчика, в качестве которого использовали механотрон 6МХ1С. Растяжение мышцы осуществляли с помощью микроманипулятора, жестко связанного с изометрическим датчиком. Мышцы сокращались под воздействием электрических импульсов пря-

моугольной формы длительностью 5 мс, подаваемых на два массивных серебряных электрода, размещенных в перфузионной камере. Величина импульсов превышала величину порогового возбуждения мышцы на 20–30%. Базовая частота стимулирующих импульсов составляла 0,5 Гц.

Для регистрации изометрического сокращения использовали АЦП и персональный компьютер класса Pentium со специально разработанным программным обеспечением. В эксперименте использовали папиллярные мышцы, имеющие длину 4–5 мм и поперечное сечение не более 1 мм, способные развивать к концу 60-й минуты адаптационного периода усилие не менее 1/2 калибровочного сигнала, равного 1В.

Перфузию мышечных препаратов осуществляли при температуре  $36 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  физиологическим раствором Кребса-Хейзелайта. Для оксигенации раствора использовали газовую смесь – карбоген ( $\text{O}_2$  – 95%,  $\text{CO}_2$  – 5%).

После адаптации мышц к режиму перфузии, их натягивали до достижения наибольшего сократительного ответа. При установлении стабильных значений силы сокращения мышц, проводили контрольную регистрацию их сократительной активности и исходной реакции на тестовые изменения режима электрической стимуляции.

Биологически активные вещества (БАВ), используемые в работе, поступали к мышечным препаратам, расположенным в перфузионной камере, вместе с физиологическим раствором. Для этого осуществляли мгновенное переключение с канала поступления “чистого” раствора на канал с раствором, содержащим БАВ. Контакт перфузируемых мышц с новым раствором наступал после замещения 2 мл прежнего раствора, ос-

тающегося в самой камере и канале, связывающим камеру с узлом переключения перфузируемых растворов.

Препараты предсердия миокарда крысы представляли собой отпрепарированные ушки правого или левого предсердий крысы, не обладающие спонтанной сократительной активностью.

Вторую часть работы выполняли на трабекулах, выделенных из ушка правого предсердия больных с диагнозом хроническая коронарная недостаточность, стенокардия напряжения III-IV класса по NYHA с мультисосудистым поражением коронарных артерий. Средний возраст пациентов составлял  $50,6 \pm 2,4$  лет. Больным выполнялась операция аортокоронарного шунтирования с использованием аппарата искусственного кровообращения (удаление фрагмента ушка правого предсердия является обязательным этапом для подключения аппарата искусственного кровообращения). Все пациенты были обследованы и прооперированы в отделе сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии, руководимом профессором В.М. Шипулиным. Требования к препаровке трабекул, критерии включения их в эксперимент и условия проведения эксперимента с использованием мышечных трабекул сердца человека были те же, что описаны ранее для мышечных препаратов сердца крысы.

#### **Используемые биологически активные вещества**

**Кофеин** - 1,3,7-Триметилксантин,  $C_8H_{10}N_4O_2 \cdot H_2O$  м.в. 194,2, фирмы "Sigma" (США) в концентрации 2,6 мМ/л.

**Амиодарон** - [2-Бутил-3-бензофуранил] - [4-(2-диэтиламиноэтокси)-3,5-дидофенил] - кетона гидрохлорид,

$C_{22}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$  м.в. 681,8 – фирмы "Sanofi Phama" (Франция) в концентрации 1 мкМ/л.

**Нибентан** – N-(4-нитробензоил)-N',N'-диэтил-1-фенил-1,5-пентадиамина гидрохлорид,  $C_{22}H_{29}N_3O_3 \cdot HCl$  м.в. 383,0 – в концентрациях 2,5 и 25 мкМ/л, изготовленный на базе экспериментального производства медико-биологических препаратов, Российского кардиологического научно-производственного комплекса (г. Москва).

**Тетраэтиламмония хлорид** –  $(C_4H_9)_4 N(Cl)$  м.в. 165,7, производства ICN в концентрации 6 мкМ/л.

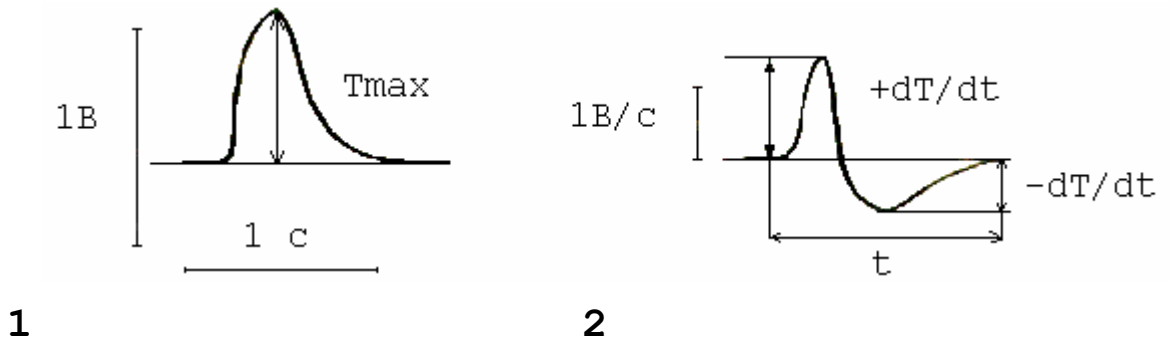
### 2.3 ОЦЕНКА СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЫШЕЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Сократительную функцию мышечных препаратов оценивали в изометрическом режиме по изменениям кривой развиваемого мышцей напряжения. Определяли следующие показатели: максимально развиваемое напряжение –  $T_{max}$ ; максимальную скорость повышения напряжения –  $+dT/dt$ ; максимальную скорость понижения напряжения –  $-dT/dt$ , время цикла повышения и понижения напряжения (сокращение-расслабление) –  $t$  (Рис. 1).

### 2.4 Моделирование ритмоинотропных эффектов на перфузируемых мышечных препаратах сердца

**Стационарная связь интервал-сила (СИС)**. После достижения стабильного сократительного ответа мышечного препарата при базовой частоте электрической стимуляции 0,5 Гц, частоту стимулирующих сигналов дискретно переключали на 0,7; 1; 2; 3 и 4 Гц. Воздействие каждой из используемых

частот составляло 1 минуту. За это время происходила стабилизация сократительного ответа мышц на новом частотном режиме. Стационарную связь интервал-сила определяли как зависимость между частотой стимулирующего сигнала и соответствующей амплитудой регулярных сокращений [29,37,47].



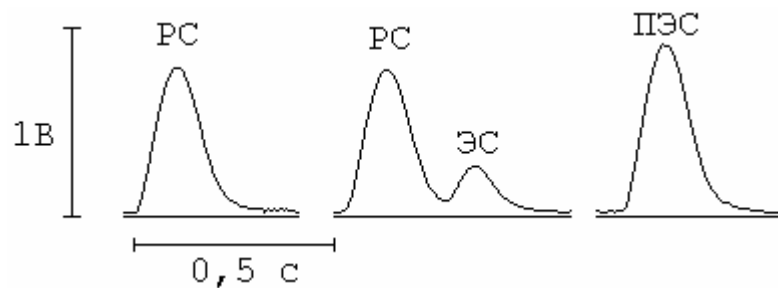
**Рис. 1.** Схема измерения параметров одиночного цикла сокращение-расслабление изолированного мышечного препарата сердца.

1 - кривая развиваемого напряжения; 2 - кривая первой производной.

**Внеочередное (экстрасистолическое) воздействие.** Одиночный внеочередной электрический импульс (экстрасистолическое воздействие) наносили на фоне базовой стимуляции. Он имел те же характеристики, что и импульсы базовой стимуляции. Типичный вид регистрируемого инотропного ответа папиллярной мышцы крысы в ответ на внеочередное воздействие представлен на рис. 2.

*Экстрасистолический (ЭС) интервал* определяли как время от начала регулярного импульса до начала внеочередного импульса [29,47]. Изменяя ЭС интервал в диапазоне от 200 мс до 1500 мс, строили зависимость амплитуды внеочередного сокращения от ЭС интервала. Из полученной зависи-

мости интервал-сила с помощью программы STATISTICA 5.0 вычисляли  $t_1(T_{50})$  – ЭС интервал, соответствующий внеочередному сокращению с амплитудой, равной половине амплитуды регулярного сокращения. Определение  $t_1(T_{50})$  использовали для оценки времени реактивации  $Ca^{2+}$ -каналов [81,146,171,178] и транспорта ионов кальция внутри СПР КМ от мест захвата к местам выброса [58,89,134,176,178,179].



**Рис. 2.** Типичный вид регистрируемых кривых изометрического сокращения папиллярной мышцы крысы.

По оси абсцисс – время, по оси ординат – амплитуда сокращения. РС – регулярное сокращение, ЭС – экстрасистолическое сокращение, ПЭС – постэкстрасистолическое сокращение.

**Постэкстрасистолическая (ПЭС) потенция.** Постэкстрасистолическую потенцию определяли как превышение постэкстрасистолического сокращения над регулярным сокращением [29,126,159,179].

**Потенция покоем (POST-REST). Кривые механической релаксации.** После стабилизации сократительной функции мышечного препарата при базовой частоте стимуляции, генератор электрических импульсов выключали на фиксированное время от 2 до 60 секунд с последующим возобновлением базовой частоты стимуляции. Кривую механической релаксации

получали как зависимость между длительностью интервала покоя и амплитудой первого после периода покоя сокращения [99,145,178].

Из полученной реституционной кривой с помощью программы STATISTICA 5.0 вычисляли значение  $t_2(T_{50})$ , представляющее собой интервал покоя, соответствующий сокращению прирост амплитуды которого составляет 50% от максимального прироста амплитуды, получаемого на интервале покоя 60 с. Коэффициент  $t_2(T_{50})$  использовали для оценки скорости захвата  $Ca^{2+}$  СПР кардиомиоцитов [99].

Расчет *рециркулирующей фракции* внутриклеточного  $Ca^{2+}$  производили, используя коэффициент спада силы сокращений, после периода покоя равного 60 с. Для этого по оси ординат откладывали величину амплитуды  $n^{-10}$  сокращения, а по оси абсцисс величину амплитуды  $n+1^{-10}$  сокращения. Угол наклона полученной таким образом линейной регрессии представлял собой коэффициент спада силы сокращений [146, 178].

## 2.5 СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА

Данные обрабатывали на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 5.0. Достоверность различий в выборках оценивали, используя непараметрические методы (критерий Вилкоксона для попарно связанных выборок и Манна-Уитни для попарно несвязанных выборок). Все полученные данные выражены в процентном отношении к соответствующим величинам регулярного сокращения.



## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ

### 3.1 ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПАРАМЕТРЫ ЦИКЛА СОКРАЩЕНИЕ-РАССЛАБЛЕНИЕ МИОКАРДА

Изменение параметров цикла сокращение-расслабление папиллярной мышцы крысы под влиянием биологически активных веществ, используемых в нашем исследовании, отражены в таблице 2. Видно, что 15-и минутная обработка папиллярной мышцы крысы перфузионным раствором, содержащим амиодарон в концентрации 1 мкМ/л, сопровождалась снижением амплитуды ( $T_{max}$ ) одиночного цикла сокращение-расслабление и его скоростных характеристик ( $+dT/dt$  и  $-dT/dt$ ) до  $90,8 \pm 3,08\%$ ,  $98,0 \pm 3,12\%$  и  $87,1 \pm 3,55\%$  (соответственно).

Влияние другого антиаритмического препарата - нибентана - в концентрации 2,5 мкМ/л на папиллярную мышцу крысы не вызывало существенных изменений параметров цикла сокращение-расслабление (таб. 2). В тоже время, нибентан в концентрации 25 мкМ/л оказывал слабый отрицательный инотропный эффект, уменьшая амплитуду сокращения, максимальную скорость повышения напряжения и максимальную скорость понижения напряжения. Следует заметить, что амиодарон и нибентан не вызывали достоверных изменений времени цикла сокращение-расслабление (таб. 2).

Присутствие кофеина (0,5 г/л) в перфузионном растворе в экспериментах на папиллярных мышцах крысы почти на четверть уменьшало все параметры стационарного сокращения (таб. 2). Исключение составил такой показатель, как продолжительность цикла сокращение-расслабление, для которого было характерно увеличение значений после обработки

кофеином. Увеличение времени цикла происходило за счет удлинения периода релаксации мышцы. Добавление амиодарона в перфузионный раствор на фоне развившегося эффекта кофеина сопровождалось дальнейшим уменьшением параметров цикла сокращение-расслабление (таб. 2).

**Таблица 2.** Влияние биологически активных веществ на параметры цикла сокращение-расслабление папиллярной мышцы крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Параметры цикла сокращение-расслабление			
		Tmax	+dT/dt	-dT/dt	t
Нибентан 2,5 мкМ/л	9	100,9±3,8 p=0,515	98,3±4,8 p=0,110	96,3±6,5 p=0,110	99,8±2,3 p=0,441
Нибентан 25 мкМ/л	7	90,8±3,1 p2=0,028	89,0±3,1 p2=0,028	87,1±3,6 p2=0,028	100,7±3,0 p2=0,753
<b>Амиодарон</b>	8	90,8±3,3 p=0,012	91,9±3,8 p=0,124	88,8±3,9 p=0,036	101,6±2,3 p=0,529
Кофеин	16	75,4±4,4 p=0,000	74,8±4,9 p=0,000	74,4±5,4 p=0,000	114,1±7,0 p=0,000
Амиодарон на фоне кофеина	16	89,7±4,4 p1=0,001	97,1±6,5 p1=0,001	95,1±7,3 p1=0,001	95,7±4,9 p1=0,001
Тетраэтиламмония хлорид	10	132,2±11,7 p=0,046	125,1±13,9 p=0,173	118,9±11,7 p=0,173	113,0±3,8 p=0,028

**Примечание.** Tmax – максимально развиваемое напряжение, +dT/dt – максимальная скорость повышения напряжения, -dT/dt – максимальная скорость понижения напряжения, t – время цикла сокращение-расслабление. Все величины приведены в процентном отношении к соответствующим значениям регулярного сокращения. p – уровень различия между контролем и опытом, p1 – между опытами с кофеином и амиодароном на фоне эффекта кофеина, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

Добавление тетраэтиламмония хлорида в концентрации 1 мг/мл в перфузионный раствор вызывало существенный рост амплитуды сокращения регулярного цикла и увеличение времени цикла сокращение-расслабление (таб. 2).

В опытах на предсердном миокарде крысы (таб. 3), как и в опытах на папиллярных мышцах крысы, кофеин достоверно уменьшал амплитуду регулярных сокращений, увеличивал время цикла и скорость понижения напряжения (таб. 3). Добавление амиодарона на фоне развившегося эффекта кофеина не оказало существенного воздействия на параметры цикла сокращение-расслабление (таб. 3).

**Таблица 3.** Влияние биологически активных веществ на параметры цикла сокращение-расслабление миокарда предсердия крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Параметры цикла сокращение-расслабление			
		Tmax	+dT/dt	-dT/dt	t
Кофеин	16	78,7±4,4 p=0,010	82,2±5,9 p=0,814	82,5±5,5 p=0,008	105,2±5,7 p=0,010
Амиодарон на фоне кофеина	16	94,6±3,0 p1=0,182	94,3±3,6 p1=0,308	85,9±4,4 p1=0,0414	112,8±4,0 p1=0,091
Нибентан 2,5 мкМ/л	10	105,7±6,2 p=0,445	103,0±5,4 p=0,575	100,1±5,7 p=0,799	<b>104,8±3,5</b> p=0,241
Нибентан 25 мкМ/л	9	93,8±4,4 p2=0,173	92,6±4,2 p2=0,051	93,8±5,0 p2=0,214	98,9±1,6 p2=0,675

**Примечание.** Обозначения те же, что и в таб. 2. Все величины приведены в процентном отношении к соответствующим значениям регулярного сокращения. p – уровень различия между контролем и опытом, p1 – между опытами с кофеином и амиодароном на фоне эффекта кофеина, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

Как и в случае с папиллярными мышцами крысы, нибентан в малой дозе не влиял на параметры регулярных сокращений предсердного миокарда крысы. Концентрация 25 мкМ/л нибентана вызвала слабый отрицательный инотропный ответ, который, однако, не имел достоверных различий с контролем (таб. 3).

Исследования, проводимые на патологическом миокарде предсердия человека (таб. 4), также выявили незначительное изменение параметров цикла сокращение-расслабление на фоне действия нибентана в концентрации 25 мкМ/л.

**Таблица 4.** Влияние биологически активных веществ на параметры цикла сокращение-расслабление патологического миокарда предсердия человека ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Параметры цикла сокращение-расслабление			
		TMAX	+dT/dt	-dT/dt	T
Нибентан 2,5 мкМ/л	8	102,4±1,5 p=0,161	99,4±3,8 p=0,779	104,7±2,7 p=0,208	101,4±2,0 p=0,575
Нибентан 25 мкМ/л	6	92,2±0,8 p2=0,028	89,9±0,8 p2=0,028	96,2±2,3 p2=0,249	95,4±1,7 p2=0,080
<b>Амиодарон</b>	29	81,8±4,5 p=0,008	75,6±5,2 p=0,000	77,4±3,9 p=0,000	96,4±1,9 p=0,062

**Примечание.** Обозначения те же, что и в таб. 2. Все величины приведены в процентном отношении к соответствующим значениям регулярного сокращения. p – уровень различия между контролем и опытом, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

Эффект влияния антиаритмического препарата амиодарона на параметры цикла сокращение-расслабление предсердного

миокарда больных ИБС оказался более выраженным (таб.4), чем в опытах на миокарде животных (таб. 2). Кроме того, в 33,3% случаев изолированный миокард больных ИБС обладал аномальной сократительной активностью, проявляющейся в виде спонтанных сокращений при отсутствии внешней электрической стимуляции. Добавление амиодарона в перфузионный раствор полностью подавляло аномальную активность мышечных препаратов предсердия человека.

### **3.2 ВЛИЯНИЕ АМИОДАРОНА И НИБЕНТАНА НА СТАЦИОНАРНУЮ СВЯЗЬ ИНТЕРВАЛ-СИЛА**

Влияние частоты стимулирующих импульсов на параметры цикла сокращение-расслабление папиллярной мышцы крысы исследовали, ступенчато изменяя частоту стимуляции в диапазоне от 0,5 Гц до 4 Гц. Укорочение интервала между стимулирующими импульсами сопровождалось уменьшением амплитуды сокращений папиллярной мышцы крысы, т.е. имела место негативная амплитудно-частотная характеристика (таб. 5). Кроме того, изменялись максимальная скорость повышения напряжения и максимальная скорость понижения напряжения. Время цикла сокращение-расслабление линейно уменьшалось с ростом частоты стимуляции (таб. 5).

Добавление амиодарона в перфузионный раствор существенно изменяло выраженность амплитудно-частотной характеристики папиллярной мышцы крысы (таб. 5). На высоких частотах стимуляции обнаружено увеличение максимальной скорости повышения напряжения и максимальной скорости понижения напряжения на фоне действия амиодарона относительно контроля (таб. 5).

Присутствие в перфузионном растворе нибентана в концентрации 25 мкМ/л также влияло на характер изменений параметров стационарных сокращений при увеличении частоты стимуляции (таб. 5). Однако наблюдаемые изменения при использовании нибентана не являлись достоверными.

**Таблица 5.** Влияние амиодарона и нибентана на стационарную связь интервал-сила папиллярной мышцы крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Параметры цикла	Частота стимулирующих импульсов, Гц				
			0,7	1	2	3	4
Контроль	18	Tmax	85,0±1,4	77,1±1,8	69,6±2,3	69,9±2,4	65,1±2,3
		+dT/dt	90,4±2,6	81,6±2,7	82,4±4,2	90,5±4,3	86,5±3,0
		-dT/dt	88,7±2,1	77,4±2,7	74,7±3,6	83,7±3,7	77,3±3,0
		t	95,6±2,7	94,1±2,5	89,7±3,0	79,8±2,1	76,1±2,3
Амиодарон 1 мкМ/л	9	Tmax	88,8±1,5 p=0,181	84,4±2,3 p=0,072	85,9±2,4 p=0,004	83,2±2,9 p=0,040	76,8±3,2 p=0,028
		+dT/dt	90,4±1,5 p=0,706	87,7±2,3 p=0,187	108,1±2,4 p=0,004	105,3±2,9 p=0,069	104,0±3,2 p=0,015
		-dT/dt	91,1±1,5 p=0,480	88,5±2,3 p=0,048	92,8±2,4 p=0,021	96,1±2,9 p=0,069	92,4±3,2 p=0,071
		t	100,7±1,5 p=0,334	95,5±2,3 p=0,480	90,4±2,4 p=0,912	86,6±2,9 p=0,065	83,1±3,2 p=0,108
Нибентан 25 мкМ/л	12	Tmax	87,8±1,5 p=0,271	81,3±1,9 p=0,162	77,0±3,4 p=0,065	73,5±2,7 p=0,388	65,5±3,8 p=0,940
		+dT/dt	91,9±3,1 p=0,726	83,0±2,4 p=0,632	91,1±5,9 p=0,131	91,3±5,4 p=0,591	82,1±4,9 p=0,681
		-dT/dt	90,4±3,2 p=0,697	88,9±3,5 p=0,006	89,7±5,9 p=0,017	87,5±6,5 p=0,505	77,7±5,7 p=0,501
		t	93,3±1,6 p=0,586	92,1±2,3 p=0,971	86,0±3,2 p=0,531	80,9±2,3 p=0,685	71,7±2,1 p=0,208

**Примечание.** Обозначения те же, что и в таб. 2. Все величины приведены в процентном отношении к соответствующим значениям регулярного сокращения. p – уровень различия между контролем и опытом.

### 3.3 ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА АМПЛИТУДУ ЭКСТРАСИСТОЛИЧЕСКОГО СОКРАЩЕНИЯ МИОКАРДА

Нанесение на фоне базовой частоты стимуляции дополнительного (экстрасистолического) стимулирующего импульса вызывало появление дополнительного инотропного ответа (так называемое экстрасистолическое сокращение) на кривой сокращение-расслабление папиллярной мышцы крысы. Электрический импульс, наносимый через 0,2 с от начала регулярного стимула, приводил к расширению цикла сокращение-расслабление за счет появления на заднем фронте кривой развиваемого мышцей напряжения дополнительной волны, не имеющей выраженного максимума. При увеличении экстрасистолического интервала (таб. 6) от 0,225 с до 1,5 с амплитуда ЭС сокращения возрастала от  $31,3 \pm 1,90\%$  до  $75,4 \pm 0,95\%$  (соответственно).

Обработка мышечных препаратов вентрикулярного миокарда сердца крысы амиодароном вела к уменьшению амплитуды экстрасистолического сокращения в диапазоне ЭС интервалов от 0,25 с до 1,25 с (достоверные различия,  $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем (таб. 6). Более того, временная константа  $t_1(T_{50})$ , представляющая собой ЭС интервал, соответствующий ЭС сокращению с амплитудой, равной половине амплитуды регулярного сокращения, при использовании амиодарона увеличилась по сравнению с контролем (таб. 7). Так, если в контроле величина  $t_1(T_{50})$  составляла  $0,42 \pm 0,022$  с, то на фоне действия амиодарона значение этого показателя увеличилось до  $0,50 \pm 0,023$  с (достоверные различия,  $p < 0,05$ ).

Влияние нибентана на амплитуду экстрасистолы зависело от используемой дозы этого антиаритмического препарата. Увеличение концентрации нибентана в перфузионном растворе усиливало его негативное воздействие на амплитуду ЭС сокращения (таб. 6). Так, амплитуды ЭС сокращений папиллярной мышцы в опытах с нибентаном при его концентрациях 2,5 мкМ/л и 25 мкМ/л имели достоверные различия ( $p < 0,05$ ) в диапазоне ЭС интервалов от 0,25 с до 1,5 с. Присутствие нибентана увеличивало и значение  $t_1(T_{50})$ : в концентрации 2,5 мкМ/л до  $0,53 \pm 0,028$  с (достоверные различия с контролем,  $p < 0,05$ ), а в концентрации 25 мкМ/л до  $0,60 \pm 0,031$  с ( $p < 0,05$ ).



**Таблица 6.** Влияние биологически активных веществ на амплитуду экстрасистолического сокращения папиллярной мышцы крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время экстрасистолического интервала, сек						
		0,225	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Контроль	57	31,3±1,9	43,8±1,5	60,4±1,1	66,8±1,0	71,8±0,9	74,1±0,9	75,4±1,0
Амиодарон	12	25,6±1,9 p=0,929	36,1±1,6 p=0,041	54,2±0,9 p=0,008	61,6±0,9 p=0,010	67,1±1,0 p=0,016	70,5±1,0 p=0,033	72,6±0,8 p=0,110
Кофеин	16	54,9±7,6 p=0,011	58,9±6,3 p=0,001	72,2±4,5 p=0,003	79,7±3,2 p=0,001	84,0±2,9 p=0,002	85,5±2,4 p=0,005	87,0±2,6 p=0,005
Амиодарон на фоне кофеина	16	52,1±7,6 p=0,028 p1=0,753	60,4±6,8 p=0,001 p1=0,877	70,0±4,7 p=0,027 p1=0,196	79,8±4,7 p=0,069 p1=0,717	84,7±4,4 p=0,054 p1=0,918	88,1±4,6 p=0,02 p1=0,796	87,7±4,8 p=0,100 p1=0,959
Нибентан 2,5 мкМ/л	28	31,0±1,2 p=0,061	35,7±1,7 p=0,037	52,4±1,6 p=0,019	59,6±1,8 p=0,077	64,7±1,7 p=0,028	68,1±1,7 p=0,028	71,4±1,9 p=0,040
Нибентан 25 мкМ/л	28	31,1±1,0 p=0,109 p2=0,334	32,8±1,4 p=0,002 p2=0,030	48,7±1,7 p=0,002 p2=0,003	54,7±1,4 p=0,002 p2=0,026	60,6±1,6 p=0,002 p2=0,026	63,3±1,5 p=0,002 p2=0,015	65,2±1,3 p=0,001 p2=0,004
Тетраэтилам-мония хлорид	10	—	—	49,9±3,4 p=0,594	64,3±3,2 p=0,059	69,5±3,3 p=0,059	72,5±3,1 p=0,097	72,9±3,7 p=0,169

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом, p1 – между опытами с кофеином и амиодароном на фоне развившегося эффекта кофеина, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

**Таблица 7.** Влияние биологически активных веществ на величину параметра  $t_1(T_{50})$  папиллярной мышцы крысы ( $M \pm m$ ).

Контроль	Биологически активные вещества				
	Амиодарон	Кофеин	Амиодарон на фоне кофеина	Нибентан 2,5 мкМ/л	Нибентан 25 мкМ/л
0,42±0,022	0,50±0,023*	0,27±0,045*	0,30±0,058*	0,53±0,028*	0,60±0,031*

**Примечание.**  $t_1(T_{50})$  - экстрасистолический интервал, соответствующий ЭС сокращению с амплитудой, равной половине амплитуды регулярного сокращения. Все амплитуды выражены в процентном отношении к соответствующим амплитудам регулярного цикла. \* -  $p < 0,05$  достоверные различия с контролем.

Влияние кофеина на амплитуду ЭС сокращения папиллярной мышцы крысы имело выраженный потенцирующий эффект (таб. 6). Так, значение амплитуды экстрасистолического сокращения при обработке мышечных препаратов кофеином увеличилось до  $54,9 \pm 7,64\%$  на ЭС интервале 0,225 с (достоверные различия с контролем,  $p < 0,05$ ) и до  $87,0 \pm 2,59\%$  на ЭС интервале 1,5 с ( $p < 0,01$ ). Величина  $t_1(T_{50})$  значительно уменьшалась ( $p < 0,01$ ) в присутствии кофеина ( $0,27 \pm 0,045$ с).

Добавление амиодарона в перфузионный раствор на фоне развившегося эффекта кофеина не имело существенного влияния на амплитуду ЭС сокращения миокарда желудочка сердца крысы (таб. 6). Значение такого показателя как  $t_1(T_{50})$  после обработки мышечных препаратов амиодароном тоже не имело существенных различий ( $0,30 \pm 0,058$  с) со значением, полученным до обработки, но достоверно различалось с контролем ( $p < 0,05$ ).

В экспериментах на папиллярных мышцах крысы, проведенных с использованием тетраэтиламмония хлорида в концентрации 1 мг/мл, мы не выявили достоверных изменений в амплитуде ЭС сокращений (таб. 6).

Исследование влияния частоты регулярных импульсов на амплитуду ЭС сокращения было исследовано на папиллярной мышце крысы при снижении ее базовой частоты стимуляции с 0,5 Гц до 0,1 Гц (таб. 8). При этом, на частоте 0,1 Гц выявлено небольшое снижение амплитуд внеочередных сокращений на соответствующих ЭС интервалах по сравнению с аналогичным воздействием на частоте стимуляции 0,5 Гц (таб. 6). Однако и на частоте 0,1 Гц отрицательное влияние амиодарона на амплитуду ЭС сокращения оставалось достоверно значимым по сравнению с контролем (таб. 8).

**Таблица 8.** Влияние амиодарона на амплитуду экстрасистолического сокращения папиллярной мышцы крысы на частоте стимуляции 0,1 Гц ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время экстрасистолического интервала, сек						
		0,225	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Контроль	57	25,6±1,5	38,6±2,1	57,0±1,2	64,2±1,3	69,2±1,5	71,1±1,1	73,7±1,26
Амиодарон	12	22,7±1,6 p=0,169	34,3±1,3 p=0,062	52,1±0,9 p=0,004	58,9±1,2 p=0,004	64,1±1,5 p=0,021	66,9±1,9 p=0,051	68,9±2,0 p=0,041

Часть исследований, проведенных на папиллярных мышцах крысы (таб. 6), были повторены на мышечных препаратах предсердного миокарда крысы (таб. 9). Полученные результаты свидетельствуют о том, что амплитуды ЭС сокращений миокарда предсердий на соответствующих ЭС интервалах имели более высокие значения по сравнению с величинами, ха-

рактёрными для папиллярной мышцы крысы (таб. 6). Обработка мышечных препаратов предсердия крысы нибентаном, как и в случае с миокардом желудочка, уменьшала амплитуду ЭС сокращения в обеих используемых концентрациях (таб. 9).

**Таблица 9.** Влияние нибентана на амплитуду экстрасистолического сокращения миокарда предсердия крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время экстрасистолического интервала, сек							
		0,2	0,225	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Контроль	14	22,0±3,0	52,5±3,1	67,8±2,8	80,7±2,0	83,9±2,2	85,9±2,1	85,3±2,0	84,5±2,2
Нибентан 2,5 мкМ/л	12	19,6±1,5 p=0,347	40,5±3,5 p=0,002	58,4±3,7 p=0,008	71,4±3,1 p=0,004	75,4±3,0 p=0,015	77,4±3,0 p=0,034	76,5±3,1 p=0,023	76,4±3,1 p=0,041
Нибентан 25 мкМ/л	9	22,1±1,3 p=0,263 p2=0,674	39,1±2,8 p=0,008 p2=0,515	57,0±4,3 p=0,028 p2=0,374	69,6±3,8 p=0,015 p2=0,173	74,8±3,4 p=0,038 p2=0,374	75,8±3,1 p=0,038 p2=0,767	77,1±3,2 p=0,051 p2=0,767	79,0±2,6 p=0,066 p2=0,260

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

В исследованиях, проведенных нами на патологическом миокарде больных ИБС, функционально значимые изменения сократительной функции были получены при использовании ЭС интервалов с 0,5 с и более. При этом, как видно из таб. 10, амплитуда ЭС сокращений, полученных на ЭС интервале 1,5 с не намного превышала 50% амплитуды стационарных сокращений ( $56,4 \pm 4,15\%$ ). Обработка мышечных препаратов амиодароном или нибентаном не выявила устойчивого влияния этих веществ на амплитуду ЭС сокращения (таб. 10).

**Таблица 10.** Влияние амиодарона и нибентана на амплитуду экстрасистолического сокращения миокарда предсердия больных ИБС ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время экстрасистолического интервала, сек				
		0,5	0,75	1	1,25	1,5
Контроль	24	23,0±6,1	39,2±3,4	49,1±4,3	55,1±4,3	56,4±4,2
Амиодарон	19	–	31,9±3,3 p=0,010	43,5±4,4 p=0,112	50,9±4,4 p=0,156	54,9±4,1 p=0,364
Нибентан 2,5 мкМ/л	5	21,7±3,7 p=0,893	31,8±5,8 p=0,043	43,7±5,6 p=0,080	52,0±3,8 p=0,500	57,7±2,5 p=0,465
Нибентан 25 мкМ/л	5	22,9±4,3 p=0,893 p2=0,345	31,4±5,7 p=0,080 p2=0,893	40,6±5,0 p=0,043 p2=0,225	48,1±4,2 p=0,043 p2=0,225	53,3±4,6 p=0,0679 p2=0,273

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

### 3.4 ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА АМПЛИТУДУ ПОСТЭКСТРАСИСТОЛИЧЕСКОГО СОКРАЩЕНИЯ МИОКАРДА

Нанесение внеочередного (экстрасистолического) стимула на фоне регулярной стимуляции приводило не только к появлению ЭС сокращения, но и к изменению амплитуды последующего регулярного сокращения. Как видно из данных, представленных в таб. 11, амплитуда постэкстрасистолического сокращения папиллярной мышцы крысы зависела от продолжительности экстрасистолического интервала. В контроле постэкстрасистолический цикл сокращение–расслабление имел максимальные величины в тех случаях, когда экстрасистолические воздействия оказывались с интервалами 0,2 с и

0,225 с. Увеличение длительности ЭС интервала сопровождалось уменьшением величины ПЭС потенциации, а при интервалах более 1 секунды ПЭС потенция исчезала и амплитуда ПЭС сокращения становилась ниже значения амплитуды регулярных сокращений.

В экспериментах с амиодароном (таб. 11) величина постэкстрасистолической потенциации достоверно увеличивалась при ЭС интервалах 0,2 с и 0,225 с по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ ), достигая максимального значения на ЭС интервале 0,225 с ( $123,8 \pm 1,52\%$  и  $135,7 \pm 2,62\%$ , в контроле и опыте с амиодароном, соответственно).

Присутствие нибентана в перфузионном растворе также оказывало значимое ( $p < 0,01$ ) влияние на амплитуду ПЭС сокращения, при этом различия с контролем также были наиболее выражены на ЭС интервалах 0,225 с (таб. 11). Следует заметить, что наблюдаемый эффект не являлся дозозависимым. Так, при использовании нибентана в концентрации 2,5 мкМ/л и 25 мкМ/л ( $133,5 \pm 2,58\%$  и  $135,3 \pm 3,13\%$ , соответственно) мы не получили достоверных различий.

Обработка мышечных препаратов кофеином (таб. 11) значительно уменьшала амплитуду ПЭС потенциации на ЭС интервале 0,225 с по сравнению с контролем ( $111,6 \pm 3,42\%$ ,  $p < 0,01$ ), а добавление амиодарона (таб. 11) в перфузионный раствор на фоне развившегося эффекта кофеина способствовало частичному восстановлению ПЭС потенциации ( $120,3 \pm 5,95\%$ , нет достоверных различий с контролем). Кроме того, в экспериментах с кофеином, как в присутствии, так и в отсутствии амиодарона уменьшение амплитуды постэкстрасистолического сокращения ниже значения амплитуды регулярных сокращений

на длительных ЭС интервалах (более 1 с) не проявлялось (таб. 11).

**Таблица 11.** Влияние биологически активных веществ на амплитуду постэкстрасистолического сокращения папиллярной мышцы крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время экстрасистолического интервала, сек							
		0,2	0,225	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Контроль	45	123,3±1,6	123,8±1,5	115,3±1,2	103,7±0,8	98,9±0,8	96,2±0,7	93,9±0,7	93,3±0,7
Амиодарон	12	136,0±1,5	135,7±2,6	119,6±2,0	106,3±1,0	100,4±0,8	96,9±1,2	95,1±0,9	93,6±1,1
		p=0,003	p=0,004	p=0,051	p=0,859	p=0,594	p=0,286	p=0,182	p=0,328
Кофеин	16	115,1±3,9	111,6±3,4	107,1±2,3	102,2±1,2	101,5±1,4	102,8±1,1	101,3±1,3	102,2±1,9
		p=0,088	p=0,006	p=0,001	p=0,063	p=0,326	p=0,010	p=0,006	p=0,054
Амиодарон на фоне кофеина	16	119,8±5,4	120,3±6,0	112,4±4,3	106,6±2,0	105,2±1,3	102,0±1,8	103,3±2,4	103,8±3,4
		p=0,212	p=0,156	p=0,036	p=1,000	p=0,125	p=0,301	p=0,031	p=0,173
		p1=0,394	p1=0,148	p1=0,148	p1=0,049	p1=0,036	p1=0,502	p1=0,570	p1=0,877
Нибентан 2,5 мкМ/л	28	131,0±2,8	133,5±2,6	119,7±1,7	104,1±1,1	97,4±0,9	93,7±1,0	92,6±1,0	91,1±1,1
		p=0,000	p=0,000	p=0,006	p=0,016	p=0,219	p=0,753	p=0,668	p=0,407
Нибентан 25 мкМ/л	28	133,2±2,8	135,3±3,1	121,0±2,0	103,6±1,2	96,2±1,2	92,3±1,1	89,3±1,2	87,3±1,0
		p=0,001	p=0,001	p=0,009	p=0,072	p=0,670	p=0,191	p=0,114	p=0,014
		p2=0,592	p2=0,506	p2=0,199	p2=0,458	p2=0,191	p2=0,094	p2=0,055	p2=0,039
Тетраэтиламмония хлорид	10	98,2±1,8	100,2±2,2	106,4±3,4	105,0±2,9	104,8±3,7	99,4±2,1	97,3±2,0	95,2±2,2
		p=0,002	p=0,002	p=0,02	p=0,59	p=0,328	p=0,386	p=0,333	p=0,241

**Примечание.** p - уровень различия между контролем и опытом, p1 - между опытами с кофеином и амиодароном на фоне развившегося эффекта кофеина, p2 - между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

Блокатор калиевых каналов – тетраэтиламмония хлорид – в концентрации 1 мг/мл устранял проявление эффекта ПЭС потенциации (таб. 11). При экстрасистолическом интервале 0,225 с амплитуда ПЭС сокращения не превышала амплитуду регулярных сокращений ( $100,2 \pm 2,18\%$ , достоверные различия с контролем,  $p < 0,01$ ).

В экспериментах на папиллярных мышцах крысы (таб. 12) исследование влияния частоты регулярных импульсов на проявление эффекта ПЭС потенциации обнаружило зависимость величины потенциации сократительного ответа от частоты стимуляции. Так, в контроле на частоте регулярных импульсов 0,1 Гц максимальный уровень ПЭС потенциации был равен  $118,9 \pm 1,75\%$  (ЭС интервал 0,225 с), а при десятикратном увеличении частоты до 1,0 Гц величина потенциации возросла до  $174,2 \pm 10,38\%$  (ЭС интервал 0,225 с). После обработки папиллярных мышц амиодароном мы наблюдали достоверное увеличение эффекта ПЭС потенциации по сравнению с контролем ( $128,1 \pm 2,62\%$  и  $189,5 \pm 11,40\%$ , частота стимуляции 0,1 Гц и 1,0 Гц, соответственно,  $p < 0,01$ ).



**Таблица 12.** Влияние частоты регулярных импульсов на проявление эффекта амиодарона на амплитуду постэкстрасистолического сокращения папиллярной мышцы крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	Частота стимуляции, Гц	n	Время экстрасистолического интервала, сек							
			0,2	0,225	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Контроль	0,1	1	115,6±1,7	118,9±1,8	111,5±1,7	102,8±1,1	98,5±0,9	96,7±0,8	94,5±1,0	94,9±0,9
		2				1	9	8		
Амиодарон	0,1	1	126,6±1,3	128,1±2,6	115,6±2,5	102,9±1,1	97,9±1,1	95,6±1,1	94,0±1,7	93,3±2,2
		2	p=0,003	p=0,003	p=0,075	8	7	7	p=0,374	p=0,051
Контроль	1,0	1	177,1±10,9	174,2±10,4	149,3±9,8	-	-	-	-	-
		3								
Амиодарон	1,0	1	183,4±8,8	189,5±11,4	152,8±10,0	-	-	-	-	-
		3	p=0,308	p=0,006	p=0,136					

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом.

Эксперименты, проведенные на миокарде предсердия крысы, выявили смещение максимальных значений ПЭС потенциации в диапазон более коротких экстрасистолических интервалов (таб. 13). Следует также заметить, что если для миокарда желудочков крысы было характерно отсутствие ПЭС потенциации на ЭС интервалах между 0,5 с и 0,75 с (таб. 11), то амплитуда ПЭС сокращений миокарда предсердия крысы достигала значения амплитуды стационарных сокращений уже на экстрасистолическом интервале 0,25 с (таб. 13). Снижение амплитуды ПЭС сокращения ниже величины амплитуды регулярного сокращения на ЭС интервалах, превышающих 1 с, имело более выраженный характер в экспериментах на пред-

сердном миокарде крысы, чем в исследованиях на папиллярных мышцах крысы (таб. 13).

**Таблица 13.** Влияние биологически активных веществ на амплитуду постэкстрасистолического сокращения миокарда предсердия крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время экстрасистолического интервала, сек							
		0,2	0,225	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Контроль	26	113,9±1,5	106,5±1,0	101,7±0,7	95,0±0,9	92,8±1,2	91,4±1,2	89,7±1,4	89,5±1,6
<b>Кофеин</b>	12	107,7±1,6 p=0,638	102,0±1,1 p=0,131	100,7±1,1 p=0,308	96,9±1,5 p=0,583	95,6±2,2 p=0,722	95,0±1,8 p=0,695	92,7±1,9 p=0,875	94,0±2,2 p=0,875
Амиодарон на фоне кофеина	12	102,2±5,1 p=0,241 p1=0,203	101,6±1,6 p=0,059 p1=0,515	96,4±2,3 p=0,028 p1=0,114	93,3±2,3 p=0,285 p1=0,139	93,1±2,4 p=0,647 p1=0,374	91,4±1,8 p=0,386 p1=0,114	90,9±1,7 p=0,515 p1=0,594	91,6±2,5 p=0,446 p1=0,241
Нибентан 2,5 мкМ/л	12	123,4±3,0 p=0,050	112,3±1,7 p=0,008	101,9±1,7 p=0,530	90,4±2,0 p=0,100	85,8±2,3 p=0,034	83,3±2,7 p=0,084	80,9±3,0 p=0,136	79,1±3,1 p=0,117
Нибентан 25 мкМ/л	9	124,5±2,9 p=0,008 p2=0,594	113,1±3,0 p=0,021 p2=0,515	102,6±2,6 p=0,214 p2=0,260	90,4±2,6 p=0,051 p2=0,515	85,3±1,9 p=0,208 p2=0,401	81,1±2,4 p=0,093 p2=0,889	81,9±2,9 p=0,401 p2=0,263	81,8±3,3 p=0,674 p2=0,069

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом, p1 – между опытами с кофеином и амиодароном на фоне развившегося эффекта кофеина, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

Как следует из данных, представленных в таб. 13, характер влияния биологически активных веществ (кофеин, нибентан, амиодарон) на эффект ПЭС потенциации миокарда предсердия крысы имел ту же направленность, что и для миокарда желудочков.

**Таблица 14.** Влияние амиодарона на параметры цикла постэкстрасистолического сокращения миокарда больных ИБС ( $M \pm m$ ).

Серии Экспериментов	n	Параметры цикла сокращение- расслабление		
		T	+dT/dt	-dT/dt
Контроль	14	105,9±2,2	106,7±1,8	116,7±3,7
Амиодарон	14	123,9±3,6*	121,1±6,4*	103,0±4,1*

**Примечание.** Все параметры выражены в процентном отношении к соответствующим параметрам регулярного цикла. \* -  $p < 0,05$  достоверные различия с контролем.

В экспериментах, проведенных на миокарде предсердия больных ИБС, эффект ПЭС потенциации в условиях контроля не проявлялся (таб. 14). На фоне амиодарона параметры ПЭС сокращения, полученного в результате внеочередного стимулирующего импульса, оказанного через 0,25 с от начала регулярного воздействия, имели достоверные различия по сравнению с контролем (таб. 14). Кроме изменения амплитуды ПЭС сокращения, под влиянием амиодарона происходило увеличение максимальной скорости повышения напряжения и снижение максимальной скорости понижения напряжения.

### 3.5 ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА АМПЛИТУДУ ПОТЕНЦИРОВАННЫХ ПОКОЕМ СОКРАЩЕНИЙ МИОКАРДА

В ходе проведенных экспериментов на папиллярных мышцах крысы (таб. 15) обнаружено, что амплитуда первого после периода покоя сокращения превышала базовый уровень (эффект потенциации паузой) на интервалах покоя от 4 с до 60 с. При этом, с увеличением длительности интервалов покоя величина потенциации увеличивалась, а скорость прироста амплитуды снижалась.

**Таблица 15.** Влияние биологически активных веществ на амплитуду потенцированного покоем сокращения папиллярной мышцы крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время интервала покоя, сек								
		2	4	6	8	10	16	20	30	60
Контроль	38	113,9±1,1	123,8±1,6	131,9±2,0	138,6±2,3	144,6±2,8	151,7±3,6	158,4±3,7	166,2±4,3	172,9±4,4
Амиодарон	12	123,6±1,8 p=0,007	146,3±2,2 p=0,002	159,5±3,0 p=0,002	174,0±3,0 p=0,002	183,0±4,3 p=0,002	201,1±5,2 p=0,002	218,9±6,1 p=0,002	232,8±7,8 p=0,003	251,2±12,6 p=0,003
Кофеин	16	105,9±1,9 p=0,011	110,0±2,8 p=0,013	115,5±3,6 p=0,013	116,9±4,2 p=0,006	119,2±5,2 p=0,011	119,2±6,0 p=0,003	120,4±6,0 p=0,002	117,3±6,3 p=0,001	111,4±6,7 p=0,001
Амиодарон на фоне кофеина	16	107,4±3,1 p=0,088 p1=0,877	110,9±3,6 p=0,034 p1=0,570	114,5±4,4 p=0,011 p1=0,717	118,9±5,8 p=0,017 p1=0,959	118,7±6,8 p=0,011 p1=0,925	123,4±7,9 p=0,023 p1=0,836	127,3±8,9 p=0,023 p1=0,679	127,2±9,3 p=0,006 p1=0,352	130,2±9,7 p=0,013 p1=0,034

**Примечание.** p - уровень различия между контролем и опытом, p1 - между опытами с кофеином и амиодароном на фоне развившегося эффекта кофеина.

Присутствие амиодарона (таб. 15) в перфузионном растворе вело к существенному (почти двукратному) увеличению эффекта потенциации первого после периода покоя сокращения на всех рассмотренных нами значениях интервалов покоя ( $p < 0,01$ ). Однако, как видно из таб. 16, время  $t_2(T_{50})$ , необходимое для достижения половины максимума прироста амплитуды, отражающее скорость захвата ионов кальция саркоплазматическим ретикулулом кардиомиоцитов, в контрольных условиях и на фоне действия амиодарона достоверно не различалось.

Обработка мышц кофеином (таб. 15) уменьшала прирост амплитуды потенцированных сокращений, а начиная с 30 с интервала покоя, амплитуда первого после периода покоя сокращения уже снижалась по сравнению с предыдущим интервалом. Добавление амиодарона в перфузионный раствор на фоне кофеина изменяло характер данного воздействия на длительных интервалах (30 с и 60 с), приводя к восстановлению эффекта роста амплитуды первого после периода покоя сокращения с увеличением продолжительности интервала покоя (таб. 15).

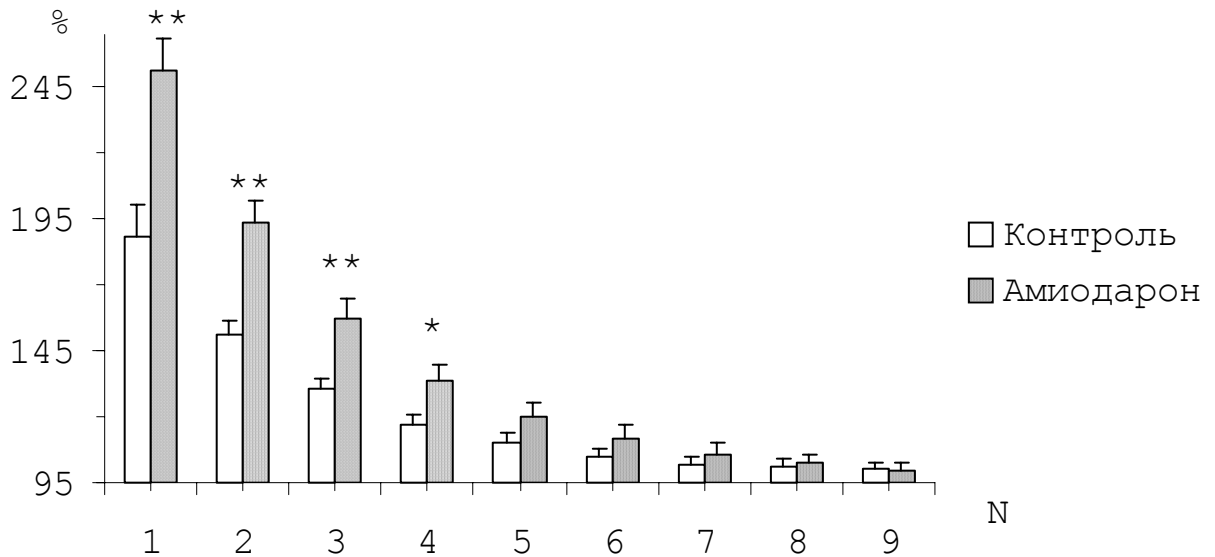
**Таблица 16.** Влияние амиодарона на  $t_2(T_{50})$  миокарда предсердия и желудочка крысы ( $M \pm m$ ).

Тип миокарда	Частота стимуляции, Гц	Контроль	Амиодарон
Желудочек	0,5	11,56±0,637	10,87±0,761
	1,0	7,79±0,570	7,84±0,628
Предсердие	0,5	8,04±0,698	-

**Примечание.**  $t_2(T_{50})$  - время покоя, соответствующее первому после паузы сокращению с амплитудой, равной половине максимальной амплитуды на интервале покоя 60 с. Величины представлены в секундах.

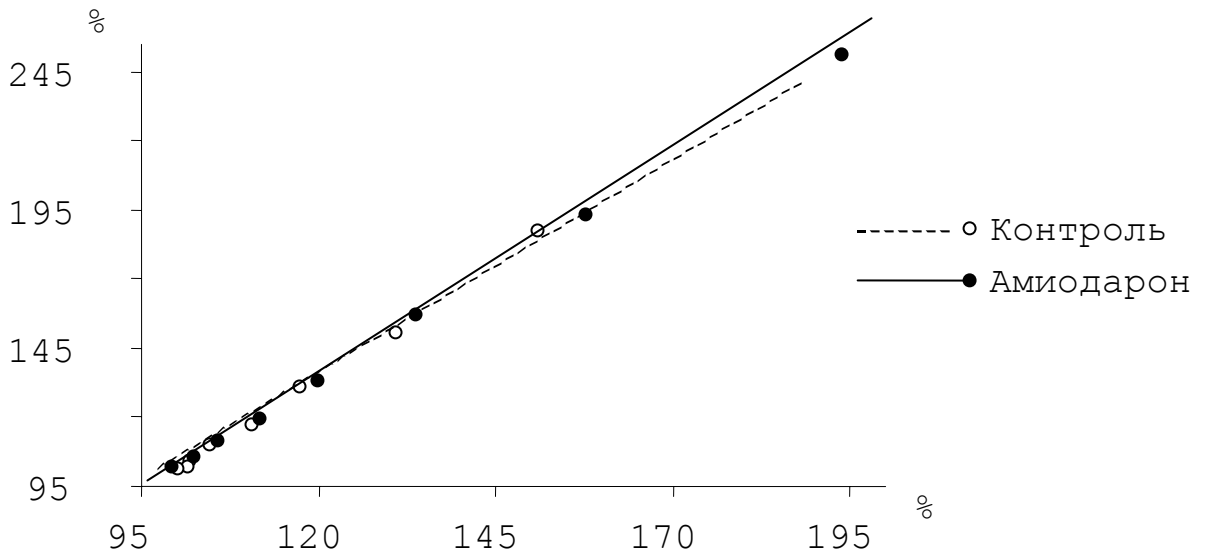
Для оценки рециркулирующей фракции ионов кальция мы использовали коэффициент спада силы сокращений, потенцированных периодом покоя 60 с [178] (рис. 3). Для этого по оси ординат откладывали величину амплитуды  $n^{-го}$  сокращения, а по оси абсцисс - величину амплитуды  $n+1^{-го}$  сокращения. Угол наклона полученной таким образом линейной регрессии представлял собой коэффициент спада силы сокращений (рис. 4). Вычисленная этим методом фракция рециркуляции  $Ca^{+2}$  не имела достоверных различий между контролем и опытом с амиодароном ( $62,9 \pm 2,85\%$  и  $64,1 \pm 3,31\%$ , соответственно).

Исследование влияния частоты регулярных импульсов на эффект потенциации покоем, проведенное на папиллярных мышцах крысы, обнаружило увеличение выраженности этого эффекта с увеличением частоты стимуляции (таб. 17). Обработка мышечных препаратов амиодароном и нибентаном достоверно ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ , соответственно) усиливала прояв-



**Рис. 3.** Влияние амиодарона на спад силы сокращений папиллярной мышцы крысы, потенцированных паузой 60 с.

По оси абсцисс – номер регулярного сокращения, после восстановления стимуляции; по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* – достоверность различий с контролем  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .



**Рис. 4.** Линейная регрессия, отражающая спад силы сокращений папиллярной мышцы крысы, потенцированных паузой 60с. По оси абсцисс – амплитуда n-го сокращения, по оси ординат – амплитуда n+1-го сокращения. Все амплитуды выражены в процентах к базовой амплитуде.

ление эффекта потенциации покоем при всех значениях интервалов покоя. Кроме того, при частоте регулярных стимулов 1,0 Гц, время половины максимального прироста амплитуды  $t_2(T_{50})$ , согласно нашим данным, уменьшалось как в контрольных условиях, так и в опыте с амиодароном ( $7,79 \pm 0,570$  с и  $7,84 \pm 0,628$  с, в контроле и опыте, соответственно, нет достоверных различий).

**Таблица 17.** Влияние биологически активных веществ на амплитуду потенцированного покоем сокращения папиллярной мышцы крысы на частоте стимулирующих импульсов 1,0 Гц ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время интервала покоя, сек								
		2	4	6	7	10	15	20	30	60
Контроль	27	125,4 $\pm$ 1,0	150,4 $\pm$ 2,2	174,1 $\pm$ 4,0	179,9 $\pm$ 4,4	200,2 $\pm$ 5,4	221,0 $\pm$ 6,3	236,0 $\pm$ 7,3	246,6 $\pm$ 8,5	265,7 $\pm$ 11,4
Амиодарон	14	139,0 $\pm$ 2,3 p=0,004	176,0 $\pm$ 5,4 p=0,001	205,7 $\pm$ 7,8 p=0,001	217,5 $\pm$ 8,8 p=0,002	258,0 $\pm$ 13,2 p=0,002	288,1 $\pm$ 16,6 p=0,002	317,9 $\pm$ 19,6 p=0,003	342,1 $\pm$ 22,5 p=0,008	370,5 $\pm$ 27,0 p=0,001
Нибентан 2,5 мкМ/л	6	130,4 $\pm$ 0,5 p=0,036	159,0 $\pm$ 3,0 p=0,036	181,9 $\pm$ 4,6 p=0,012	191,8 $\pm$ 5,0 p=0,012	222,1 $\pm$ 8,0 p=0,012	255,8 $\pm$ 9,6 p=0,012	283,1 $\pm$ 14,7 p=0,012	322,9 $\pm$ 17,3 p=0,012	–
Нибентан 25 мкМ/л	6	132,7 $\pm$ 0,9 p=0,036 p2=0,263	184,4 $\pm$ 2,9 p=0,012 p2=0,012	225,4 $\pm$ 5,8 p=0,012 p2=0,012	247,1 $\pm$ 8,7 p=0,012 p2=0,012	288,5 $\pm$ 13,9 p=0,012 p2=0,012	361,3 $\pm$ 17,1 p=0,012 p2=0,012	399,7 $\pm$ 23,2 p=0,012 p2=0,012	434,2 $\pm$ 23,6 p=0,012 p2=0,012	–

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом, p2 – между опытами с нибентаном 2,5 мкМ/л и нибентаном 25 мкМ/л.

Использование частоты 1,0 Гц для задания регулярной стимуляции папиллярной мышце крысы (таб. 17) приводило к



снижению рециркулирующей фракции ионов кальция в кардиомиоцитах как в контроле ( $48,6 \pm 3,74\%$ ), так и опыте с амиодароном ( $48,6 \pm 3,69\%$ ).

В экспериментах на миокарде предсердия крыс (таб. 18) обнаружено, что прирост амплитуды первого после паузы сокращения происходит до меньших значений, чем в миокарде желудочков (таб. 15). Кроме того, при использовании интервала покоя 60 с наблюдалось снижение амплитуды потенцированного покоем сокращения по сравнению с потенцирующим эффектом более короткого (30 с) интервала покоя.

**Таблица 18.** Влияние биологически активных веществ на амплитуду потенцированного покоем сокращения миокарда предсердия крысы ( $M \pm m$ ).

Серии экспериментов	n	Время интервала покоя, сек								
		2	4	6	8	10	16	20	30	60
Контроль	10	108,8 $\pm$ 1,3	114,6 $\pm$ 2,2	119,8 $\pm$ 3,9	123,1 $\pm$ 3,7	127,9 $\pm$ 4,8	133,8 $\pm$ 6,3	140,4 $\pm$ 8,7	141,2 $\pm$ 8,5	137,1 $\pm$ 11,0
Кофеин	8	97,1 $\pm$ 4,6	104,0 $\pm$ 3,1	104,6 $\pm$ 4,1	109,1 $\pm$ 4,7	108,4 $\pm$ 4,3	106,8 $\pm$ 7,6	103,8 $\pm$ 4,4	97,9 $\pm$ 4,0	99,7 $\pm$ 4,2
		p=0,011	p=0,038	p=0,161	p=0,050	p=0,043	p=0,043	p=0,043	p=0,028	p=0,075
Амиодарон на фоне кофеина	9	107,3 $\pm$ 3,3	119,2 $\pm$ 7,7	120,1 $\pm$ 9,2	124,5 $\pm$ 14,8	133,5 $\pm$ 19,0	129,0 $\pm$ 14,7	147,2 $\pm$ 29,1	154,3 $\pm$ 44,0	172,5 $\pm$ 48,9
		p=0,938	p=0,583	p=1,000	p=0,477	p=0,333	p=0,445	p=0,695	p=0,328	p=0,876
		p1=0,015	p1=0,086	p1=0,208	p1=0,779	p1=0,779	p1=0,263	p1=0,499	p1=0,128	p1=0,311

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом, p1 – между опытами с кофеином и амиодароном на фоне развившегося эффекта кофеина.

Рециркулирующая фракция ионов кальция в кардиомиоцитах предсердного миокарда крысы в контроле и под влиянием нибентана 2,5 мкМ/л и 25 мкМ/л, составляла  $79,7 \pm 1,85\%$ ,  $75,1 \pm 1,32\%$  и  $72,6 \pm 2,05\%$ , соответственно.

В опытах, проведенных на предсердном миокарде крысы (таб. 18) с кофеином, а также амиодароном на фоне развившегося эффекта кофеина, прослеживались те же тенденции, что и в случае использования миокарда желудочков сердца крысы. А именно, кофеин снижал значения амплитуд первых после паузы сокращений по сравнению с контролем, а на длительных интервалах покоя (20 с, 30 с и 60 с) проявление эффекта потенциации первого после паузы сокращения уменьшалось. Однако последующее добавление амиодарона в перфузионный раствор устраняло феномен снижения величины потенциации на длительных интервалах покоя, существенно не влияя при этом на значения амплитуд первых после паузы сокращений, полученных на остальных интервалах покоя (таб. 18).

В экспериментах, проведенных нами на мышечных полосках 15 больных ИБС, обнаружено наличие двух типов реакций в ответ на возобновление стимуляции после периода покоя (таб. 19). Для первого типа реакции было характерно снижение амплитуд первых после периода покоя сокращений с ростом продолжительности времени интервала покоя (нисходящая реституционная кривая). Второй тип реагирования мышечных полосок предсердного миокарда больных ИБС не проявлял существенного изменения амплитуд первых после периода покоя сокращений с увеличением времени интервала покоя (таб. 19).

**Таблица 19.** Влияние амиодарона на амплитуду потенцированного покоем сокращения миокарда предсердия человека ( $M \pm m$ ).

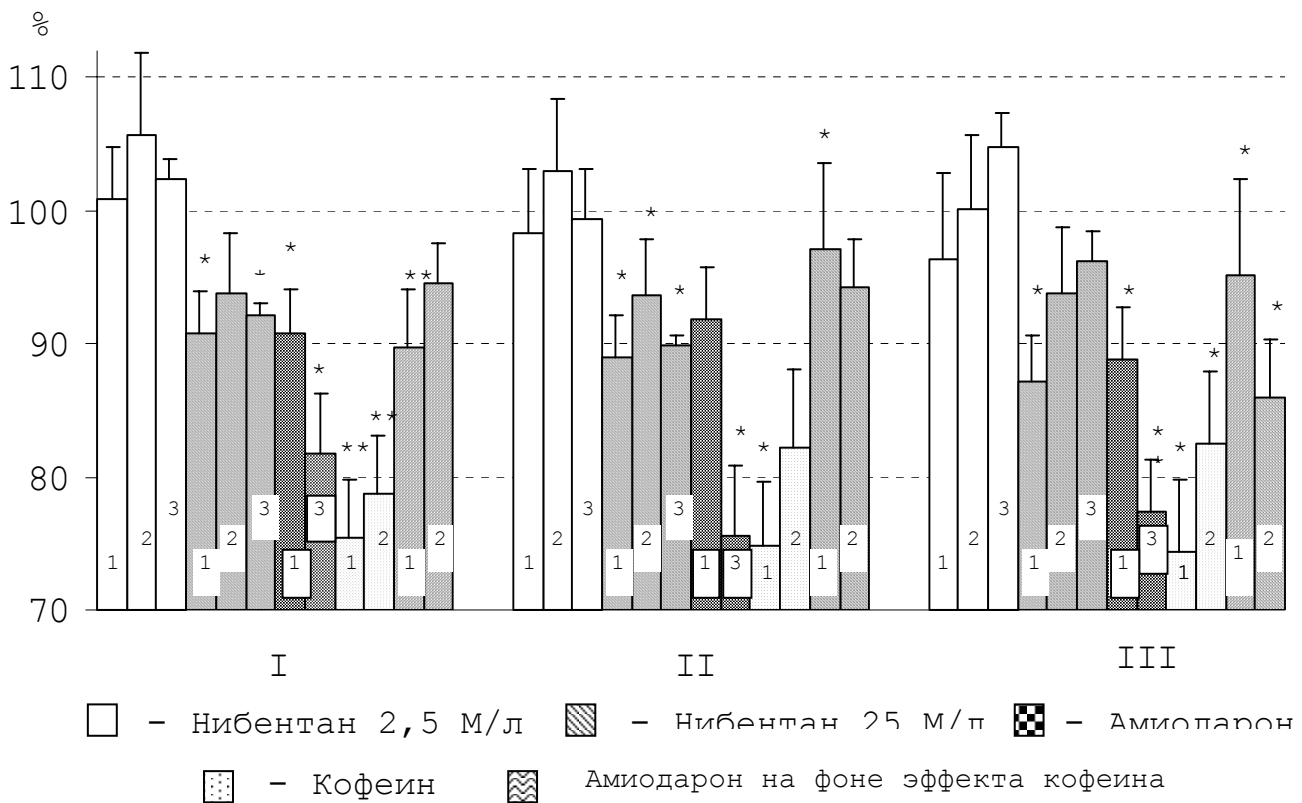
Серии экспериментов	Гип	n	Время интервала покоя, сек								
			2	4	6	8	10	16	20	30	60
Контроль	I	8	111,9±3,4	103,1±4,3	88,9±3,8	80,0±4,4	74,0±5,4	66,0±6,5	58,9±7,0	52,3±8,3	37,6±5,5
Амиодарон			p=0,068	p=0,109	p=0,068	p=0,068	p=0,068	p=0,068	p=0,068	p=0,068	p=0,068
Контроль	II	7	102,2±0,9	96,6±1,5	96,9±3,0	97,9±4,2	97,0±4,9	99,6±6,0	98,8±7,5	101,2±10,1	95,0±12,8
Амиодарон			p=0,063	p=0,028	p=0,018	p=0,018	p=0,018	p=0,018	p=0,018	p=0,018	p=0,018

**Примечание.** p – уровень различия между контролем и опытом.

При повторном проведении теста, уже после обработки мышечных препаратов миокарда больных ИБС амиодароном, наблюдалось отсутствие влияния антиаритмического препарата на инотропный ответ мышечных полосок первого типа, в то время как мышечные препараты со вторым типом реакции, как следует из данных, приведенных в таб. 19, имели существенно большие значения амплитуд сокращения по сравнению с контролем.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наблюдаемое в нашем исследовании на фоне действия амиодарона уменьшение амплитуды сокращения как здорового миокарда крысы, так и патологического миокарда человека (рис. 5) хорошо согласуется с наличием слабого отрицательного инотропного эффекта у группы антиаритмических препаратов III класса [15,17,32]. Подобный эффект может являться следствием уменьшения свободного  $Ca^{+2}$  в миоплазме кардиомиоцитов во время сокращения в результате угнетающего воздействия амиодарона на медленные кальциевые каналы клеточной мембраны [15,23,116,117].



**Рис. 5.** Влияние биологически активных веществ на параметры цикла сокращение-расслабление сердечной мышцы. По оси ординат - параметры сокращения в %. I - амплитуда сокращения, II - максимальная скорость повышения напряжения, III - максимальная скорость понижения напряжения. 1 - папиллярная мышца крысы, 2 - миокард предсердия крысы, 3 - миокард больных ИБС. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

Однако, по данным литературы, другой антиаритмический препарат III класса – нибентан – не обладает способностью ингибировать медленный  $\text{Ca}^{+2}$ -ток и тем самым уменьшать количество входящих в клетку ионов кальция. Основным механизмом действия нибентана является угнетение выходящего  $\text{K}^+$ -тока замедленного выпрямления и увеличение продолжительности потенциала действия различных отделов сердца за счет избирательного удлинения 2 и 3 фаз реполяризации [8,51,52]. По мнению ряда авторов [88,113,127], удлинение фазы реполяризации должно приводить к увеличению количества ионов кальция, входящих в миоплазму через медленные  $\text{Ca}^{+2}$ -каналы и вызывать возрастание амплитуды регулярных сокращений. Подобный эффект мы наблюдали при использовании тетраэтиламмония хлорида (таб. 2) – вещества блокирующего, как известно,  $\text{K}^+$ -каналы клеточной мембраны [84,123].

Более того, в литературе описана зависимость влияния нибентана на  $\text{K}^+$ -ток замедленного выпрямления от дозы используемого препарата [7]. Согласно данным, полученным на изолированных кардиомиоцитах крысы, десятикратное увеличение концентрации нибентана с 2,5 мкМ/л до 25 мкМ/л вызывало усиление его ингибирующего влияния на  $\text{K}^+$ -ток задержанного выпрямления почти в два раза [7]. Однако в наших исследованиях зависимость влияния нибентана на амплитуду сокращения сердечной мышцы от используемой концентрации не обнаружена (рис. 5). Это обстоятельство дает основание предположить, что снижение амплитуды регулярных сокращений на фоне действия нибентана в концентрации 25 мкМ/л, видимо, нельзя объяснить только следствием его ингибирующего влияния на величину выходящего  $\text{K}^+$ -тока через

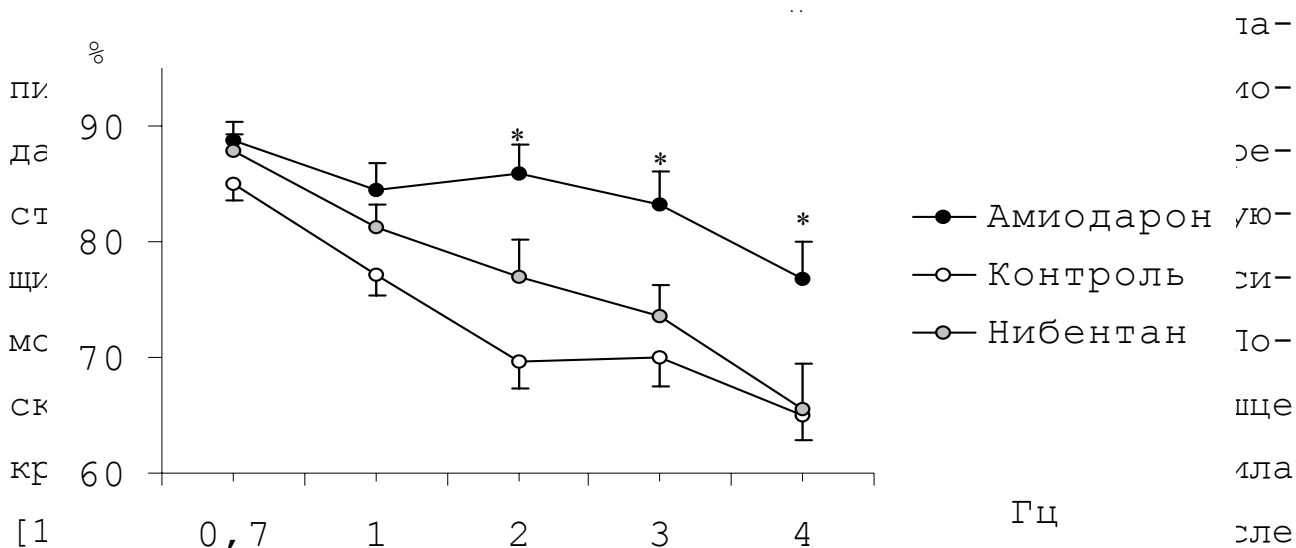
мембраны кардиомиоцита.

Наблюдаемое нами ослабление силы мышечного сокращения миокарда крысы на фоне действия кофеина (рис. 5) хорошо известно и связано с несколькими процессами: ингибированием захвата  $\text{Ca}^{2+}$  СПР [86,92,165] и увеличением утечки  $\text{Ca}^{2+}$  из СПР между сокращениями [19,54,86,157,165]. Оба эти механизма направлены, в конечном итоге, на уменьшение вклада  $\text{Ca}^{2+}$  саркоплазматического ретикулума кардиомиоцита в сокращение [166]. Поскольку в сердечной мышце крысы сокращение в значительной мере зависит именно от  $\text{Ca}^{2+}$  депонированного в СПР кардиомиоцитов [91], снижение функциональной способности ретикулума является причиной ослабления мышечной контрактильности на фоне действия кофеина.

Экспериментально показано, что клетки миокарда обладают гомеостатическим механизмом, поддерживающим оптимум механического напряжения в различных частотных режимах [37,74]. При этом с ростом частоты стимулирующих импульсов увеличивается поступление ионов натрия и кальция из окружающей среды в клетку. Изменение стационарных концентраций ионов натрия и кальция во внутриклеточном матриксе оказывает влияние на структуру трансмембранного потенциала действия, играя роль своеобразного регулятора силы сокращений миокарда через его ритм [37]. Кроме того, снижение амплитуды регулярных сокращений с ростом частоты стимуляции связано с увеличением энергетических затрат, необходимых для активации мембранных ионотранспортирующих систем кардиомиоцитов и уменьшением доли энергии, идущей на развитие последующего напряжения [37].

Как видно из рис. 6, в контроле при переходе на более высокие частоты стимуляции мы отмечали снижение контрак-

тильной способности папиллярных мышц крысы, что согласуется с данными других исследователей [131]. Негативная амплитудно-частотная характеристика изолированного миокарда крысы, по всей видимости, может быть связана с тем, что процесс сокращения миокарда у этих животных обеспечивается главным образом  $\text{Ca}^{2+}$ , поступающим при возбуждении кардиомиоцитов из саркоплазматического ретикулума [91]. В этих условиях, по данным Bers D.M. и Matsushita T. с соавт., с укорочением интервалов между стимулами, время на транспортировку  $\text{Ca}^{2+}$  от мест захвата к местам выброса внутри СПР КМ сокращается, и к моменту очередного сокращения, видимо, не весь  $\text{Ca}^{2+}$  успевает достигнуть терминальных цистерн и использоваться при очередном сократительном ответе [65,127]. Кроме того, за короткий промежуток времени между сокращениями может не происходить полного восстановления инактивированных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов СПР кардиомиоцитов [127].



**Рис. 6.** Влияние амиодарона и нибентана на стационарную связь интервал-сила папиллярной мышцы крысы.

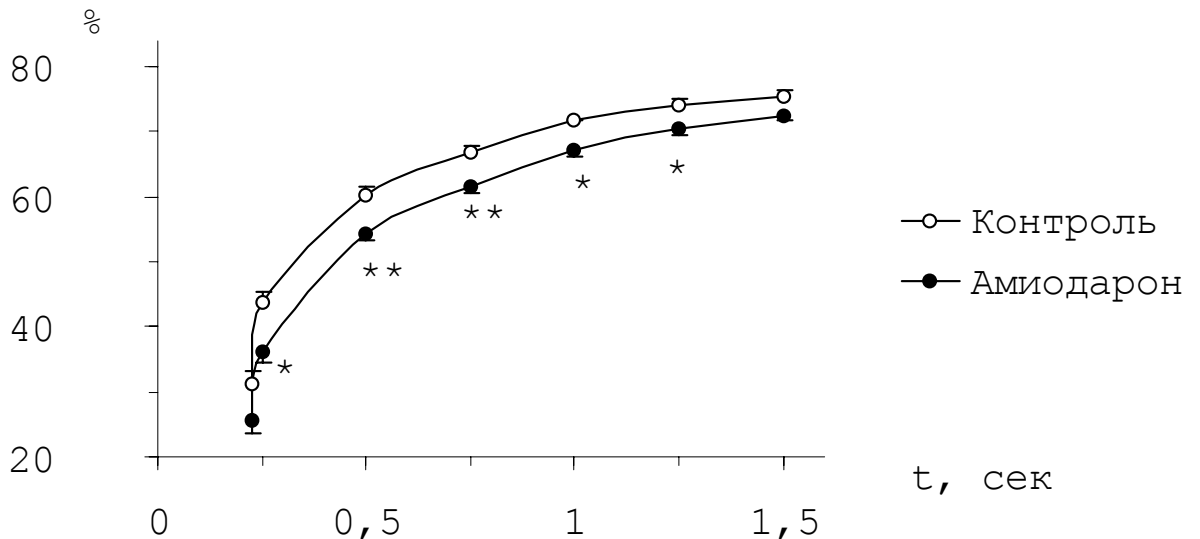
По оси абсцисс - частота стимуляции; по оси ординат - амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \*- достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

кардиомиоцитов. Результаты экспериментов, проведенных с использованием нибентана в концентрации 25 мкМ/л, имели ту же, что и с амиодароном направленность, но меньшую выраженность наблюдаемых изменений (рис. 6). Таким образом, вполне вероятно, что обнаруженный эффект может быть свойствен и другим, в том числе "чистым", антиаритмическим препаратам III класса.

Для оценки работы систем поддержания  $\text{Ca}^{2+}$  гомеостаза внутри кардиомиоцитов мы использовали методический подход, связанный с анализом результата воздействия на мышечные полоски внеочередных (экстрасистолических) стимулирующих импульсов [126,178]. Как видно из рис. 7, с увеличением продолжительности интервала между регулярным и экстрасистолическим сигналами возрастает амплитуда внеочередного сокращения. Наши данные хорошо согласуются с аналогичными эффектами, полученными в работах других исследователей [29,151]. Механизм этого явления принято связывать с тем, что внеочередной стимулирующий импульс, в зависимости от экстрасистолического интервала, приходится на разные фазы сократимости кардиомиоцитов. В этой связи, видимо, уместно высказать предположение, что биологически активные вещества, оказывающие свое воздействие на структуру трансмембранного потенциала действия и влияющие тем самым на процесс электромеханического сопряжения, будут изменять инотропное проявление внеочередного воздействия. Действительно, в проведенных нами экспериментах обработка папиллярных мышц крысы амиодароном снижала амплитуду ЭС сокращения по сравнению с контролем (рис. 7).

В ряде исследований показано, что транспорт ионов





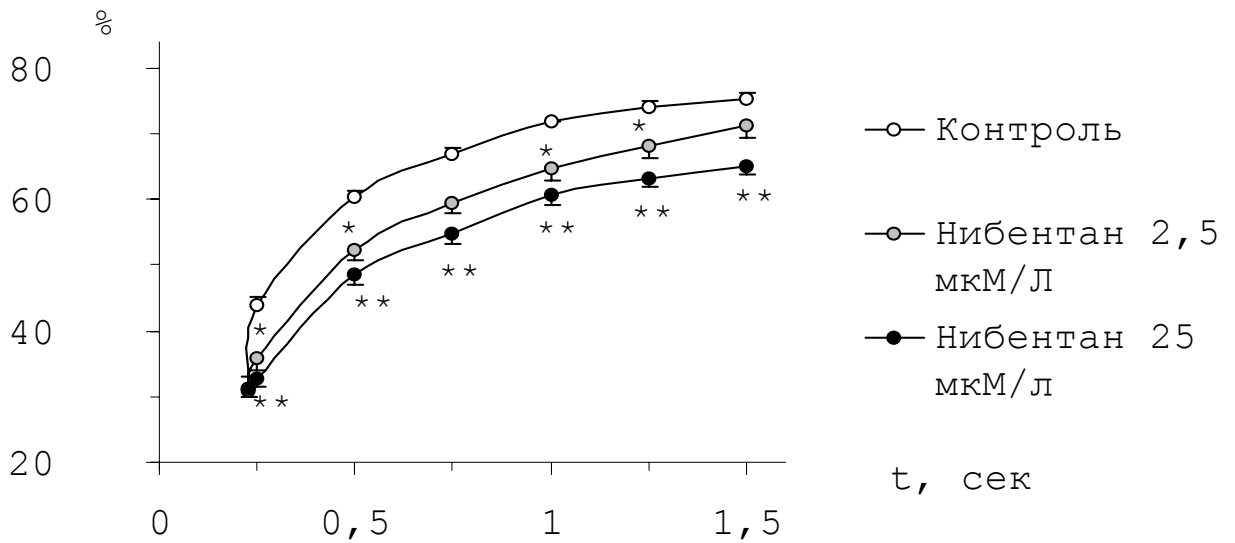
**Рис. 7.** Влияние амиодарона на амплитуду внеочередного сокращения.

По оси абсцисс — ЭС интервал, по оси ординат — амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* — достоверность различий  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ .

кальция внутри СПР кардиомиоцитов от мест его захвата к местам выброса [58, 89, 134, 176, 179] и, отчасти, время ре-активации  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов [81, 146, 171, 178] оцениваются с помощью временной константы  $t_1(T_{50})$ . Поскольку в наших экспериментах с амиодароном значение  $t_1(T_{50})$  достоверно увеличивалась (таб. 7), есть определенные основания предположить возможность влияния исследуемого антиаритмического препарата на эти механизмы, а, следовательно, объяснить наблюдаемое на фоне амиодарона снижение амплитуды ЭС сокращений.

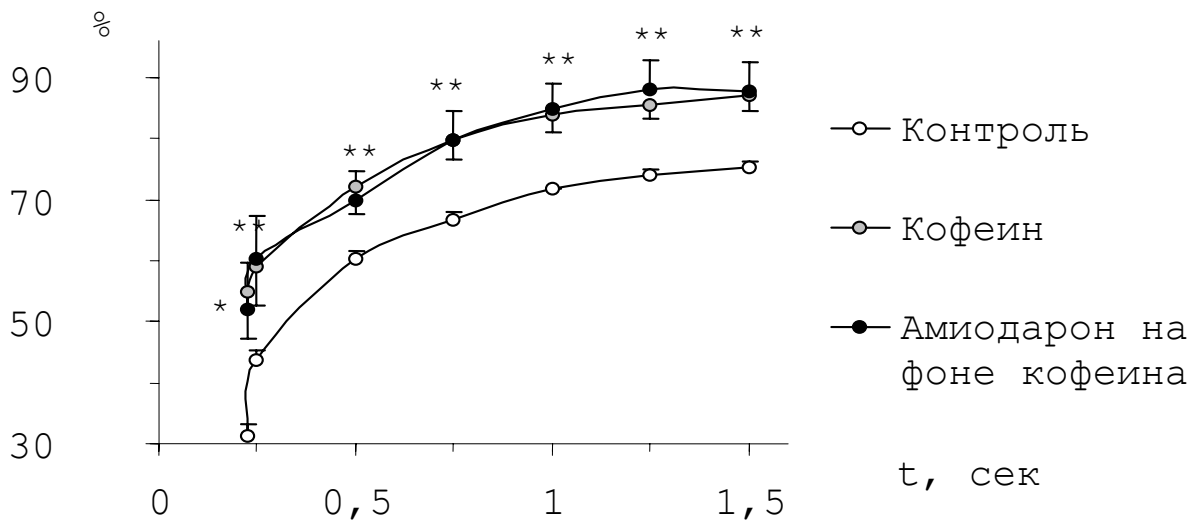
В наших экспериментах, проведенных на папиллярных мышцах крысы, действие нибентана на амплитуду внеочередного сокращения имело зависимость от концентрации препарата в перфузионном растворе (рис. 8). Более того, изме-

нение величины  $t_1 (T_{50})$  в опытах с нибентаном тоже зависело от дозы (таб. 7).



**Рис. 8.** Влияние нибентана на амплитуду внеочередного сокращения.

По оси абсцисс – ЭС интервал; по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .



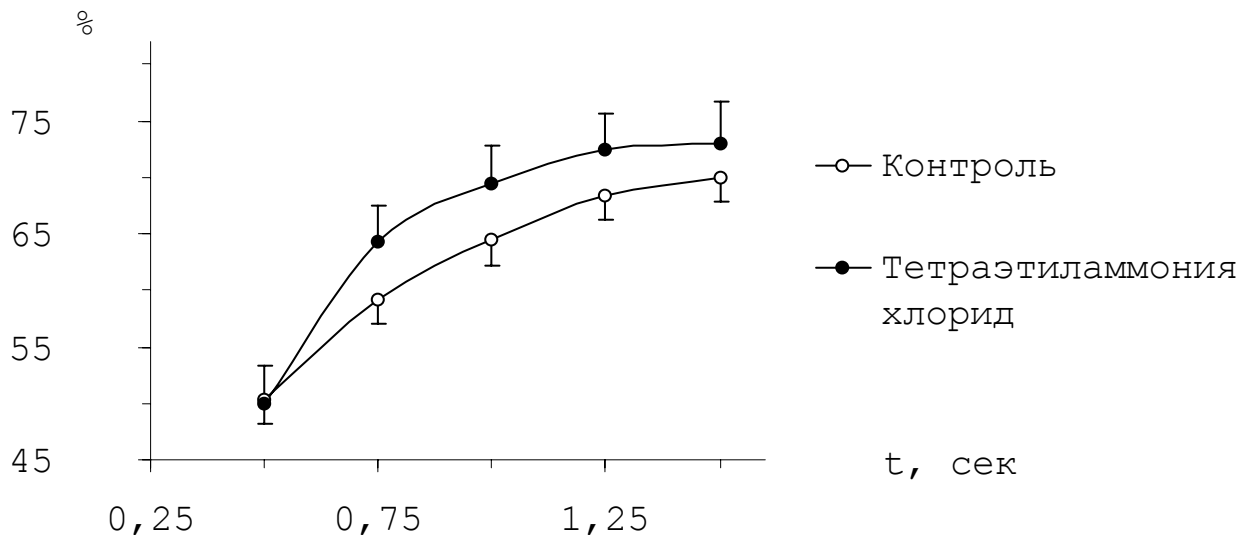
**Рис. 9.** Влияние кофеина и амиодарона на фоне кофеина на амплитуду внеочередного сокращения.

По оси абсцисс – ЭС интервал; по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

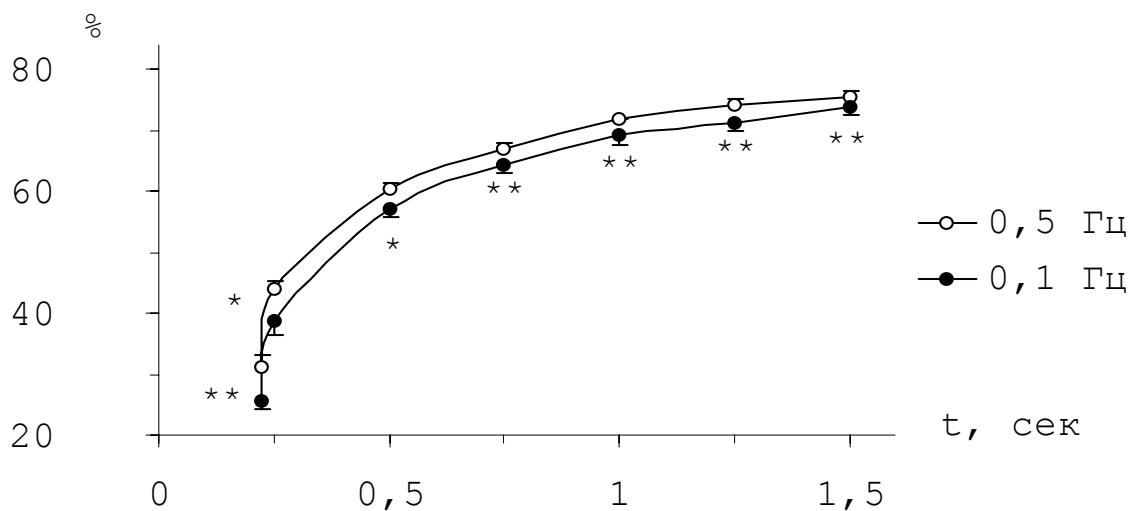
Уменьшение захвата  $\text{Ca}^{2+}$  саркоплазматическим ретикулу-мом кардиомиоцитов [86, 92, 165] и увеличение утечки  $\text{Ca}^{2+}$  из СПР в интервалах между сокращениями миокарда, обработанного кофеином [19, 54, 86, 17, 165], в наших исследованиях привело к возрастанию зависимости процесса сокращения от  $\text{Ca}^{2+}$  входящего в миоплазму из экстрацеллюлярного пространства. В результате чего амплитуда внеочередного сокращения на фоне действия кофеина стала в процентном отношении значительно больше, чем в контроле (рис. 9). Следует заметить, что добавление амиодарона в перфузионный раствор на фоне развившегося эффекта кофеина не оказало влияния на величину инотропного ответа папиллярной мышцы крысы, развиваемого в результате внеочередного воздействия (рис. 9). Поскольку известно, что кофеин не оказывает влияния на структуру трансмембранного ПД клеток миокарда [32], объяснить наблюдаемое явление можно разнонаправленным с кофеином воздействием амиодарона на функциональное состояние саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов.

В экспериментах, проведенных в рамках нашего исследования с блокатором  $\text{K}^+$ -каналов – тетраэтиламмония хлоридом, обнаружено отсутствие инотропной реакции папиллярной мышцы крысы на внеочередное воздействие электрических импульсов через 0,2 с и 0,225 с от начала очередного стимула. Данный факт, скорее всего, может быть связан с попаданием стимулирующего импульса в фазу абсолютной рефрактерности ПД клеток сердца крысы в результате действия ТЭА на  $\text{K}^+$ -токи реполяризации. Однако на остальных ЭС интервалах амплитуда внеочередного сокращения на фоне ТЭА в концентрации 1 мг/мл не имела существенных отличий от контрольных значений (рис. 10). Из этого можно предположить,

что причиной снижения амплитуды ЭС сокращений миокарда крысы под действием биологически активных веществ не является только их влияние на  $K^+$ -токи клеточной мембраны.



**Рис. 10.** Влияние тетраэтиламмония хлорида на амплитуду внеочередного сокращения. По оси абсцисс – ЭС интервал; по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ .



**Рис. 11.** Влияние частоты стимулирующих импульсов на амплитуду внеочередного сокращения.

По оси абсцисс – ЭС интервал; по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

В наших опытах на папиллярных мышцах крысы изменение частоты регулярных импульсов с 0,5 Гц на 0,1 Гц сопровождалось небольшим снижением амплитуд экстрасистолических сокращений на соответствующих ЭС интервалах (рис. 11). Данный факт, согласно литературным данным, свидетельствует о влиянии частоты стимуляции на продолжительность потенциала действия в результате уменьшения времени между стимулами и попадания внеочередного электрического импульса в фазу меньшей возбудимости миокарда [37]. Следует заметить, что оказываемое негативное действие амиодарона на амплитуду ЭС сокращения, по нашим данным, не зависело от частоты регулярных стимулов (таб. 8). Полученные в экспериментах на миокарде предсердия крысы данные (таб. 9) позволяют сделать вывод о независимости этого влияния также и от локализации кардиомиоцитов.

В качестве инструмента, позволяющего исследовать изменения функционального состояния саркоплазматического ретикулума, широко используется постэкстрасистолический тест [86,126,159,160,179]. По данным литературы, эффект ПЭС потенциации инотропного ответа сердечной мышцы связан с поступлением в миоплазму дополнительного  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного пространства во время ПД внеочередного сокращения [126]. Вошедшие в кардиомиоцит ионы кальция депонируются в саркоплазматическом ретикулуме, что увеличивает вклад СПР в первом постэкстрасистолическом цикле сокращение-расслабление. Считается, что эффект ПЭС потенциации отражает способность саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов аккумулировать дополнительное количество  $\text{Ca}^{2+}$  [86,126,131].

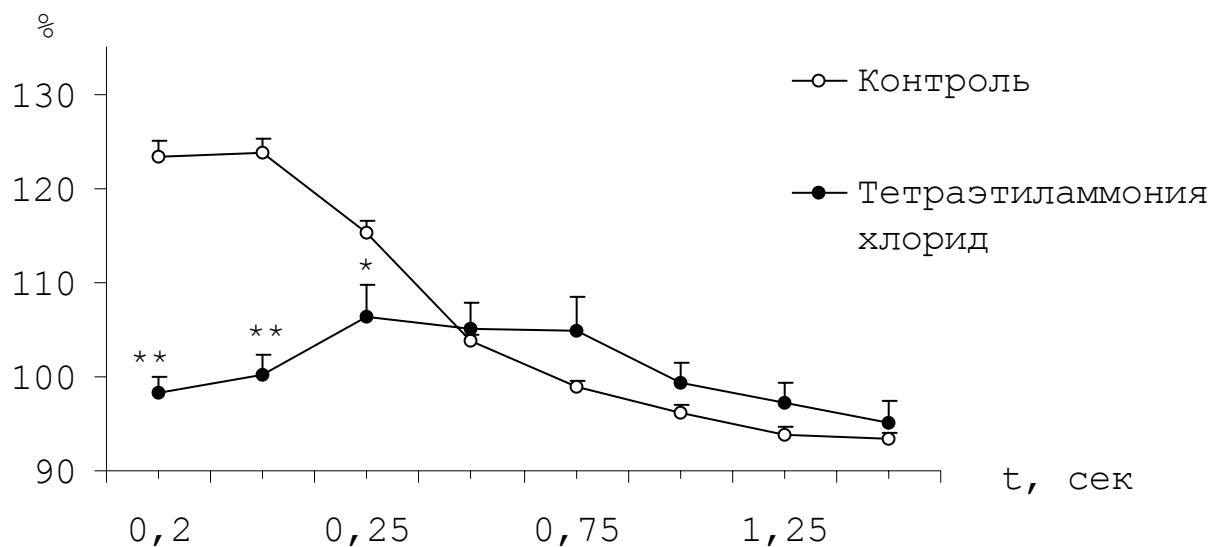
Подобная точка зрения вполне согласуется с результа-

тами, полученными нами в экспериментах на обработанных тетраэтиламмония хлоридом папиллярных мышцах крысы. Действительно, в опытах с ТЭА внеочередные импульсы стимуляции, нанесенные через 0,2 с и 0,225 с от начала регулярного сокращения, не способствовали появлению внеочередного потенциала действия, вход дополнительного количества ионов кальция из внеклеточного пространства не осуществлялся и эффект ПЭС потенциации отсутствовал (рис. 12). Напротив, в контрольных экспериментах максимальная величина ПЭС потенциации соответствовала именно ЭС интервалам, равным 0,2 с и 0,225 с. Снижение амплитуды постэкстрасистолического сокращения ниже величины регулярного сокращения на ЭС интервалах более 1 с, видимо, связано с укорочением времени ПЭС интервала и, как указывалось выше, снижением количества реактивированных  $Ca^{2+}$ -каналов клеточной мембраны и/или мембраны СПР КМ, а также незавершенностью процесса переноса ионов кальция внутри СПР от мест захвата к местам его выброса в миоплазму кардиомиоцита [178].

Усиление ПЭС потенциации после обработки папиллярных мышц крысы амиодароном демонстрирует наличие дополнительного количества ионов кальция, запасенного в СПР по сравнению с контролем (рис. 13), и может быть обусловлено увеличением функциональной способности СПР кардиомиоцита.

В экспериментах с нибентаном, проведенных нами на папиллярных мышцах крысы, также наблюдалось характерное увеличение амплитуды постэкстрасистолического сокращения (рис. 14). Следует отметить, что влияние нибентана на величину потенциации ПЭС сокращения не имело столь существенной зависимости от концентрации этого антиаритмиче-

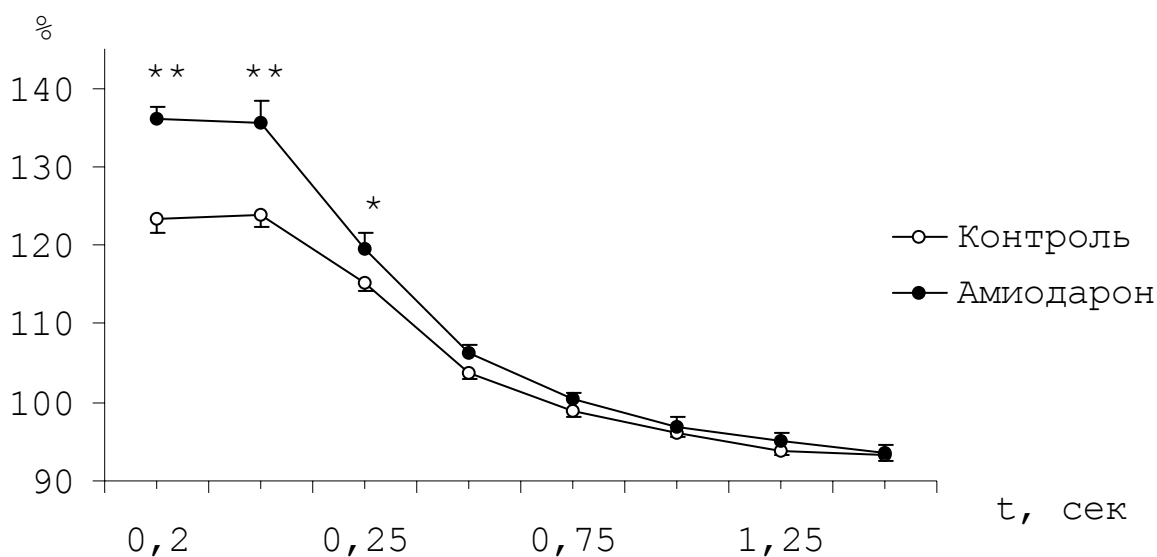
ского препарата в перфузионном растворе, как величина амплитуды ЭС сокращения (рис. 8). Более того, полученные в опыте с нибентаном данные сопоставимы с полученными при использовании амиодарона (таб. 10), что может свидетельствовать о достижении порога насыщения СПР КМ под действием используемых нами доз амиодарона и нибентана.



**Рис. 12.** Влияние тетраэтиламмония хлорида на величину постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы.

По оси абсцисс – время ЭС интервала; по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* – достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

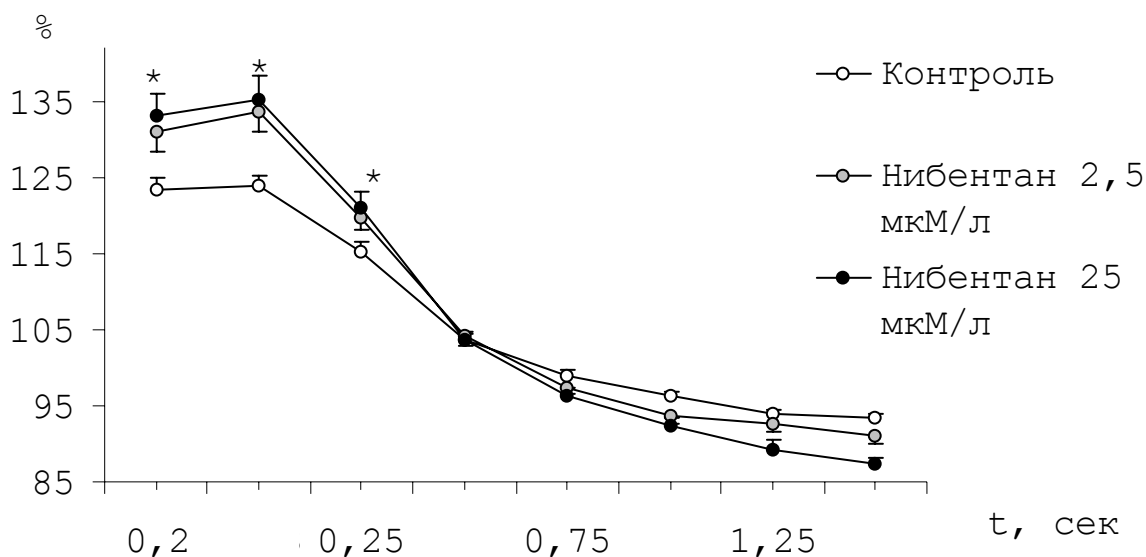
В проведенном нами исследовании добавление кофеина в перфузионный раствор уменьшало вклад СПР КМ в постэкстрасистолическое сокращение папиллярных мышц крысы, что отражает нарушение процесса аккумуляции  $\text{Ca}^{2+}$  саркоплазматическим ретикулумом [86,126,131]. Однако, последующая обработка мышечных препаратов амиодароном приводила к восстановлению эффекта ПЭС потенциации практически до исходных величин (рис. 15), что, по всей видимости, свидетельствует о нормализации функционального состояния саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов.



**Рис. 13.** Влияние амиодарона на величину постэкстрасистолической потенциации папиллярной мышцы крысы.

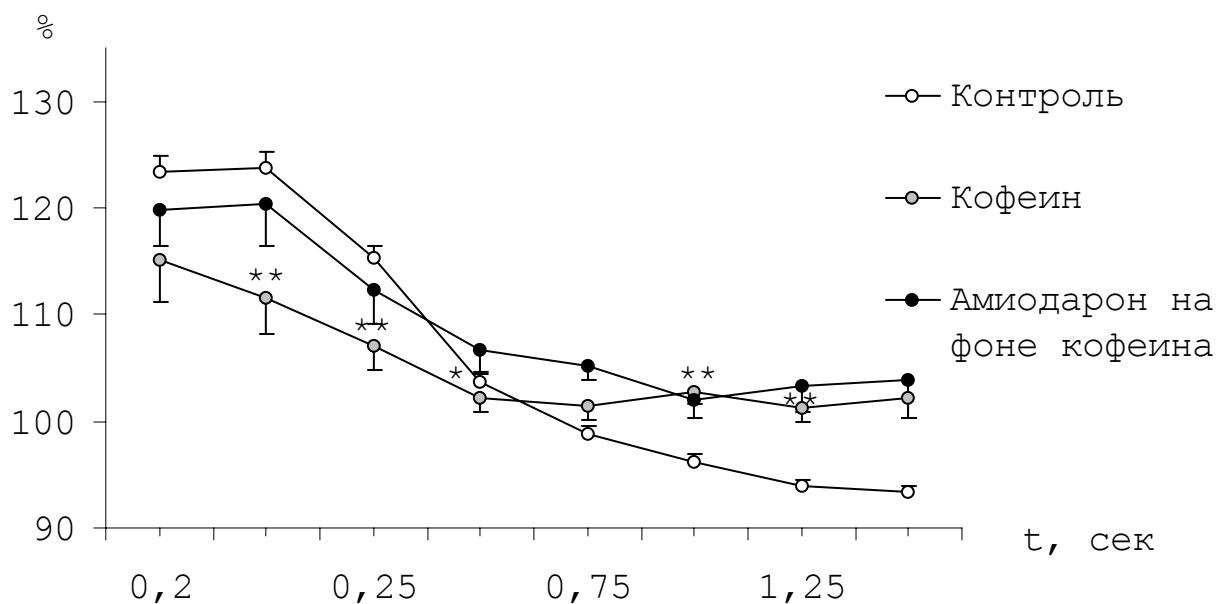
Обозначения те же что и на рис. 12. \* – достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .





**Рис. 14.** Влияние нибентана (2,5 мкМ/л и 25 мкМ/л) на величину постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы.

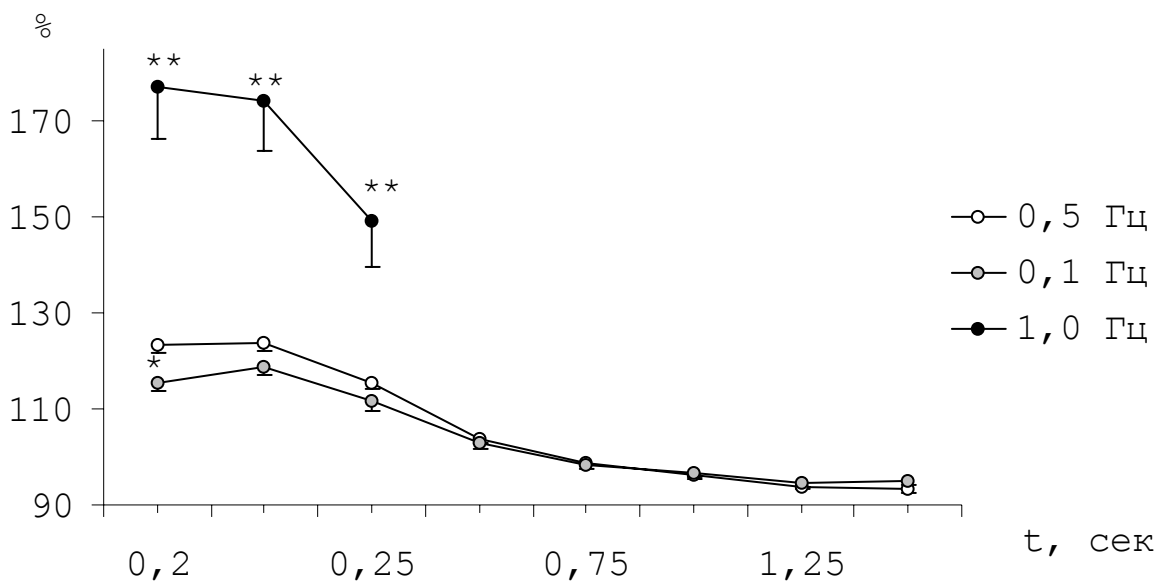
Обозначения те же что и на рис. 12. \* - достоверность различий  $p < 0,01$ .



**Рис. 15.** Влияние кофеина и амиодарона на фоне кофеина на величину постэкстрасистолической потенции папиллярной мышцы крысы.

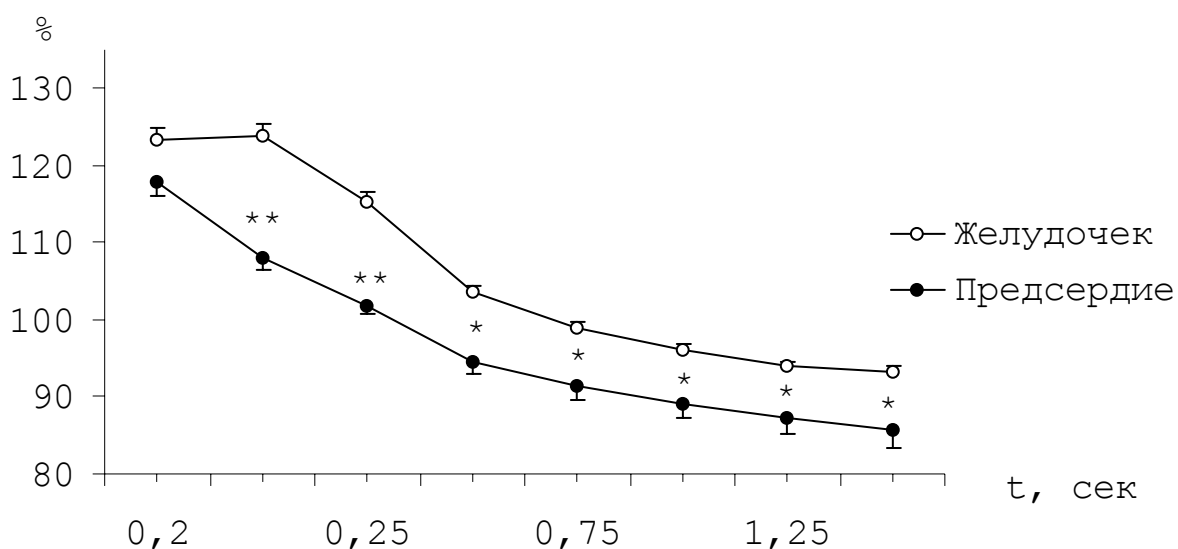
Обозначения те же что и на рис. 12. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

Использование для регулярной стимуляции папиллярных мышц частот 0,1 Гц и 1,0 Гц позволило выявить зависимость эффекта ПЭС потенциации от частоты регулярных стимулов (рис. 16). Уменьшение интервала между сокращениями является причиной увеличения стационарной концентрации ионов натрия во внутриклеточном матриксе, что снижает трансмембранный градиент  $\text{Na}^+$  и переводит равновесный потенциал  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника на более негативный уровень [67,127,152]. Запуск подобного механизма может ингибировать выход  $\text{Ca}^{2+}$  и/или способствовать входу дополнительного  $\text{Ca}^{2+}$  через обменник в течение периода покоя и вести к увеличению количества ионов кальция в СПР кардиомиоцитов [127].



**Рис. 16.** Влияние частоты стимуляции на величину постэкстрасистолической потенциации папиллярной мышцы крысы. Обозначения те же что и на рис. 12. \* – достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

С целью изучения характерных особенностей протекания ритмоинотропных феноменов на различных типах миокардиальной ткани мы провели исследования на предсердном миокарде крысы. Согласно полученным результатам, эффект ПЭС потенциации на миокарде предсердия был значительно менее выражен по сравнению с миокардом желудочка (рис. 17). Данный факт может свидетельствовать либо о более низком функциональном резерве СПР КМ предсердия в связи с большей по сравнению с миокардом желудочка зависимостью их сократительной активности от рециркулирующего  $Ca^{2+}$  СПР [57, 66,122], либо являться следствием невозможности вызвать дополнительный приток  $Ca^{2+}$  через сарколемму в ответ на используемые в наших экспериментах внеочередные импульсы из-за укороченных ПД в предсердиях крысы [61, 66, 118, 127].



**Рис. 17.** Влияние типа миокардиальной ткани на величину постэкстрасистолической потенциации.

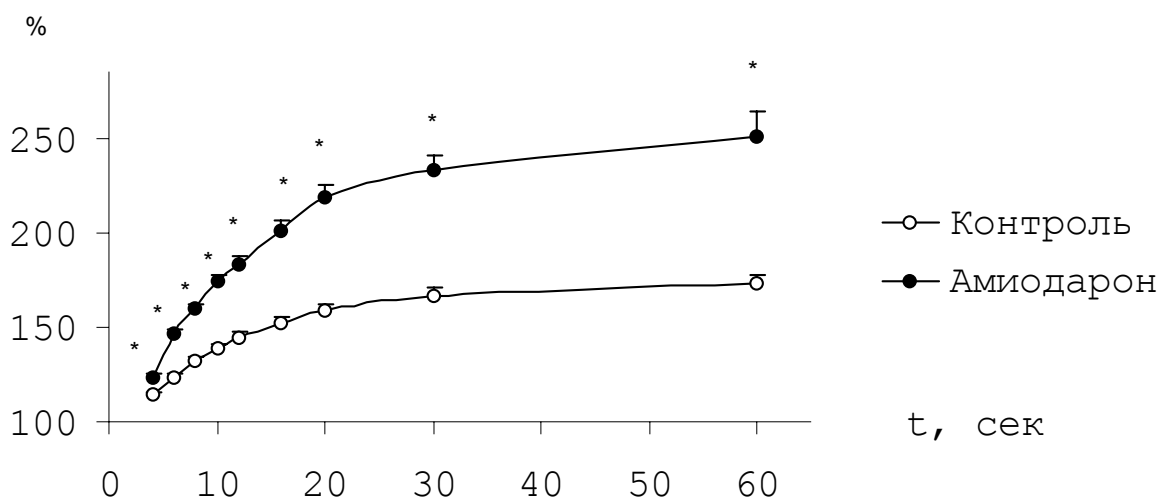
Обозначения те же что и на рис. 12. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

Влияние амиодарона на функциональную способность СПР КМ подтверждается в экспериментах, проведенных нами на миокарде предсердия больных ИБС (таб. 14).

Дальнейшее изучение функционального состояния СПР КМ было проведено нами с использованием теста POST-REST. Ряд исследований, выполненных с использованием этого теста показало, что инотропный ответ мышечных полосок на возобновление электрической стимуляции после периода покоя характеризует способность СПР КМ накапливать и удерживать ионы кальция [65,131,178]. Наблюдаемый феномен прироста амплитуды в ответ на возобновление стимуляции связывают с тем, что период покоя распад комплексов  $\text{Ca}^{2+}$  с  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающими белками способствует притоку дополнительного количества ионов кальция из саркоплазмы в СПР КМ и увеличению уровня  $\text{Ca}^{2+}$ , депонированного в терминальных цистернах [47]. Кроме того, увеличение продолжительности интервала покоя обеспечивает время, необходимое для перемещения ионов кальция от мест захвата к местам их выброса из СПР и, как следствие, возрастанию в терминальных цистернах пула  $\text{Ca}^{2+}$ , высвобождающемуся во время первого после периода покоя сокращения [65,127]. Поскольку для реактивации  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов СПР КМ тоже требуется время, увеличение продолжительности интервала покоя между сокращениями может способствовать возрастанию активированных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов клеточной мембраны и мембраны СПР, обеспечивая тем самым большее количество ионов кальция, входящих в цитозоль из терминальных цистерн ретикулума и внеклеточного пространства [66].

В экспериментах, проведенных нами на папиллярных мышцах крыс, амплитуда первого после периода покоя сокраще-

ния превышала базовый уровень амплитуды независимо от длительности используемых интервалов покоя (рис. 18). При этом, с увеличением длительности периода покоя выраженность эффекта потенциации росла, а скорость прироста амплитуды снижалась, что может свидетельствовать о достижении порога насыщения СПР кардиомиоцитов ионами кальция.



**Рис. 18.** Кривые механической реституции папиллярной мышцы крысы в контроле и опыте с амиодароном.

По оси абсцисс – продолжительность паузы; по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. \* – достоверность различий с контролем  $p < 0,01$ .

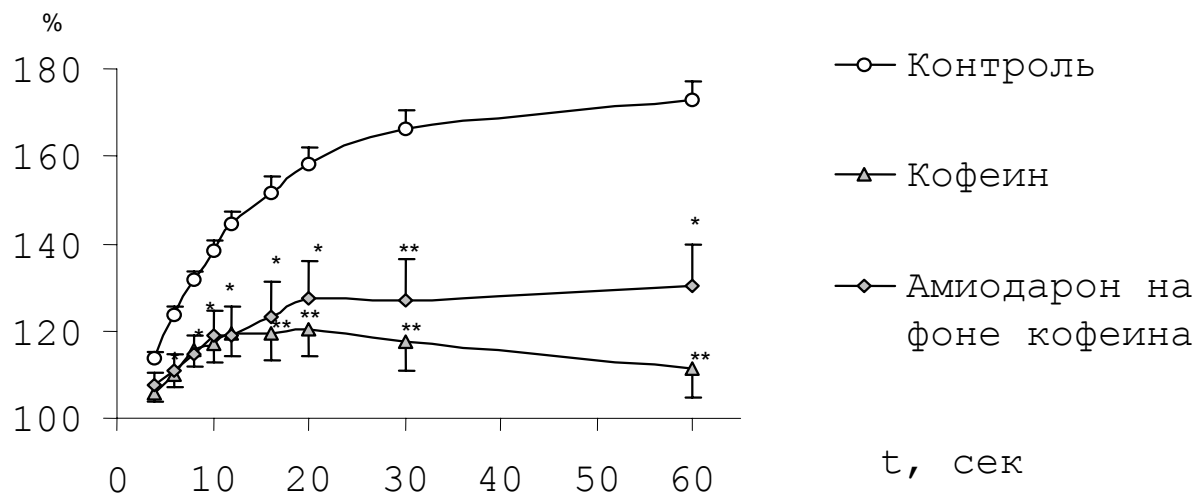
Перфузия мышечных полосок амиодароном вызвала усиление эффекта потенциации на всем диапазоне используемых интервалов покоя и увеличение порога насыщения СПР КМ ионами кальция (рис. 18). Однако время  $t_2(T_{50})$ , отражающее скорость захвата ионов кальция ретикулумом в период между сокращениями [67,127,152], в контроле и на фоне амиодарона достоверно не различалось ( $11,56 \pm 0,637$  с и  $10,87 \pm 0,761$

с, соответственно). Кроме того, не изменилась рециркулирующая фракция внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ , вычисляемая как коэффициент спада силы сокращений потенцированных одной минутной паузой [178]. Полученные данные свидетельствуют, что как в контроле, так и после обработки мышц амиодароном до 62% ионов кальция из миоплазмы ресеквестрируется обратно в СПР КМ, а 38% - выбрасывается во внеклеточное пространство  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменником.

Описанные факты позволяют предположить, что амиодарон способствует более эффективному "сохранению" ионов кальция в СПР кардиомиоцитов и не оказывает существенного влияния на способность ретикулума захватывать ионы кальция из миоплазмы.

Подтверждением этому предположению может служить изменение динамики кривой механической реституции обработанного кофеином миокарда крысы (рис. 19). Перфузия мышц раствором, содержащим кофеин, снижала амплитуду потенцируемых сокращений, уменьшая наклон восходящей части реституционной кривой, и способствовала появлению нисходящего участка кривой на длительных интервалах покоя (рис. 19). Объяснение наблюдаемого феномена может заключаться в ингибировании захвата  $\text{Ca}^{2+}$  транспортными системами СПР КМ [86, 92, 165] и усилении процесса высвобождения ионов кальция из терминальных цистерн саркоплазматического ретикулума во время периода покоя, а в итоге уменьшается вклад СПР кардиомиоцитов в процесс сокращения [19, 86, 157, 165]. Исчезновение нисходящей части кривой реституции на длительных интервалах покоя (рис. 19) при добавлении амиодарона в перфузионный раствор на фоне действия кофеина, по нашему мнению, может свидетельствовать об устранении пре-

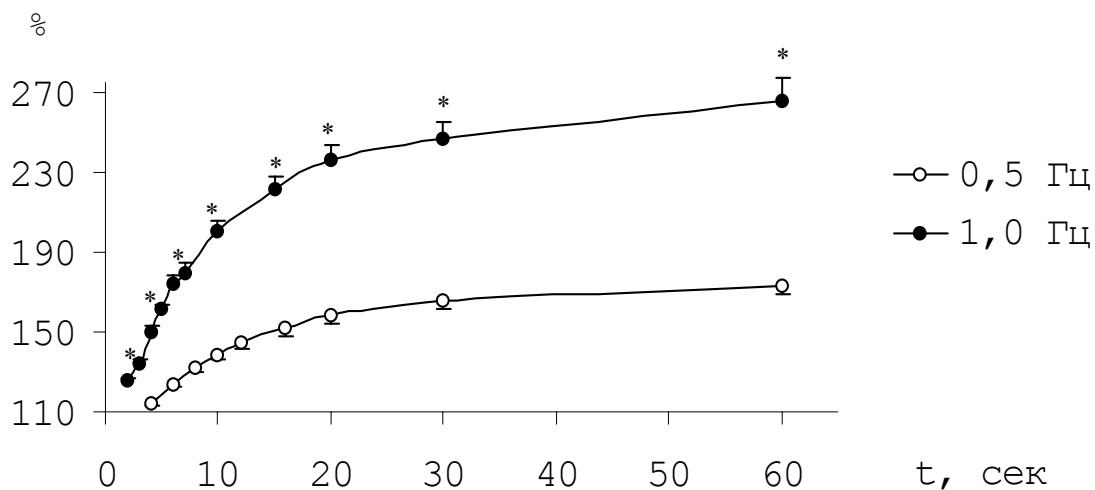
обладания тока утечки ионов кальция из ретикулула кардиомиоцитов над процессом дополнительного поступления  $\text{Ca}^{2+}$  в СПР из миоплазмы.



**Рис. 19.** Кривые механической релаксации папиллярной мышцы крысы в контроле и опыте с кофеином и амиодароном.

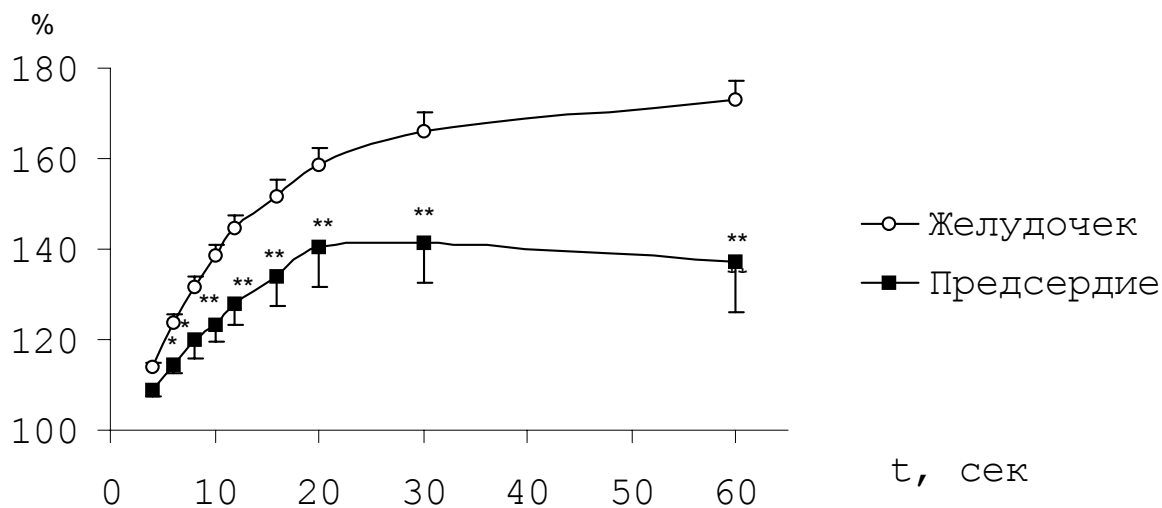
Обозначения те же что и на рис. 18. \* — достоверность различий с контролем  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ .

Увеличение частоты регулярных сокращений, как указывалось выше, может служить причиной роста концентрации ионов кальция во внутриклеточном матриксе [127]. Данные, полученные в результате проведенного нами исследования, подтверждают это предположение. Как видно из рис. 20, кривая механической релаксации папиллярной мышцы крысы, полученная на частоте стимуляции 1,0 Гц, имела более высокие значения на соответствующих интервалах покоя по сравнению с релаксационной кривой на частоте 0,5 Гц. Несмотря на то, что при изменении стационарной частоты стимуляции в



**Рис. 20.** Влияние частоты стимулирующих импульсов на кривую механической реституции папиллярной мышцы крысы.

Обозначения те же что и на рис. 18. \* - достоверность различий  $p < 0,01$ .



**Рис. 21.** Кривые механической реституции папиллярной мышцы крысы и предсердного миокарда крысы.

Обозначения те же что и на рис. 18. \* - достоверность различий с контролем  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ .



контрольных условиях с 0,5 Гц на 1,0 Гц произошло уменьшение амплитуды регулярных сокращений на  $24,9 \pm 1,80\%$ , величина потенциации покоем после одноминутного периода покоя увеличилась более чем на 90%. Данный факт свидетельствует о возможности увеличения порога насыщения СПР КМ вследствие действия внутриклеточных гомеостатических механизмов, регулирующих буферные способности СПР КМ и реализующихся в результате изменения стационарных ионных концентраций внутри клетки [37]. Помимо увеличения функционального резерва СПР кардиомиоцитов, с ростом частоты стимуляции уменьшилось время  $t_2(T_{50})$  с  $11,56 \pm 0,637$  с до  $7,79 \pm 0,570$  с, что также может служить объяснением возросшего вклада СПР КМ в первое после паузы сокращение.

Согласно полученным в нашем исследовании результатам, добавление амиодарона и нибентана в перфузионный раствор увеличивало эффект потенциации покоем на частоте стимулирующих импульсов 1,0 Гц (таб. 18). Соответственно, можно высказать предположение о том, что антиаритмические препараты III класса амиодарон и нибентан увеличивают буферную способность СПР кардиомиоцитов не зависимо от используемой частоты регулярных сокращений.

Известно, что процесс сокращения предсердного миокарда в большей степени обеспечивается  $Ca^{2+}$ , рециркулирующим в СПР кардиомиоцитов [66,127], а скорость захвата ионов кальция СПР КМ предсердия выше [132]. Следовательно, функциональный резерв саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов предсердия меньше, чем СПР кардиомиоцитов папиллярной мышцы крысы и достигается он быстрее. Данные, полученные нами в экспериментах на предсердиях крысы, со-

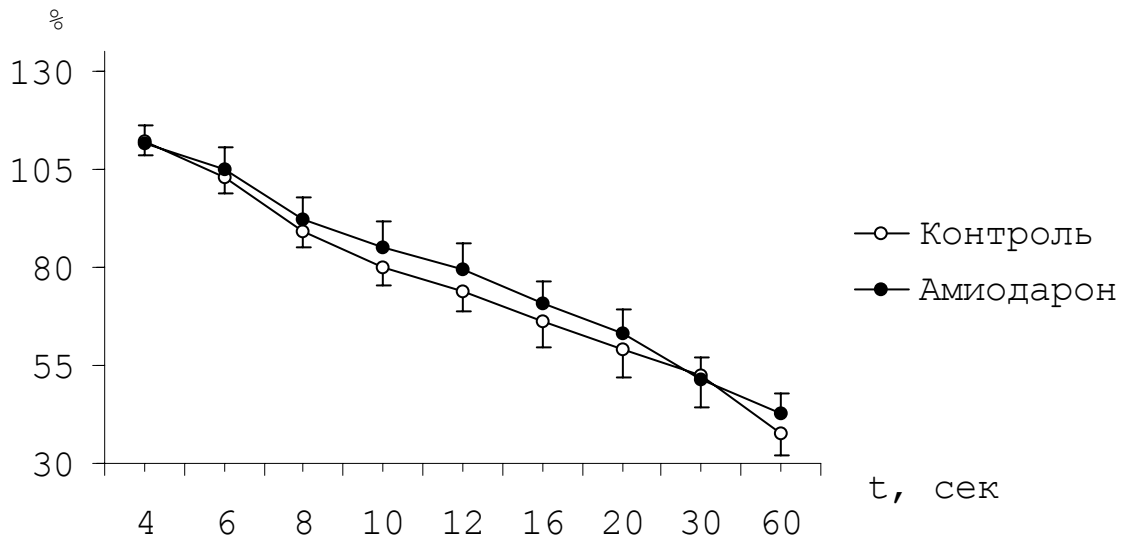
гласуются с этими предположениями и, как видно из рис. 21, кривая механической релаксации миокарда предсердия крысы носит более сглаженный характер по сравнению с релаксационной кривой папиллярной мышцы крысы. Кроме того, на длительных интервалах покоя процесс утечки ионов кальция из везикул СПР и последующее удаление  $\text{Ca}^{2+}$  из клетки через  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник преобладает над пополнением запаса  $\text{Ca}^{2+}$  в ретикулуле. Данное явление имеет свое отражение в нисходящей ветви релаксационной кривой миокарда предсердия крысы (рис. 21).

Поскольку снижение амплитуды первого после периода покоя сокращения, наблюдаемое нами на фоне действия кофеина, устранялось последующим добавлением амиодарона в перфузионный раствор в опытах на мышечных полосках предсердия крысы (таб. 19), есть основание говорить о влиянии амиодарона на буферную способность СПР КМ, не зависящую от локализации кардиомиоцитов.

Часть экспериментов нашего исследования была проведена на миокарде предсердия больных ИБС. Полученные нами данные выявили наличие двух типов реакций мышечных полосок в ответ на возобновление стимуляции после периода покоя (таб. 20). Первый тип реакции мышечных полосок характеризовался резким снижением амплитуд первых после периода покоя сокращений, снижаясь до  $37,6 \pm 5,47\%$  на одноминутном интервале покоя. Для второго типа спад значений амплитуд первых после периода покоя сокращений не было столь значительным ( $95,01 \pm 12,80\%$ ). Кроме того, обнаруженные два типа реакций мышечных полосок отличались по влиянию амиодарона на выраженность кривой механической релаксации миокарда больных ИБС. В то время как для миокарда

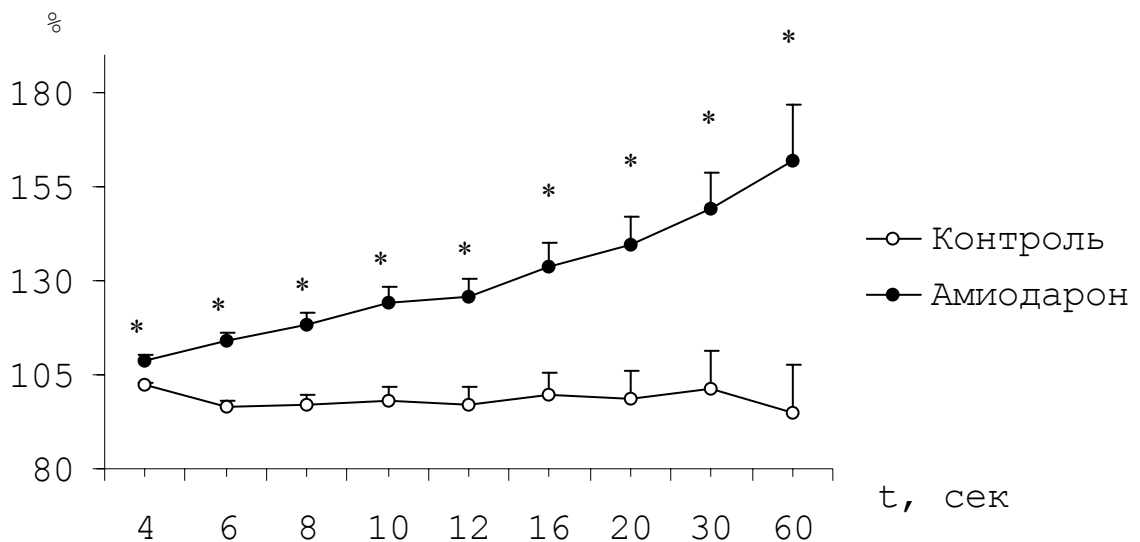
предсердия с первым типом реакции влияние амиодарона на кривую механической релаксации не являлось существенным (рис. 22), увеличение вклада СПР КМ в первое после периода покоя сокращение на фоне действия амиодарона в опытах на миокарде предсердия со вторым типом реакции могло свидетельствовать об увеличении буферной способности СПР кардиомиоцитов, связанной с уменьшением потерь ионов кальция из ретикулума во время периода покоя (рис. 23). Изменение чувствительности мышечных препаратов к влиянию амиодарона может быть следствием разницы в протекании адаптивных процессов, происходящих на уровне мембраны саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов в результате патологических процессов в миокарде больных ИБС [44,45].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что антиаритмические препараты III класса амиодарон и нибентан, препятствуя свободному току утечки ионов кальция из СПР КМ между сокращениями, способствуют увеличению буферной способности саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов.



**Рис. 22.** Влияние амиодарона на кривую механической реституции патологического миокарда I типа предсердия человека.

Обозначения те же что и на рис. 18.



**Рис. 23.** Влияние амиодарона на кривую механической реституции патологического миокарда II типа предсердия человека.

Обозначения те же что и на рис. 18. \* - достоверность различий  $p < 0,05$ .

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Механизм противоаритмического действия антиаритмических препаратов III класса в настоящее время связывается с увеличением продолжительности ПД клеток миокарда и специализированной проводящей системы сердца за счет удлинения фазы реполяризации [7,26,39,42,48,51]. Другие же механизмы, вовлекаемые в этот процесс и не связанные с влиянием антиаритмических препаратов на клеточную мембрану, изучены недостаточно. Одной из причин аномального образования импульсов является триггерная активность кардиомиоцитов, которая может быть вызвана спонтанным выбросом  $\text{Ca}^{2+}$  из везикул СПР КМ [87,101].

В связи с вышесказанным, несомненный интерес представляет изучение влияния популярного антиаритмического препарата амиодарона [4] и первого отечественного ААП III класса нибентана [42] на функциональное состояние СПР кардиомиоцитов.

Согласно данным, полученным на скинированных кардиомиоцитах крысы, амиодарон и его активный метаболит, деэтиламиодарон, обладают ингибирующим действием на способность СПР КМ крысы аккумулировать ионы кальция [166]. Однако в нашем исследовании на изолированном перфузируемом миокарде крысы амиодарон и нибентан усиливали  $\text{Ca}^{2+}$ -аккумулирующую способность саркоплазматического ретикулула кардиомиоцитов.

С целью изучения предполагаемых механизмов влияния ААП III класса на функциональное состояние СПР КМ, нами было проведено сравнительное исследование эффектов амиодарона и нибентана с действием неспецифического блокатора

$K^+$ -каналов тетраэтиламмония хлорида. В ходе проведенных экспериментов было показано, что обнаруженное нами влияние амиодарона и нибентана на функциональное состояние СПР КМ не связано с блокадой  $K^+$ -каналов мембраны кардиомиоцитов.

Дальнейшее исследование возможного механизма действия амиодарона на функциональное состояние СПР КМ, проведенное в условиях функционального ингибирования саркоплазматического ретикулума, выявило влияние амиодарона на способность СПР КМ «удерживать» ионы кальция.

По данным ряда исследований, в результате адаптивных процессов, протекающих в кардиомиоцитах при органических заболеваниях сердца, происходит изменение функционального состояния СПР КМ [85,97,135], что, в свою очередь, оказывает существенное влияние на эффект фармакологических препаратов [23].

Учитывая полученные нами данные, можно констатировать, что в результате патологических процессов, протекающих в миокарде больных ИБС, функциональное состояние СПР КМ меняется. Кроме того, нам удалось экспериментально показать, что изменение функционального состояния саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов больных ИБС оказывает влияние на проявление эффектов амиодарона.

Анализ полученных результатов и сопоставление их с литературными данными позволяют нам предположить, что влияние ААП III класса на функцию саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов в условиях истощения адаптивных возможностей СПР КМ может служить одной из причин аритмогенного действия препаратов этой группы [23,34,109,180].

Заключая обсуждение нашей работы, необходимо подчеркнуть, что более глубокое изучение влияния амиодарона и нибентана на функциональное состояние СПР кардиомиоцитов здорового и патологически измененного миокарда позволит расширить существующие представления об альтернативных (не связанных с сарколеммой) механизмах действия ААП III класса. Использование полученных нами результатов в лабораториях экспериментальной фармакологии поможет создать предпосылки для разработки новых антиаритмических препаратов с учетом всех молекулярных взаимодействий, происходящих на уровне внутриклеточных структур кардиомиоцитов.

**ВЫВОДЫ**

1. На изолированном перфузируемом миокарде крысы амиодарон и нибентан усиливают способность саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов аккумулировать ионы кальция. Влияние амиодарона и нибентана на функцию СПР не зависит от локализации кардиомиоцитов и частоты стимулирующих импульсов.
2. В условиях функционального ингибирования СПР КМ изолированного миокарда крысы усиление  $\text{Ca}^{+2}$ -аккумулирующей способности саркоплазматического ретикулума на фоне амиодарона связано с «удержанием» ионов кальция в терминальных цистернах СПР кардиомиоцитов.
3. На изолированном миокарде крысы время транспортировки ионов кальция внутри СПР КМ от мест захвата к местам выброса уменьшается на фоне амиодарона и нибентана и не изменяется под влиянием блокатора  $\text{K}^{+}$ -каналов тетраэтиламмония хлорида.
4. Изменение функционального состояния саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов больных ИБС проявляется в двух типах инотропных реакций в ответ на возобновление стимуляции после периода покоя 60 секунд. Реакция миокарда I-го типа характеризуется резким падением сокращения на 62,4%, снижение амплитуды сокращения миокарда II-го типа составляет в среднем 5,0%.
5. Влияние амиодарона на амплитуду первого после периода покоя сокращения зависит от функционального состояния саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов больных ИБС. У миокарда I-го типа амплитуда сокращения на фоне



амиодарона не изменяется. Амплитуда сокращения миокарда II-го типа под влиянием амиодарона увеличивается по сравнению с контролем.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Архипенко Ю.В., Сазонтова Т.Г., Рожницкая И.И., Меерсон Ф.З. Влияние адаптации к периодической гипоксии на  $\text{Ca}^{+2}$ -насос саркоплазматического ретикулума сердца и его устойчивость к эндогенным повреждающим факторам. Кардиология 1992; 6: 57-61.
2. Багель И.М. Влияние мерказолила и тиреопаратреодэктомии на свойства  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы саркоплазматического ретикулума скелетной мышцы. Проблемы эндокринологии 1999; 3: 38-42.
3. Беленков Ю.Н., Сангонова Д.Ф., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Сравнительное исследование длительного применения соталола, метопролола и амиодарона у больных с тяжелой сердечной недостаточностью и прогностически опасными желудочковыми нарушениями ритма сердца. Кардиология 1996; 12: 37-48.
4. Белоусов Ю.Б. Амиодарон и доказательная медицина. Клиническая фармакология и терапия 1999; 8(4): 8-12.
5. Бершова Т.В. Клеточный метаболизм миокарда при эктопических аритмиях у детей. Автореф. дис. д.м.н. - М., 1995.- 34 с.
6. Бершова Т.В., Баканова М.И., Сербин В.И. с соавт. Физиологические и молекулярные основы физиотерапевтической коррекции эктопических аритмий сердца у детей. Педиатрия 1998; 4: 55-59.
7. Богданов К.Ю., Виноградова Т.М., Розенштраух Л.В. Нибентан уменьшает калиевый ток задержанного выпрямления у кардиомиоцитов желудочка крысы. Кардиол. 1997; 4: 28-33.

8. Богданов К.Ю., Захаров С.И., Зайцев А.В., Розенштраух Л.В. Флуктуации мембранного потенциала кардиомиоцитов крысы // Докл. АН СССР.- 1986.- Т. 291.- № 3.- С. 731-734.
9. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. - М., 1985.
10. Буйа Л.М. Основные патологические процессы в миокарде. Связь с миокардиопатиями. // В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1988.- Т.1.- С.67-89.
11. Гистология// Под.ред. Э.Г. Улумбекова, проф. Ю.А. Чельшева- М.,- 1998.- 672 с.
12. Глушков Р.Г., Голицын С.П., Дородникова Е.В. и др. Первый оригинальный отечественный антиаритмик III класса нибентан. Вестник РАМН 1998;11: 38-41.
13. Голанцева Н.Е., Сазонтова Т.Г. Изменение резистентности  $Ca^{+2}$ -транспортирующей системы саркоплазматического ретикулума при «срочной» и «долговременной» адаптации к физической нагрузке. Бюлл эксперим биол и мед 1998; 1: 40-44.
14. Голицын С.П., Малахов В.И., Бакалов С.А. и др. Диагностика и возможности противоаритмического лечения злокачественных желудочковых нарушений ритма сердца. Тер арх 1991; 63: 38-44.
15. Гуссель В.А., Маркова И.В. Справочник педиатра по клинической фармакологии. - Л.: "Медицина", 1989; 320с.
16. Исаков И.И., Кушаковский М.С. , Журавлева Н.Б. Клиническая электрокардиография. Нарушение сердечного ритма и проводимости. -Л.: Медицина, 1984.- 272 с.

17. Каверина Н.В. Антиаритмические средства: итоги и перспективы. Эксп. и клин. фармакол. 1994; 5: 12-15.
18. Капелько В.И. Влияние толщины изолированных папиллярных мышц на силу их сокращения при различной частоте. Бюл эксперим биол и мед 1970; 10: 15-18.
19. Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Студнева И.М., Писаренко О.И. Изменение сократительной функции сердца крыс после длительного потребления кофеина. Кардиология 2000; 2: 48-56.
20. Капелько В.И., Новикова Н.А. Влияние кофеина на диастолу и систолу сердец крыс и морских свинок. Физиол журнал СССР 1990; 76: 52-62.
21. Киякбаев Г.К., Курбанов Р.Д., Жалолов Б.З. и др. Возможности комбинации лактата магния и пиридоксина в повышении эффективности и безопасности терапии антиаритмическими препаратами III класса. Кардиология 2001; 11: 62-65.
22. Ковешникова М.Н., Нестеренко Л.Ю., Мазыгула Е.П. и др. Прогнозирование эффективности антиаритмических препаратов I класса и кордарона у больных со злокачественными желудочковыми тахиаритмиями. Ардиология 2001; 11: 57-61.
23. Кушаковский М.С. Аритмии сердца.- СПб: Фолиант.- 1998.- 638 с.
24. Кушаковский М.С., Журавлева Н.Б. Аритмии и блокады сердца (атлас электрокардиограмм).- СПб.: Фолиант, 2000.- 416 с.
25. Майков Е.Б, Бакалов С.А., Британов И.Б. и др. Электрофизиологические и антиаритмические эффекты нового антиаритмического препарата III класса нибентана у

- больных с пароксизмальной желудочковой тахикардией. Кардиол. 1997: 4; 16-27.
26. Майков Е.Б., Бакалов С.А., Крутанов Н.Б. и др. Электрофизиологические эффекты нового антиаритмического препарата III класса нибентана у больных с пароксизмальными желудочковыми тахиаритмиями. Кардиология 1996: 6; 38-50.
27. Майков Е.Б., Голицин С.П., Руда М.Я. и др. Первый опыт изучения в клинике электрофизиологических и антиаритмических эффектов препарата нибентана у больных с пароксизмальными тахиаритмиями. Кардиол. 1995: 5; 10-18.
28. Мархасин В.С., Мильштейн Г.Н. Моделирование влияния ритма на силу сокращений сердечной мышцы. Биофизика 1978: 4; 674-681.
29. Мархасин В.С., Цывьян П.Б., Артемьева О.Г., Мильштейн Г.Н., Соловьева О.Э. К механизму постэкстрасистолической потенциации в сердечной мышце. Физиол Журн СССР 1987: 10; 1339-1344.
30. Матюшкин Д.П. Понятия клеточной физиологии. // В кн.: Общий курс физиологии человека и животных. Под ред. А.Д. Ноздрачева В 2-х книгах. - М.: Высшая школа, 1991. - Кн.1. - С. 32-129.
31. Мацкевич А.А., Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль цитоплазматических факторов в стабилизации  $Ca^{+2}$ -транспортирующей функции саркоплазматического ретикулума миокарда крысы при адаптации к стрессу. Бюлл эксперим биол и мед 1999; 2: 155-159.
32. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2 частях. Ч.1. - Т.: "Медицина", 1989. 624 с.

33. Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. – М.; 1993.
34. Меркулова И.Н., Тарарак А.Э., Коткин К.Л. и др. Клиническое изучение нибентана – нового антиаритмического препарата III класса. Сообщение 3. Эффективность нибентана больных с желудочковыми нарушениями ритма, аритмические эффекты. Кардиол. 1997: 4; 3-15.
35. Мурашко В.В., Струтынский А.В. Электрокардиография. – М.: Медицина, 1991. – 288 с.
36. Ноздрачев А.Д. Введение.// В кн.: Общий курс физиологии человека и животных. Под ред. А.Д. Ноздрачева В 2-х книгах. – М.: Высшая школа, 1991. – Кн.1. – С. 9-30.
37. Орлов Р.С., Изаков В.Я., Кеткин А.Т., Плеханов И.П. Регуляторные механизмы клеток гладкой мускулатуры и миокарда.
38. Певзнер А.В., Бакалов С.А., Малахов В.И. и др. Результаты применения аллапинина, этацизина и боннекора в лечении больных с пароксизмальными желудочковыми тахикардиями при использовании внутрисердечного электрофизиологического исследования в качестве метода контроля. Кардиология 1996; 6: 52-57.
39. Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А., Лебедева О.В., Киктев В.Г. Амиодарон (Кордарон) место в современной антиаритмической терапии. Клиническая фармакология и терапия 1999; 8(4): 2-8.
40. Розенштраух Л.В., Анюховский Е.П., Белошапко Г.Г. и др. Электрофизиологические аспекты кардиотропного действия нового антиаритмического препарата нибентана

- (экспериментальное исследование). Кардиол. 1995; 5: 25-36.
41. Руда М.Я., Меркулова И.Н., Тарарак А.Э. и др. Клиническое изучение нибентана - нового антиаритмического препарата III класса. Эффективность препарата при лечении пациентов с суправентрикулярными аритмиями. 1996; 36: 28-37.
42. Руда М.Я., Меркулова И.Н., Тарарак А.Э. и др. Клиническое изучение нового антиаритмического препарата III класса нибентана. Сообщение 1. Исследование переносимости. Кардиология 1995; 9: 4-15.
43. Рюэгг Й. Мышца. // В кн.: Физиология человека. Под ред. Р. Шмидта и Г. Тевса В 3-х томах. - М.: Мир, 1996. Т.1- С.69-87.
44. Сазонтова Т.Г. Стрессиндуцированные изменения функционирования  $Ca^{++}$ -транспортирующей системы саркоплазматического ретикулума сердца и ее устойчивость к эндогенным повреждающим факторам. Бюл экспер биол 1989; 9: 271-274.
45. Сазонтова Т.Г., Белкина Т.Г., Фу Сянцунь, Меерсон Ф.З  $Ca$ -транспортирующая система и повреждение мембраны саркоплазматического ретикулума левого желудочка крысы при ишемии и реперфузии. Бюлл эксперим биол и мед 1994; 2: 130-135.
46. Сазонтова Т.Г., Голанцова Н.Е., Архипенко Ю.В. Формирование повышенной резистентности  $Ca^{+2}$ -насоса саркоплазматического ретикулума миокарда в динамике адаптации к стрессорным воздействиям. Бюлл эксперим биол и мед 1997; 3: 272-276.

47. Соловьева О.Э., Мархасин В.С., Цывьян П.Б., Келлер Б.Б. Экспериментально-теоретическое исследование связи интервал-сила в развивающемся миокарде ципленка. Биофизика 1999; 2: 337-349.
48. Сулимов В.А. Медикаментозная терапия фибрилляции предсердий: настоящее и будущее. Кардиология 1999; 7: 69-76.
49. Тен Эйк Р.Е., Бассет А.Л. Гипертрофия миокарда и изменение электрической активности кардиомиоцитов// В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1988.- Т.2.- С.168-202.
50. Федоров В.В., Виноградова Т.М., Богданов К.Ю., Розенштраух Л.В. Холинэргическая активность нового отечественного антиаритмического препарата нибентана. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова 1999; 3: 383-394.
51. Федоров В.В., Шарифов О.Ф., Розенштраух Л.В. и др. Изучение отрицательного хронотропного действия нового отечественного антиаритмического препарата III класса нибентана в предсердиях млекопитающих в условиях *in vitro* и *in vivo*. Кардиология 2000; 2: 37-47.
52. Федоров В.В., Шарифов О.Ф., Розенштраух Л.В. и др. Нибентан предотвращает развитие фибрилляции предсердий, вызываемой у собак введением ацетилхолина в артерию синусового узла. Кардиология; 2000; 4: 53-62.
53. Форбс М.С., Сперелакис Н. Ультраструктура миокарда млекопитающих. // В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1988.- Т.1.- С.15-66.



54. Шевчук В.Г., Шмыголь А.В., Верхратский А.Н., Карватский И.Н. Влияние кофеина на хронотропные корреляции в миокарде крыс и морских свинок. Физиол журнал 1994; 39: 37-100.
55. Шубик Ю.В., Михайлова И.Е. Ингибитор ангиотензин-превращающего фермента эналаприл в лечении желудочковых аритмий. Вестник аритмологии 1999; 11: 48-51.
56. Янушкевичус З.И., Бредикис Ю.Ю., Лукошявичюте А.Й., Забела П.В. Нарушения ритма и проводимости сердца. - М.: Медицина, 1984.- 288 с.
57. Agata N., Tanaka H., Shigenobu K. Inotropic effects of ryanodine and nifedipine on fetal, neonatal, and adult guinea-pig myocardium. Eur J Pharmacol 1994; 260: 47-55.
58. Allen D.G., Jewell B.R., Wood E.H. Studies on the contractility of mammalian myocardium at low rates of stimulation. J Physiol 1976; 254: 1-17.
59. Alpert N.R., Blanchard E.M., Mulieri L.A. Tension-independent heat in rabbit papillary muscle. J Physiol 1989; 414: 433-453.
60. Artman M. Sarcolemmal Na(+)-Ca<sup>2+</sup> exchange activity and exchanger immunoreactivity in developing rabbit hearts. Am J Physiol. 1992; 263(5 Pt 2): H1506-H1513.
61. Asgrimsson H., Johannsson M., Arnardottir S. A. Excitation and contraction in atrial and ventricular myocardium of the guinea-pig. Acta Physiol Scand 1995; 153: 133-141.
62. Banijamali H. S., Gao W. D., ter Keurs H. E. D. J. Induction of calcium leak from the sarcoplasmic re-

- ticulum of rat cardiac trabeculae by ryanodine. *Circulation* 1990; 82, Suppl. III: 215.
63. Bassani J. W. M., Yuan W., Bers D. M. Fractional SR Ca release is regulated by trigger Ca and SR Ca content in cardiac myocytes. *Am J Physiol* 1995; 268 (Cell Physiol. 37): C1313-C1329.
64. Berlin J. Spatiotemporal changes of  $Ca^{2+}$  during electrically evoked contractions in atrial and ventricular cells. *Am J Physiol* 269 (Heart Circ. Physiol. 38): H1165-H1170, 1995.
65. Bers D.M. Ca influx and sarcoplasmic reticulum Ca release in cardiac muscle activation during postrest recovery. *Am J Physiol* 1985; 248: H366-H381.
66. Bers D.M. Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic, 1991: 105-118.
67. Bers D.M. Species difference and the role of sodium-calcium exchange in cardiac muscle relaxation. *Ann NY Acad Sci*, 1991; 639; 375-385.
68. Blesa E.S., Langer G.A., Brady A.J., Serena S.D. Potassium exchange in rat ventricular myocardium: its relation to rate of stimulation. *Am J Physiol* 1970; 3: 747-754.
69. Bluhm W. F., Kranias E.G., Dillmann W.H., Meyer M. Phospholamban: a major determinant of the cardiac force-frequency relationship. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278: H249-H255.
70. Bossen E. H., Sommer J. R., Waugh R. A. Comparative stereology of mouse atria. *Tissue Cell* 1981; 13: 71-77.

71. Bowditch H.P. Über die Eigenthümlichkeiten Reizbarkeit, welche die Muskelfasern des Herzen yeigen. Ber.Sächs. Ges. Acad. Wiss. 1871: 1652-1689.
72. Brachmann J., Scherlag B.J., Rosenshtraukh L.V. et al. Bradycardia-dependent triggered activity: relevance to drug-induced multiform ventricular tachycardia. *Circulation* 1983; 4: 846-856.
73. Brillantes AM, Bezprozvannaya S, Marks AR. Developmental and tissue-specific regulation of rabbit skeletal and cardiac muscle calcium channels involved in excitation-contraction coupling. *Circ Res.* 1994; 75(3): 503-510.
74. Brixius K., Pietsch., Schwinger R.H.G. The intracellular  $Ca^{2+}$ -homeostasis influences the frequency-dependent force generation in man. *Basic Res. Cardiol.* 1999; 94: 152-158.
75. Cairns J.A., Connolly S.J., Roberts R., Gent M. For the Canadian Amiodarone Myocardial Infarction Arrhythmia Trial (CAMIAT) Investigators. Randomised trial of outcome after myocardial infarction in patients with frequent or repetitive ventricular premature depolarization: CAMIAT. *Lancet* 1997; 349: 675-682.
76. Camm A.J., Katriotis D., How to prescribe and manage antiarrhythmic drug therapy. *Eur Heart J* 1992; 13: F44-F52.
77. Castell M.K., Gold H. Relation of rhythm to force contraction of mammalian cardiac muscle. *Am J Physiol* 1955; 2: 307-310.
78. Chien K.R., Reeves J.P., Buja L.M. et al. Phospholipid alternations in canine ischemic myocardium: tempo-

- ral and topographical correlations with Tc-99m-Ppi accumulation and an in vitro sarcolemmal Ca permeability defect. - *Circulat Res*, 1981; 48: 711-719.
79. Chin TK, Friedman WF, Klitzner TS. Developmental changes in cardiac myocyte calcium regulation. *Circ Res*. 1990; 67(3): 574-579.
80. Colatsky T.J., Singh B.N. Pharmacology potassium-channel blockers as antiarrhythmic agents. Eds. B.N. Singh et. al. *Texbook of Cardiovascular and Therapeutics*. New York, 1993.
81. Cooper I.C., FryC/H/ Mechanical restitution in isolated mammalian myocardium: species differences and underlying mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22: 439-452.
82. Cranefield P.F. Action potentials, afterpotentials and arrhythmias// *Circulat Res* 1977; 4: 415-423.
83. Cranefield P.F. The conduction of the cardiac impulse// *The slow response and cardiac arrhythmias*.- New York: Mt Kisco, 1975.- P. 199-265.
84. Cunnane T.C., Stjarne L. Frequency dependent intermittency and ionic basis of impulse conduction in postganglionic sympathetic fibres of guinea-pig vas deferens. *Neuroscience* 1984; 11(1): 211-29.
85. De la Bastie D. Levitsky D., Rappoport L. et al. Function of the sarcoplasmic reticulum and expression of its Ca<sup>2+</sup>-ATPase gene in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in the rat. *Circ Res* 1990; 66: 554-564.

86. De Mello W.C. Post-extrasistolic potentiation: effect of Ca, histamine, caffeine and epinephrine. Arch int Pharmacodyn; 1977 230: 235-244.
87. Difrancesco D. The cardiac hyperpolarizing-activated current (I): Origins and developments. Prog Biophys Mol Biol. 1985; 46: 163-168.
88. Earm Y.E., Ho W.K., So I. Effects of adriamycin on ionic currents in single cardiac myocytes of the rabbit. J Mol Cell Cardiol 1994; 26: 163-172.
89. Edman K.A.P., Johannsson M. The contractile states of rabbit pappillary muscle in relation to stimulation frequency. J Physiol 1976; 254: 565-581.
90. Entman M.L., Levey G.S., Epstein S.E. Mechanism of action of epinephrine and glucagon on the canine heart. Evidence for increase in sarcotubular calcium stores mediated by cyclic 3',5'-AMP. Circ Res. 1969; 25(4): 429-438.
91. Fabiato A. Calcium release in skinned cardiac cells: variations with species, tissues and development. Fed Proceed 1982; 41: 2238 - 2244.
92. Fucks F. Ingibition of sarcotubular calcium transport by caffeine. Species and temperature dependence. Biochim Biophys Acta 1969; 172: 566-570.
93. Gintant G.A. Advances in cardiac cellular electrophysiology: implications for automaticaly and therapeutics// Amer Rev Pharmacol Toxicol 1988; 1: 61-81.
94. Guo W., Kamiya K., Toyama J. Evidences of antagonism between amiodarone and triiodthyronine on the K<sup>+</sup> channel activities of cultured rat cardiomyocytes. J Mol Cell Cardiol 1997; 29(2): 617-627.

95. Gwathmey J.K., Copelas L., MacKinnon R. et. al. Abnormal intracellular calcium handling in myocardium from patients with end-stage heart failure. *Circ Res* 1987; 61: 70-76.
96. Harrison D.C. Antiarrhythmic drug classification: new science and practical applications. *Am J Cardiol.* 1985; 56(1): 185-7.
97. Hassenfuss G., Reinecke H., Studer R. et al. Relation between myocardial function and expression of sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase in failing and non-failing human myocardium. *Circ Res* 1994 434-442.
98. Hatem S., Bénardeau A., Rücker-Martin C., Marty I., de Chamisso P., Villaz M., Mercadier J.-J. Different compartments of sarcoplasmic reticulum participate in the excitation-coupling process in human atrial myocytes. *Circ Res* 1997; 80(3): 345-353.
99. He H., Giorgano F.J., Hilan-Dandan R. et al. Overexpression of the rat sarcoplasmic reticulum Ca ATPase gene in the heart of transgenic mice accelerates calcium transients and cardiac relaxation. *J Clin Invest* 1997; 100; 380-389.
100. Hoerter J, Mazet F, Vassort G. Perinatal growth of the rabbit cardiac cell: possible implications for the mechanism of relaxation. *J Mol Cell Cardiol.* 1981; 13(8): 725-740.
101. Hoffman BF, Rosen MR. Cellular mechanisms for cardiac arrhythmias. *Circ Res.* 1981; 49: 1-15.
102. Hohloser S.H. Klingenheben T., Singh B.N., Amiodarone-associated proarrhythmic effects. A review with

- special reference to torsade de pointes tachycardia. Ann Intern Med 1994; 121(7): 529-535.
103. Hondeghem L.M., Snyders D.J. Class III antiarrhythmic agents have a lot of potential but a long way to go. Reduced effectiveness and dangers of reverse use dependence. Circulation 1990; 81: 686-690.
104. Huxley A. Taylor R.E. Local activation of striated muscle fibres. J Physiol, 1958; 144: 426.
105. Huynh TV, Chen F, Wetzel GT, Friedman WF, Klitzner TS. Developmental changes in membrane Ca<sup>2+</sup> and K<sup>+</sup> currents in fetal, neonatal, and adult rabbit ventricular myocytes. Circ Res. 1992; 70(3): 508-515.
106. Iribe G., Araki J., Mohri S., Shimizu J., Imaoka T., Kanmura Y., Kajiyama F., Suga H. New calculation of internal recirculation fraction from alternans decay of postextrasystolic potentiation. Japanese J Physiol 2001; 51: 143-149.
107. January C.T., Riddle J.M., Sabata J.J. A model for early afterdepolarizations: induction with the Ca<sup>2+</sup> agonist Bay K 8644// Circulat Res 1988; 3:563-571.
108. Kapelko V.I., Williams C.P., Morgan J.P. Intracellular calcium and mechanical function in isolated perfused hearts from rats and guinea pigs. Arch Int Physiol Bioch Bioph 1994; 102: 285-291.
109. Katraxis D., Camm A.J. New class III antiarrhythmic drugs. Europ Heart J 1993; 14: H93-H99.
110. Katraxis D., Camm A.J. Amiodarone in long term prophylaxis. Drugs 1991; 41: 54-66.
111. Katraxis D., Camm A.J. New class III antiarrhythmic drugs. Eur Heart J 1990; 14: H93-H99.

112. Kaufman TM, Horton JW, White DJ, Mahony L. Age-related changes in myocardial relaxation and sarcoplasmic reticulum function. *Am J Physiol.* 1990; 259(2 Pt 2): H309-H316.
113. Keung E.C., Toll L., Ellis M., Jensen R. L-type cardiac calcium channels in doxorubicin cardiomyopathy in rats: morphological, biochemical and functional correlations. *J Clin Invest* 1991; 87: 2108-2113.
114. Koch-Weser J., Blinks J.B. The influence of the interval between beats on myocardial contractility. *Pharmacol Rev* 1963; 3: 601-652.
115. Kodama I., Kamiya K., Honjo H., Toyama J. Acute and chronic effects of amiodarone on mammalian ventricular cells. *Jpn Heart J* 1996; 37(5): 719-730.
116. Kodama I., Kamiya K., Toyama J. Amiodarone: ionic and cellular mechanisms of action of the most promising class III agent. *Am J Cardiol.* 1999; 84(9A): 20R-28R.
117. Kodama I., Kamiya K., Toyama J. Cellular electropharmacology of amiodarone. *Cardiovasc Res.* 1997; 35(1): 13-29.
118. Korecky B., Michael L. H. Regional differences in contraction of mammalian hearts. *Adv Stud Card Struct Metab* 1974; 4: 77-78.
119. Lazzara R. Antiarrhythmics drugs and torsade de pointes. *Eur Heart J* 1993; 14: Suppl H: 88-92.
120. Lewartowski B., Zdanowski K. Net  $\text{Ca}^{2+}$  influx and sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  uptake in resting single myocytes of the rat heart: comparison with guinea-pig. *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22: 1221-1229.



121. Lorell B.H. Transition from hypertrophy to failure. *Circulation* 1997; 96: 3824-3827.
122. Lukas A., Bose. R. Mechanisms of frequency-induced potentiation of contractions in isolated rat atria. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1986; 334: 480-487.
123. Maathuis F.J., Sanders D. Contrasting roles in ion transport of two K(+)-channel types in root cells of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 1995; 197(3): 456-64.
124. Mahony L, Jones LR. Developmental changes in cardiac sarcoplasmic reticulum in sheep. *J Biol Chem.* 1986; 261(32): 15257-15265.
125. Mahony L. Maturation of calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum. *Pediatr Res.* 1988; 24(5): 639-643.
126. Marengo F.D., Marquez M.T., Bonazzola P., Ponce-Hornos J.E. The heart extrasystole: an energetic approach. *Am J Physiol.* 1999; 276 (1): H309-16.
127. Matsushita T., Okamoto M., Toyama J. et al. Adriamycin causes dual inotropic effects through complex modulation of myocardial Ca<sup>2+</sup> handling. *Japanese Circ J* 2000; 1: 65-71.
128. McNutt N. S., Fawcett D. W. The ultrastructure of the cat myocardium. II. Atrial muscle *J Cell Biol* 1969; 42: 46-66.
129. Meissner G. Ryanodine activation and inhibition of the Ca release channel of sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1986; 261: 6300-6306.
130. Meyer M., Trost S.U., Bluhm W. F., Knot H.J., Swanson E., Dillmann W.H. Impaired sarcoplasmic reticulum

- function leads to contractile dysfunction and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H2046-H2052.
131. Mill J.G., Vassallo D.V., Leite C.M., Campagnaro P. Influence of the sarcoplasmic reticulum on the inotropic responses of the rat myocardium resulting from changes in rate and rhythm. *Braz J Med Biol Res* 1994; 27(6): 1455-1465.
132. Minajeva A., Kaasik A., Paju K. et al. Sarcoplasmic reticulum function in determining atrioventricular contractile differences in rat heart. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1997; 273: H2498-H2507.
133. Mitchell L.B., Wyse D.G., Gillis A.M., Duff M.S. Electropharmacology of amiodarone therapy initiation *Circulation* 1989; 1: 34-42.
134. Mord M., Goldman Y. Excitation-contraction coupling in heart muscle: membrane control of development of tension. *Prog Biophys Mol Biol* 1973; 27: 257-313.
135. Morgan J.P. Abnormal intracellular modulation of calcium as a major cause of cardiac contractile dysfunction. *N Engl J Med* 1991; 325: 625-632.
136. Motte G., Dinanian S., Sebag C., Gueniche C., Slama M. Mecanismes electrophysiologiques des arythmies ventriculaires de l'infarctus du myocarde // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.*- 1994.- V.87.- N 1.- P.55-60.
137. Nayler WG, Fassold E. Calcium accumulating and ATPase activity of cardiac sarcoplasmic reticulum before and after birth. *Cardiovasc Res.* 1977; 11(3): 231-237.
138. Noble D. Ionic bases of rhythmic activity in the heart // *Cardiac electrophysiology and arrhythmias.*

- Ed. By D.P. Zipes, J. Jalife. - Orlando, 1985. - P. 348-354.
139. Oakley C. Genesis of arrhythmias in the failing heart and therapeutic implications/ Am J Cardiol 1991; 167: 26C-28C.
140. Osaka T, Ramza BM, Tan RC, Joyner RW. Developmental changes in the electrophysiologic properties of rabbit papillary muscles. *Pediatr Res.* 1989; 26(6): 543-547.
141. Pogwizd S.M., Corr B. The contribution of nonreentrant mechanisms to malignant ventricular arrhythmias// *Basic Res. Cardiol.*- 1992.- V.87.- Suppl. 2.- P.115-129.
142. Powis G, Olsen R, Standing JE, Kachel D, Martin WJ. Amiodarone-mediated increase in intracellular free Ca<sup>2+</sup> associated with cellular injury to human pulmonary artery endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1990; 103(1): 156-164.
143. Quan W., Rudy Y. Unidirectional block and reentry of cardiac excitation: a model study. *Circul Res* 1990; 2: 367-382.
144. Ramdat Misier A.R., Opthof T., van Hemel N.M. et al. Increased dispersion of "refractoriness" in patients with idiopathic paroxysmal atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19: 1531-1535.
145. Ravens U., Dobrev D. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase and phospholamban in the failing and nonfailing heart. *Cardiovascular Res* 2000;45: 245-252.
146. Ravens U., Mahl C., Ohler A., Hardman S.M.C., Noble M.I.M. Mechanical restitution and recirculation frac-

- tion in cardiac myocytes and left ventricular muscle of adult rats. *Basic Res Cardiol* 1996; 91: 123-130.
147. Reuter H., Zobel C., Brixius K., Bölck B., Schwinger R.H.G. The force-frequency relationship is dependent on  $\text{Ca}^{2+}$ -influx via L-type-and SR- $\text{Ca}^{2+}$ -channels in human heart. *Basic Res Cardiol* 1999; 3; 159-170.
148. Rosin H., Farah A. Post-stimulation of contractility in the isolated auricle of the rabbit. *Am J Physiol* 1955; 1: 75-82.
149. Rousseau E., Smith J.S., Meissner G. Ryanodine modifies conductance and gating behavior of single  $\text{Ca}^{2+}$  release channel. *Am J Physiol* 1987; 253: C364-C368.
150. Rüegg J.C. *Calcium in Muscle Activation*. Berlin-Heidelberg - New York, Springer, 1986.
151. Schonten V., van Deen J.K., de Tombe P., et. al. Force-interval relationship in heart muscle of mammals. A calcium compartment model. *Biophys J* 1987; 51: 13-26.
152. Shattock M.J., Bers D.M. Rat versus rabbit ventricle: Ca flux and intracellular Na assessed by ion-selective microelectrodes. *Am .J. Physiol.* 1989; 256: C813-C822.
153. Singh B.N. Arrhythmia control by prolonging repolarization: the concept and its potential therapeutic impact. *Eur Heart* 1990; 14: H14-H23.
154. Sipido KR, Wier WG. Flux of  $\text{Ca}^{2+}$  across the sarcoplasmic reticulum of guinea-pig cardiac cells during excitation-contraction coupling. *J Physiol.* 1991; 435: 605-630.

155. Tada M., Katz A.M. Phosphorylation of the sarcoplasmic reticulum and sarcolemma. *Annu Rev Physiol* 1982; 44: 401-423.
156. Thandroen F.T., McCarthy J., Burton K.P., Opie L.H. Ryanodine and coffeeine prevent ventricular arrhythmias during acute myocardial ischemia and reperfusion in rat heart. *Circulat Res* 1988; 2: 306-314.
157. Thorpe W.R. Some affects of coffeeine and quinidine on sarcoplasmic reticulum of skeletal and cardiac muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 1973; 51: 499-503.
158. Tomaselli G.F., Rose J. Molecular aspects of arrhythmias associated with cardiomyopathies. *Curr Opin Cardiol* 2000; 15(3): 202-8.
159. Urthaler F., Walker A.A., Reeves D.N.S., Hefner L.L. Maximal twitch tension in intact length-clamped ferret papillary muscles evoked by modified postextrasystolic potentiation. *Cerc Res* 1988; 62: 65-74.
160. Vassallo D.V., Lima E.Q., Campagnaro P., Faria A.N., Mill J.G. Mechanisms underlying the genesis of post-estrasystolic potentiation in rat cardiac muscle. *Braz J Med Biol Res* 1995; 28(3): 377-383.
161. Vaughan-Williams E.M. A classification of antiarrhythmics actions reassessed after decade of new drugs *J Clin Pharmacol* 1984; 24:129-147.
162. Vaughan-Williams E.M. Classification of antiarrhythmics drugs. *Astra Sodertaje (Sweden)* 1981; 449-472.
163. Veeber R.G., Sung R.J., Conde C.A. et al. Intracardiac electrophysiologic studies in patients resuscitated from unexpected cardiac arrest outside the hospital. *Am J Cardiol* 1997; 39: Abstr:275.

164. Vetter R, Will H. Sarcolemmal Na-Ca exchange and sarcoplasmic reticulum calcium uptake in developing chick heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1986; 18(12): 1267-1275.
165. Weber A., Herz R. The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum. *J Gen Physiol* 1968; 52:750-759.
166. Weinstein L, Brik H, Rotmensch HH, Shainberg A. Characterization of sarcoplasmic reticulum in skinned heart muscle cultures. *J Cell Physiol.* 1991; 148(1): 124-132.
167. Wetzel GT, Chen F, Klitzner TS. Ca<sup>2+</sup> channel kinetics in acutely isolated fetal, neonatal, and adult rabbit cardiac myocytes. *Circ Res.* 1993; 72(5): 1065-1074.
168. Wetzel GT, Chen F, Klitzner TS. L- and T-type calcium channels in acutely isolated neonatal and adult cardiac myocytes. *Pediatr Res.* 1991; 30(1): 89-94.
169. Wibo M, Bravo G, Godfraind T. Postnatal maturation of excitation-contraction coupling in rat ventricle in relation to the subcellular localization and surface density of 1,4-dihydropyridine and ryanodine receptors. *Circ Res.* 1991; 68(3): 662-673.
170. Wichter T., Borggreffe M., Breithardt G. Efficacy of antiarrhythmic drugs in patients with arrhythmogenic right ventricular disease: results in patients with inducible and noninducible ventricular tachycardia. *Circulation* 1990; 82: 1106-1116.
171. Wier W.G., Yue D.T. Intracellular calcium transients underlying the short-term force-interval relationship

- in ferret ventricular myocardium. *J Physiol* 1986; 376: 507-530.
172. Wijffels M.C., Kirchhof C.J., Dorland R., Allessie M.A. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995; 92: 1954-1968.
173. Willerson J.T., Hills L.D., Buja L.M. Pathogenesis and pathology of ischemic heart disease. - In: *Ischemic heart disease: clinical and pathophysiological aspects*. New York: Raven, 1982.
174. Wit A.L., Granefield P.F. Reentrant excitation as a cause of cardiac arrhythmias// *Amer. J. Physiol.*- 1978.- V.235.- N 1.- P.H1-H17.
175. Wit A.L., Rosen M.R. Pathophysiologic mechanism of cardiac arrhythmias // *Amer Heart J* 1983; 4(2): 798-811.
176. Wohlfart B. Relationships between peak force, action potential duration and stimulus interval in rabbit myocardium. *Acta Physiol Scand* 1979; 106: 385-350.
177. Woodworth R.S. Maximal contraction, «staircase» contraction, refractory period and compensatory pause of the heart. *Amer J Physiol*, 1902; 8: 213-249.
178. Wu S.N., Shen A.Y., Hwang T.L. Analysis of mechanical restitution and post-rest potentiation in isolated rat atrium. *Chinese J Physiol* 1996; 39: 23-29.
179. Yue D.T., Burkhoff D., Franz N.R., Hunter W.C., Sawaga K. Postextrasystolic potentiation of the isolated canine left ventricle, relationship to mechanical restitution. *Circ Res* 1985; 56: 340-350.

180. Zipes D.P. Proarrhythmic events. Amer J Cardiol  
1988; 2: 70A-76A.