

Федеральное государственное учреждение науки
«Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения
Российской академии наук» (ИИФ УрО РАН)

На правах рукописи

Бутова Ксения Андреевна

**МЕХАНИЗМЫ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ЛЕВОГО
И ПРАВОГО ПРЕДСЕРДИЙ КРЫС ПРИ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ
ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ ВЕГЕТАТИВНОГО ГЕНЕЗА**

Специальность – 1.5.5 – Физиология человека и животных

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:

доктор биологических наук, доцент
Проценко Юрий Леонидович

кандидат физико-математических наук,
доцент Хохлова Анастасия Дмитриевна

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Эпидемиология, факторы риска и клинические последствия фибрилляции предсердий	14
1.2. Современные концепции патогенеза фибрилляции предсердий	16
1.2.1. Субстраты инициации и прогрессирования фибрилляции предсердий	16
1.2.2. Вегетативный генез фибрилляции предсердий	23
1.2.3. Окислительный стресс и изменение внутриклеточного NO/редокс баланса при фибрилляции предсердий	27
1.3 Обзор экспериментальных моделей инициации фибрилляции предсердий на лабораторных животных	31
1.4 Межпредсердные различия в структуре и функции предсердий в норме и при развитии фибрилляции предсердий	36
1.5 Механическая нагрузка как фактор регуляции работы миокарда	39
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	46
2.1. Экспериментальные группы животных	46
2.2. Моделирование пароксизмальной формы ФП вегетативного генеза в эксперименте	47
2.3. Изоляция одиночных кардиомиоцитов предсердий	48
2.4. Измерение и анализ характеристик изменения длины саркомеров в кардиомиоцитах предсердий при их механически ненагруженных укорочениях	50
2.5. Измерение и анализ характеристик динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах предсердий при их механически ненагруженных укорочениях	52
2.6. Регистрация и анализ характеристик силы сокращения кардиомиоцитов в условиях их механического нагружения	53
2.7. Регистрация и анализ характеристик силогенерации и зависимости «длина-сила» многоклеточных препаратов предсердий	55
2.8. Оценка прямого действия АЦХ на характеристики сократительной функции одиночных кардиомиоцитов интактных животных	60

2.9. Оценка содержания АФК и NO в одиночных кардиомиоцитах предсердий.....	61
2.10. Определение степени фосфорилирования белков саркомера	63
2.11. Гистологическая оценка структуры миокарда предсердий.....	63
2.12. Измерение и анализ морфометрических характеристик одиночных кардиомиоцитов.....	64
2.13. Статистический анализ данных экспериментов	64
3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	66
3.1 Исследование межпредсердных особенностей сократительной функции миокарда предсердий крыс в норме	66
3.2 Ремоделирование сократительной функции механически ненагруженных кардиомиоцитов при АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП.....	76
3.2.1 Ремоделирование характеристик укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитов при АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП	76
3.2.2 Изменение динамики [Ca ²⁺] _i в механически ненагруженных кардиомиоцитах при АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП.....	81
3.3 Ремоделирование сократительной функции предсердий при АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП при действии механической нагрузки	83
3.3.1 Анализ силогенерирующей способности одиночных кардиомиоцитов при АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП.....	83
3.3.2 Изменение длинозависимой регуляции активного и пассивного напряжения миокарда предсердий при АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП	85
3.4 Механизмы ремоделирования сократительной функции предсердий при АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП.....	94
3.4.1 Прямое влияние АЦХ на параметры сократительной функции механически ненагруженных кардиомиоцитов.....	94
3.4.2 Оценка содержания АФК и NO в одиночных кардиомиоцитах предсердий при пароксизмальной АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной ФП.....	99
3.4.3 Изменение степени фосфорилирования белков саркомера при пароксизмальной АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной ФП.....	100

3.4.4 Анализ морфологических параметров кардиомиоцитов и ткани предсердий при пароксизмальной АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной ФП.....	102
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	107
4.1 Однородность параметров сократительной функции миокарда левого и правого предсердий в норме на уровне одиночных кардиомиоцитов.....	107
4.2 Неоднородность свойств миокарда левого и правого предсердий в норме на тканевом уровне организации	107
4.3. Влияние пароксизмальной ФП вегетативного генеза на сократительную функцию предсердий	108
4.4 Особенности и ограничения модели АЦХ-СаСl ₂ -индуцированной пароксизмальной ФП	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	121
ВЫВОДЫ	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	126
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы и степень её разработанности

Фибрилляция предсердий (ФП) является одним из самых распространенных (~3% в мировой популяции и ~1% в РФ по данным Европейского общества кардиологов (Hindricks et al., 2020; Li et al., 2022) нарушением ритма, представляя тем самым важнейшую кардиологическую проблему.

ФП представляет собой быстрые, хаотичные и дезорганизованные сокращения предсердного миокарда, вызванные возникновением неупорядоченного фронта деполяризации предсердных камер (Ladwig et al., 2020). ФП связана с ~1.5–3.5-кратным повышением риска смертельного исхода и инвалидизации вследствие развития тяжёлых осложнений (Hindricks et al., 2020). В число наиболее опасных осложнений ФП входят вызванные тромбоэмболическим синдромом инсульт и инфаркт миокарда, а также сердечная недостаточность – синдром, проявляющийся в виде нарушения способности сердца к наполнению желудочков и/или к генерации нормальной фракции выброса в сердечном цикле (Терещенко и соавт., 2020, Аракелян и соавт., 2021). Дезорганизованные сокращения предсердных камер могут приводить к сердечной недостаточности. Так, в норме в сердце анатомически сопряжённые с желудочками предсердия модулируют их работу, выполняя резервуарную функцию для венозного возврата во время систолы желудочков, проводниковую функцию во время ранней диастолы желудочков и насосную функцию для увеличения наполнения желудочков в конце диастолы (Habibi et al., 2017; Кобалава и соавт., 2017). Следовательно, неупорядоченные сокращения предсердных камер при ФП будут приводить к нарушению наполнения желудочков вследствие изменения предсердно-желудочкового взаимодействия (Lau et al., 2016; Кобалава et al., 2017; Hiram et al., 2019).

В российских и зарубежных клинических рекомендациях на основании тяжести течения и длительности аритмии приводят следующую классификацию ФП (Hindricks et al., 2020; Аракелян и соавт., 2021):

1. Впервые диагностированная ФП (независимо от тяжести аритмии);
2. Эпизодическая, или пароксизмальная ФП (купируется самостоятельно и/или в результате вмешательства в течение 7 суток после ее начала);
3. Персистирующая ФП (длительность эпизодов ФП более 7 суток, включая эпизоды, купированные медикаментозной или электрической кардиоверсией спустя 7 суток и более после её начала);
4. Длительно персистирующая ФП (длительность эпизодов ФП более 1 года при условии выбора стратегии контроля предсердного ритма);

5. Постоянная ФП (форма длительной ФП, при которой врачом и пациентом принимается согласованное решение не предпринимать попытки восстановления и/или поддержания синусового ритма).

Длительные формы ФП стойко ассоциированы с развитием перечисленных выше тромбозмболических осложнений, нарушением предсердно-желудочкового взаимодействия и сократительной дисфункции сердца (Hindricks et al., 2020; Reddy et al., 2020; Терещенко и соавт., 2020). Однако, функциональные последствия, возникающие при пароксизмальной форме ФП, неочевидны ввиду краткой длительности и возможности спонтанного прекращения нарушения ритма.

В здоровом сердце структурные и молекулярно-клеточные характеристики сократительной функции левого (ЛП) и правого (ПП) предсердий отличаются друг от друга (Kahr et al., 2011; Arora et al., 2017), что необходимо для их пространственно-временной координации в сердечном цикле. Данные отличия могут приводить к различной степени изменения параметров сократительной функции ЛП и ПП при действии патологических факторов (D'Ascenzi et al., 2014; Hiram et al., 2019) и к межпредсердным особенностям механизмов ремоделирования миокарда. Ранее было показано, что роль ЛП и ПП в возникновении и поддержании ФП отличаются (Schotten et al., 2003; Chen et al., 2014; Linz et al., 2019), что обусловлено их различиями в плотности ионных токов (Schram, et al., 2002), иннервации и их чувствительности к медиаторам нервной системы, вовлекаемым в формирование субстрата ФП (Sarmast et al., 2003; Huang et al., 2006; Linz et al., 2014). Изменения сократительной функции при ФП было исследовано только на примере ПП (Wakili et al., 2010), а, как следует из вышесказанного, оценка сократительной дисфункции предсердий при ФП должна быть представлена анализом как левых, так и правых отделов сердца.

Особый интерес при развитии ФП представляет структурно-функциональное ремоделирование ЛП и ПП на разных уровнях организации миокарда. Исследование на уровне одиночных кардиомиоцитов дает возможность проанализировать сократительные характеристики миокарда предсердий, исключив влияние соединительной ткани и соседних кардиомиоцитов друг на друга. Эксперименты на уровне многоклеточных препаратов позволяют подробно исследовать силогенерацию миокарда при задании различных механических условий сокращения, а также дать оценку работы сердечной мышцы в более физиологических условиях функционирования и установить вклад соединительнотканного компонента в сократимость миокарда предсердий. Исследование степени фосфорилирования сократительных белков саркомеров позволяет предположить молекулярные механизмы изменения сократительной функции миокарда при ФП.

Принципиально новым аспектом данного исследования является оценка сократительной функции миокарда предсердий при ФП как при отсутствии внешней механической нагрузки, так и в условиях механического нагружения (при изменении режима сокращения и при диастолическом растяжении препарата). С одной стороны, измерения в отсутствие механической нагрузки дают возможность выявить вызванные ФП нарушения сократимости предсердий *per se*, исключив влияние механозависимых путей регуляции. С другой стороны, механическая нагрузка является неотъемлемым фактором, определяющим сократительную функцию сердца. В контексте патогенеза ФП известно, что растяжение предсердных камер приводит к таким электрофизиологическим изменениям как генерация внеочередного потенциала действия в кардиомиоцитах предсердий, замедление скорости распространения импульса от синоатриального узла к атриовентрикулярному соединению и формирование неоднородного фронта распространения электрического возбуждения (Bode et al., 2000; Saygili et al., 2007; Ravelli et al., 2011; Walters et al., 2014). Следовательно, оценка влияния механической нагрузки на функцию миокарда предсердий важна для исследования формирования механического субстрата прогрессирования аритмии. Исследование зависимостей «длина-пассивная сила», «длина-активная сила» необходимо для анализа жесткости миокарда и длинозависимой регуляции силы сокращения (зависимость Франка–Старлинга) предсердных камер, что позволит сделать предположения о характере адаптационной способности миокарда предсердий при изменении объёма притекающей крови.

Согласно современной концепции патофизиологии ФП, важнейшим компонентом инициации и прогрессирования нарушений ритма в предсердиях является активация вегетативной нервной системы (ВНС) (Chen et al., 2014; Lau et al., 2016). Сочетанная активация симпатических и парасимпатических звеньев ВНС приводит к аритмогенным изменениям внутриклеточной динамики Ca^{2+} и способствует формированию устойчивого субстрата для развития ФП за счёт формирования множественных циклов re-entry – повторного входа электрического возбуждения (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019; Saljic et al., 2022). В связи с этим, в данной работе оценка межпредсердных особенностей сократительной дисфункции и механизмов ее развития рассматривается в модели ацетилхолин (АЦХ)- $CaCl_2$ -индуцированной ФП. Данная модель позволяет воспроизвести вегетативный генез суправентрикулярных нарушений ритма в лабораторных условиях за счёт активации парасимпатического звена ВНС медиатором АЦХ и активации симпатического звена за счет увеличения концентрации Ca^{2+} (Sharifov et al., 2004; Dianat et al., 2015). Дополнительные эксперименты по острому воздействию АЦХ на одиночные

кардиомиоциты предсердий позволяют проанализировать вклад увеличения концентрации АЦХ в нарушение сократительной функции кардиомиоцитов.

Таким образом, **цель диссертационной работы** – оценить нарушения сократительной активности ЛП и ПП, изменение функциональных различий между ними и камероспецифические механизмы развития сократительной дисфункции предсердий при пароксизмальной ФП вегетативного генеза.

Сократительную активность миокарда предсердий анализировали по совокупности характеристик, включающих: амплитудные и временные характеристики укорочения саркомеров, механического напряжения (нормированной силы) кардиомиоцитов, коэффициенты наклонов зависимостей «длина-пассивная сила» и «длина-активная сила». Для анализа электромеханического сопряжения оценивали амплитудные и временные характеристики изменения концентрации Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) в цитозоле кардиомиоцитов в процессе их сокращения-расслабления и содержание Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме (СР).

С учётом обозначенных характеристик для достижения цели были поставлены и выполнены следующие задачи:

1. Сравнить амплитудные и временные характеристики укорочения саркомеров, механического напряжения и изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в одиночных кардиомиоцитах, а также степень длинозависимой активации (коэффициенты наклонов «длина-сила») многоклеточных препаратов миокарда ЛП и ПП и установить степень межпредсердных различий в норме;

2. Исследовать изменение характеристик сократительной функции ЛП и ПП и выявить межпредсердные различия между ними при пароксизмальной ФП в зависимости от механической нагрузки:

2.1. Проанализировать амплитудные и временные характеристики укорочения саркомеров, изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах ЛП и ПП в отсутствие их механического нагружения и выяснить степень межпредсердных различий по этим параметрам;

2.2. Проанализировать амплитудные и временные характеристики механического напряжения одиночных кардиомиоцитов в ауksотоническом режиме сокращения и выяснить степень межпредсердных различий по этим параметрам;

2.3. Проанализировать коэффициенты наклонов зависимости «длина-сила» и величины пассивного и активного напряжения многоклеточных препаратов миокарда ЛП и ПП в ауksотоническом и изометрическом режимах сокращения и выяснить степень межпредсердных различий по этим параметрам;

3. Исследовать изменение продукции АФК, NO и степени фосфорилирования сократительных белков саркомера как возможных участников молекулярно-клеточных механизмов сократительной дисфункции ЛП и ПП при пароксизмальной ФП и определить их камероспецифичность.

Научная новизна исследования.

1. Впервые дана интегративная оценка сократительной функции миокарда предсердий на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях организации миокарда в норме и при пароксизмальной форме ФП вегетативного генеза;

2. Впервые проведено сравнение межпредсердных особенностей динамики укорочения саркомеров, активного напряжения кардиомиоцитов и длинозависимого изменения силы полосок миокарда крыс в норме и при ФП;

3. Обнаружено, что в норме ЛП и ПП не отличаются по характеристикам сокращения и силогенерации миокарда, но отличаются по характеристикам пассивного напряжения. Полученные результаты не согласуются с данными предшествующих исследований, сообщающих об электрофизиологических различиях между ЛП и ПП;

4. Установлено, что камероспецифичное ремоделирование предсердий при пароксизмальной ФП приводит к появлению различий характеристик сократительной функции ЛП и ПП;

5. Проведена оценка сократительной функции миокарда предсердий при ФП в зависимости от действующей на миокард механической нагрузки. Показано, что механическая нагрузка может определять межпредсердные особенности сократительной дисфункции предсердий.

Теоретическая и практическая значимость исследования.

Результаты являются актуальными и значимыми для физиологии сердца и трансляционной медицины и включают как фундаментальные, так и прикладные аспекты.

В работе проанализированы межпредсердные различия характеристик сократительной функции на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях организации миокарда. Полученные данные о биомеханической активности предсердий дополняют представления о сердце как функционально неоднородном органе. Также фундаментальная значимость исследования заключается в получении новых данных о механизмах ремоделирования сократительной функции миокарда предсердий при пароксизмальной ФП вегетативного генеза. Установлена камероспецифичность механизмов ремоделирования сократительной функции миокарда предсердий при пароксизмальной ФП.

Обнаружено, что при пароксизмальной ФП наиболее уязвимым отделом к развитию сократительной дисфункции является ЛП ввиду его большей чувствительности к механической нагрузке. Однако более выраженные молекулярно-клеточные изменения в миокарде ЛП вносят вклад в изменение морфофункциональных различий между предсердными камерами, что может лежать в основе формирования субстрата для перехода от пароксизмальной ФП к длительным формам аритмий.

Методология и методы исследования.

Эксперименты выполнены на самцах крыс Вистар возрастом 10 недель в соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU и заключения этического комитета Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (ИИФ УрО РАН) № 06/20. Нарушения ритма предсердий инициировали при помощи модели пароксизмальной АЦХ- CaCl_2 -индуцированной ФП (Zou et al., 2016). Одиночные кардиомиоциты получали ретроградной перфузией изолированного сердца с модификациями (Butova et al., 2021). Для исследования прямого влияния АЦХ на сократительную функцию кардиомиоцитов ЛП и ЛП интактных животных суспензии клеток инкубировались в растворе Тирод, содержащем АЦХ в концентрациях 0, 1, 10 и 100 мкМ в течение 10 минут.

Анализ сократительной функции кардиомиоцитов проводили по амплитудным и временным/скоростным характеристикам изменения длины саркомеров и $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в цитозоле при механически ненагруженных сокращениях, а также по характеристикам активного напряжения при механическом нагружении клеток 4 карбоновыми волокнами (Iribe et al., 2014; Volzhaninov and Khokhlova, 2020). Измерения выполняли с помощью программно-аппаратного комплекса MCSYS-02 (IonOptix, США). Динамические изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в цитозоле оценивали с использованием Ca^{2+} -чувствительного флюорофора Fluo-8AM (AAT Bioquest, США) на системе лазерной сканирующей конфокальной микроскопии LSM 710 (Carl Zeiss, Германия). Содержание Ca^{2+} в СР определяли по амплитуде изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$, вызванного воздействием кофеина в концентрации 10 мМ.

Характеристики зависимости «длина-сила» многоклеточных препаратов (изолированных полосок) ушек ЛП и ЛП при их диастолическом растяжении исследовали при помощи аппаратно-программного комплекса лаборатории биологической подвижности ИИФ УрО РАН.

Внутриклеточное содержание активных форм кислорода ($[\text{АФК}]_i$) и оксида азота ($[\text{NO}]_i$) в изолированных кардиомиоцитах определяли с использованием флюорофоров DHE (Sigma Aldrich, США) и DAF-FM (ThermoFisher Scientific, США) при комнатной температуре в отсутствие электрической стимуляции.

Анализ степени фосфорилирования белков саркомера осуществляли методом гелевого электрофореза с окрашиванием Pro-Q Diamond (Invitrogen, США) и SYPRO Ruby (Invitrogen, США).

Для определения толщины свободных стенок предсердий и плотности распределения ядер применялось стандартное окрашивание гематоксилином и эозином. Для оценки соединительнотканного компонента срезы окрашивались с использованием 0.1% пикросирус красный (ab150681, Abcam, Великобритания). Для определения количества миофибрилл и гликогена использовалась периодическая кислота Шиффа с окрашиванием метиленовым синим.

Все эксперименты были проведены на базе ИИФ УрО РАН. Сбор и анализ данных выполнялся при помощи специального программного обеспечения IonWizard (IonOptix, США), Zen 2009 (Carl Zeiss, Германия), EqarAll версии 6 и 6.0 (ИИФ УрО РАН, Россия), FIJI ImageJ (US National Institutes of Health, США) и Excel 16 (Microsoft Corp, США). Статистический анализ полученных данных осуществлялся при помощи пробной версии программы GraphPad Prism 8.0 (Origin Lab, США) и R Studio (RStudio Team, Integrated Development for R., США).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В норме миокард ЛП и ПП крыс характеризуется однородностью характеристик сократительной функции на клеточном уровне и неоднородностью пассивных свойств миокарда на тканевом уровне – миокард ПП имеет меньшую величину пассивного напряжения и большую крутизну зависимости «длина-пассивная сила» по сравнению с ЛП.
2. Камероспецифичное ремоделирование ЛП и ПП при пароксизмальной ФП приводит к появлению межпредсердных различий в характеристиках сократительной функции на клеточном уровне организации миокарда.
3. В механически ненагруженных кардиомиоцитах пароксизмальная ФП приводит к уменьшению амплитуды укорочения и скорости расслабления саркомеров в кардиомиоцитах ЛП, но не в кардиомиоцитах ПП.
4. Механическая нагрузка может изменять межпредсердные особенности сократительной дисфункции предсердий при ФП. При механическом нагружении кардиомиоцитов уменьшается амплитуды активного напряжения и скорости расслабления кардиомиоцитов ПП, но не ЛП. В многоклеточных препаратах увеличиваются наклоны зависимости «длина-активная сила» обоих предсердий и уменьшается коэффициент крутизны зависимости «длина-пассивная сила» ПП.

5. Дисфункция саркомеров в миокарде ЛП при ФП обусловлена снижением числа саркомеров, увеличением продукции АФК и снижением степени фосфорилирования сМуВР-С и TnI. В миокарде ПП увеличение уровня АФК происходит в меньшей степени, чем в ЛП, а увеличение степени фосфорилирования RLC может вносить вклад в поддержание сократимости саркомеров при ФП.

Степень достоверности научных результатов.

Достоверность полученных результатов подтверждается воспроизводимостью экспериментов, применением современных методов исследования, а также статистическим анализом полученных данных.

Публикации.

По материалам работы опубликовано 5 работ в международных рецензируемых журналах, входящих в базы данных SCOPUS и Web of Science, а также опубликовано 9 тезисов в сборниках всероссийских и международных конференций.

Апробация результатов работы.

Результаты работы были представлены на XXVII и XXIX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-Петербург, Россия, 2021 и 2023 год, отмечены дипломами I и II степени за лучший устный доклад), Российской конференции с международным участием «Экспериментальная и компьютерная биомедицина» памяти члена-корреспондента РАН В.С. Мархасина (Екатеринбург, Россия, 2021), IV Всероссийской (XIX) молодёжной научной школе-конференции «Молодёжь и наука на Севере – 2022» (Сыктывкар, Россия, 2022 год, отмечен дипломом II степени за лучший устный доклад), VII Съезде биофизиков России (Краснодар, Россия, 2023). В сентябре 2023 года результаты были представлены на XXIV съезде Российского Физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия).

Личный вклад автора.

Автор внесла личный вклад в планирование и проведение представленных в работе измерений на одиночных кардиомиоцитах и многоклеточных препаратах миокарда предсердий, обработку, статистический анализ, интерпретацию полученных результатов, а также написание текстов статей и тезисов и представление результатов исследования на всероссийских и международных конференциях. Объём публикаций по теме диссертации составляет 4.88 п.л., вклад автора – 2.01 п.л.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность Проценко Ю.Л. и Хохловой А.Д. за чуткое руководство исследованием;

Автор глубоко признателен Балакину А.А. и Лисину Р.В. за помощь в реализации ауксотонического режима сокращения сердечной мышцы и ценные комментарии;

Автор сердечно благодарит Копылову Г.К., Щепкина Д.В. и Кочурову А.М. за предоставление данных по профилям фосфорилирования белков саркомера и Мухлынину Е.А. за предоставление данных гистологии;

Автор выражает благодарность Михряковой П.П. за неоценимый вклад в анализ альтернансов сокращения саркомера;

Автор от всей души благодарит коллег и товарищей Мячину Т.А. и Симонову Р.А. за помощь в реализации измерений и обработке большого объёма данных на всех этапах исследования.

Структура работы

Диссертация изложена на 155 листах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения полученных данных, а также заключения, выводов, списков сокращений и литературы, цитируемой в исследовании. Список литературы включает 240 источников. Работа проиллюстрирована 37 рисунками, 2 таблицами и 5 формулами.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология, факторы риска и клинические последствия фибрилляции предсердий

ФП – наиболее распространённое нарушение сердечного ритма. Согласно последним статистическим данным, распространённость ФП в общемировой популяции составляет около $<0.5\%$ в возрастном диапазоне 40–50 лет и порядка 5–15% среди людей старше 80 лет (Аракелян и соавт., 2021). По данным рабочей группы по лечению пациентов с фибрилляцией предсердий Европейского общества кардиологов, распространённость ФП составляет в РФ $\sim 1\%$ (Hindricks et al., 2020), а по данным эпидемиологического исследования ЭПОХА на репрезентативной выборке Европейской части РФ $\sim 2\%$ (Мареев и соавт., 2022). Сообщается, что ФП связана с увеличением риска смертельного исхода в 1.5–1.9 раза для пациентов с сердечно-сосудистыми и коморбидными заболеваниями (Zhan et al., 2018; Komal et al., 2019). Среди пациентов с диагностированной ФП и ассоциированными с ней заболеваниями свыше $\sim 13\%$ случаев ежегодно заканчивается инвалидизацией (Elliott et al., 2023).

В число наиболее распространённых факторов риска возникновения ФП входят возраст >55 лет, пол (риск развития ФП у лиц мужского пола в 3 раза выше, чем у женщин (Komali et al., 2019; Аракелян и соавт., 2021; Шапкина и соавт., 2022)), малоподвижный образ жизни, ожирение, алкоголизм, курение, генетическая предрасположенность, а также сопутствующие заболевания (сахарный диабет 2 типа, гипертериоз, хроническая обструктивная болезнь лёгких, синдром обструктивного апноэ сна, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, артериальная гипертензия) (Ko et al., 2017; Wong et al., 2017; Komali et al., 2019; Hindricks et al., 2020, Elliott 2023, Frederiksen et al., 2023). При этом, улучшение качества жизни при исключении «модифицируемых» факторов риска ФП из жизни пациента (соблюдение здорового образа жизни, поддержание физической активности, контроль массы тела и нормальных уровней артериального давления, глюкозы и холестерина в крови) повышает риск развития ФП уже вследствие увеличения продолжительности жизни (Hindricks et al., 2020; Elliott et al., 2023). В РФ распространённость ФП достигает своего максимального показателя в возрастной группе от 80 до 89 лет и составляет порядка 9.6% (Мареев и соавт., 2022). Вместе с этим, согласно данным популяционной выборки северо-восточной части России, сообщается о инверсии показателей в сторону увеличения частоты встречаемости ФП у женщин по сравнению с мужчинами в возрастной группе старше 80 лет, что связывается с большей продолжительностью жизни у лиц женского пола (Шапкина и соавт., 2022). Однако

показано, что вероятность позитивного исхода катетерной абляции (хирургического подхода в лечении стойких суправентрикулярных аритмий) ниже у женщин вследствие большего фиброзного ремоделирования миокарда при длительных ФП в сравнении с мужчинами (Митрофанова и соавт., 2017; Li et al., 2017).

Отдельно в факторы риска выделяют также повышенный психоэмоциональный стресс. Возникновение пароксизмов ФП вегетативного генеза ассоциируют с гиперактивацией ВНС (механизм чего будет рассмотрен далее), в связи с чем приём β -блокаторов рассматривается в клинической практике как средство снижения рецидивов суправентрикулярных нарушений ритма (Lampert et al., 2019; Malik et al., 2020; Ladwig et al., 2020; Решвили и Сулимов, 2020).

Порядка 20% случаев ФП не ассоциируется с наличием в анамнезе пациента каких-либо сопутствующих факторов риска (Friedrichs et al., 2012; Komali et al., 2019) либо предшествующих структурных заболеваний сердца (Решвили и Сулимов, 2020) и чаще всего обусловлена генетической предрасположенностью (Schüttler, 2020).

В число наиболее опасных последствий ФП входит тромбоэмболический синдром, регистрируемый у пациентов в 8–15% случаев (Хорькова и соавт., 2020). Основным источником возникновения тромбоэмболических осложнений у пациентов с ФП ~89% является образование тромба в ушке ЛП (Cai et al., 2002; Хорькова и соавт., 2020), который проявляется у пациентов с частотой от 5 до 27% при отсутствии адекватной терапии с использованием антикоагулянтов (Zhan et al., 2018; Хорькова и соавт., 2020). В свою очередь, ассоциированные с ФП тромбоэмболические осложнения могут проявляться в виде ишемического инсульта головного мозга, транзиторной ишемической атаки, системной эмболии (Zhan et al., 2018; Goette et al., 2021), а также провоцировать другие заболевания сердечно-сосудистой системы (инфаркт миокарда (Frederiksen et al., 2023)). Следует отметить, что несмотря на большую частоту встречаемости ФП у мужчин, чем у женщин (Komal et al., 2019; Elliott et al., 2023), в ряде работ отмечается, что риск развития тромбоэмболических осложнений при ФП существенно выше у пациентов женского пола в возрастной группе 75–80 лет (Cove et al., 2014; Кобалава и соавт., 2017; Ко et al., 2017; Yang et al., 2019).

Отдельно в число прямых осложнений ФП следует выделить заболевания сердечно-сосудистой системы, связанные с нарушением сократительной функции сердца: инфаркт миокарда, предсердная кардиомиопатия и сердечная недостаточность (Goette et al., 2021; Dobrev and Dudley, 2021; Krishnan et al., 2021; Frederiksen et al., 2023; Татарский и Напалков, 2023). Данные заболевания, помимо последствий являются также и предикторами возникновения и прогрессирования ФП (Hiram et al., 2019; Татарский и Напалков, 2023;

Frederiksen et al., 2023). Такая двунаправленная взаимосвязь в первую очередь обусловлена наличием воспалительных процессов в миокарде, приводящих к структурному ремоделированию камер сердца, что, в свою очередь вызывает их дальнейшее функциональное ремоделирование (Niram et al., 2019; Goette et al., 2021). С другой стороны, предшествующая недостаточность сократительной функции как предсердий, так и желудочков влечёт за собой постепенную дисфункцию сопряжённой ней камеры в рамках атрио-вентрикулярного взаимодействия и желудочково- ремоделирования (Кобалава и соавт., 2017; Niram et al., 2019; Решвили и Сулимов, 2020; Reddy et al., 2020). Кроме того, наличие нерегулярных интервалов между сокращениями желудочков в условиях ФП, провоцируют возникновение гидравлического удара по кровеносным сосудам при первом после «паузы» сокращения желудочков (Германова и соавт., 2020). В свою очередь, это приводит к ухудшению гемодинамических условий работы сердца, что может выступать субстратом для дальнейшего структурного и функционального ремоделирования.

Вне зависимости от генеза в структуре ФП различают следующие формы, различающиеся длительностью нарушений ритма и возможностью их медикаментозного и/или хирургического устранения (Решвили и Сулимов, 2020; Hindricks et al.; 2020, Аракелян и соавт., 2021): пароксизмальная, персистирующая, длительно персистирующая, и постоянная. Пароксизмальная, или эпизодическая, форма ФП (на которую направлен фокус данного исследования) характеризуется длительностью течения до 7 суток и самопроизвольным прекращением (чаще всего в течение первых 48 ч), либо успешным устранением кардиоверсией. Несмотря на то, что своевременная диагностика и коррекция данного состояния может способствовать успешному предотвращению рецидивов и прогрессирующей дисфункции миокарда, с точки зрения последствий и осложнений данная форма ФП остаётся недостаточно исследованной вследствие малой длительности и возможности бессимптомного протекания (Решвили и Сулимов, 2020; Hindricks et al., 2020; Аракелян и соавт., 2021).

1.2. Современные концепции патогенеза фибрилляции предсердий

1.2.1. Субстраты инициации и прогрессирования фибрилляции предсердий

Триггеры фибрилляции предсердий

Основным механизмом запуска ФП является возникновение очагов спонтанного возбуждения (т.н. эктопических участков), происходящее параллельно с ослаблением ингибирующего влияния синусового узла на участки спонтанного возбуждения (Chen et al., 2014; Wijesurendra and Casadei, 2019; Saljic et al., 2022). В работе M. Haïssaguerre и соавторов

при обширном анализе клинических данных пациентов с ФП было обнаружено, что источником триггерной активности, инициирующих спонтанные пароксизмы, являются легочные вены (Haïssaguerre et al., 1998). Данное открытие сохраняет актуальность и на сегодняшний день и активно применяется в клинической практике для хирургической коррекции суправентрикулярных фибрилляций (Шевченко и соавт. 2019, Ревитшвили и соавт., 2022). Устья легочных вен находятся в анатомическом контакте с ЛП, что предполагает его как проводник эктопического возбуждения (Haïssaguerre et al., 1998; Roux et al., 2004; Chen et al., 2014).

В основе триггерной эктопической активности устьев и рукавов легочных вен лежат электрофизиологические особенности составляющих их кардиомиоцитов, распространяющихся от миокарда ЛП (Roux et al., 2004; Bond et al., 2020; Bradeloux et al., 2021). Так, многочисленные исследования показывают, что кардиомиоциты легочных вен обладают пейсмейкерной активностью, схожей с клетками синоатриального узла. В экспериментах на изолированных кардиомиоцитах легочных вен крысы были описаны меньшие плотности Ca^{2+} -тока L-типа (I_{CaL}) и K^+ -тока аномального (входящего) выпрямления (I_{K1}) наряду с большей плотностью стационарного тока ионов K^+ (I_{Kss}), по сравнению с кардиомиоцитами ушка ЛП (Bond et al., 2020). В кардиомиоцитах легочных вен собаки наряду с меньшими I_{CaL} и I_{K1} отмечаются большие плотности быстрого и медленного компонентов K^+ -тока задержанного выпрямления (I_{Kr} и I_{Ks} , соответственно) и меньший кратковременный выходящий ток K^+ -ток (I_{to}), в сравнении с миоцитами ЛП (Cha et al., 2005; Ehrlich et al., 2003). Также в кардиомиоцитах легочных вен были обнаружены аритмогенный кратковременный входящий ток (I_{ij}), входящий через Na-Ca²⁺ обменник (NCX), и активируемый гиперполяризацией «забавный» ток (I_f) (Chen et al., 2001). При таком профиле ионных токов в нормальных условиях длительность потенциала действия (ПД) легочных вен не отличается от предсердий, но повышается вероятность возникновения аномалий в морфологии ПД в виде ранних (более редких (Chen et al., 2001)) и отсроченных постдеполяризаций (Cha et al., 2005; Bond et al., 2020). Вместе с этим, ток I_f на фоне сниженного I_{K1} приводят к возникновению пейсмейкерной активности в кардиомиоцитах легочных вен аналогичной клеткам синоатриального узла (Chen et al., 2001; Vai et al., 2021), Плотность I_f значительно возрастает при ФП (Chen et al., 2001). Также на кардиомиоцитах легочных вен крысы и морской свинки описаны эпизоды спонтанного высвобождения ионов Ca^{2+} в цитозоль вследствие большего (по сравнению с предсердиями) количества кальциевых «искр» (Ca^{2+} sparks – микроскопических утечек ионов Ca^{2+} в цитозоль в диастолу) (Logantha et al., 2010; Henry et al., 2018; Namekata et al., 2019). Наряду с этим, ритмические изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле имели характер распространения в виде

волны от периферии к центру клетки (Logantha et al., 2010; Pasqualin et al., 2018; Namekata et al., 2019). Таким образом, особенности внутриклеточной динамики Ca^{2+} и повышенная плотность кальциевых «искр» в цитозоле кардиомиоцитов легочных вен также способствует изменению морфологии ПД и возникновению участков эктопической активности, приводящей к ФП.

При этом вклад в формирование очагов триггерной электрической активности вносит и сама организация ткани легочных вен. На гистологических образцах ткани легочных вен мышей и крыс была показана неоднородность толщины слоя кардиомиоцитов, выстилающих базальную пластинку, а также прерывистость этого слоя электрически-непроводящими компонентами ткани (коллагеном, эластином) (Mueller-Hoecker et al., 2008). Для легочных вен человека также сообщается неоднородность слоя кардиомиоцитов в рукавах легочных вен, варьирующая от 10 до 100% от общей окружности вены в поперечном сечении, с максимальным покрытием в зоне устьев легочных вен (Mueller-Hoecker et al., 2008). Кардиомиоциты соседних слоёв ориентированы почти ортогонально друг другу (особенно, вблизи устьев легочных вен) (Roux et al., 2004; Tan et al., 2006; Pasqualin et al., 2018). Такая структурная неоднородность создаёт предпосылки для формирования аритмогенных эктопических очагов.

Ряд исследований сообщает и о выраженной функциональной неоднородности кардиомиоцитов в тканях легочных вен. На сердцах интактных собак было выявлено соотношение клеток, демонстрирующих спонтанный автоматизм, к кардиомиоцитам с устойчивым уровнем мембранного потенциала и отсутствием гиперполяризации со в ткани легочных вен как 2:3 (40 и 60% от исследуемого объёма миокарда, соответственно) (Chen et al., 2001). При этом, на собаках и мышах было показано, что кардиомиоциты устья легочных вен демонстрируют большие длительности ПД в сравнении с миоцитами дистальных участков (Agora et al., 2003; Potekhina et al., 2019). Также сообщается о кластерной организации популяций кардиомиоцитов легочных вен, имеющих различную организацию Т-тубулярной сети (Henry et al., 2018; Pasqualin et al., 2018). Т.к. Т-тубулярная сеть является структурной детерминантой электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах (ввиду расположения потенциал-чувствительных Ca^{2+} каналов и обеспечения их со-локализации с внутриклеточными системами регуляции цитозольного Ca^{2+}), такая организация будет способствовать возникновению и закреплению неоднородного фронта электрического возбуждения (Pasqualin et al., 2018). Так, в экспериментальных работах показано, что возникновение спонтанного выброса Ca^{2+} из СР сопровождается аналогичными аномалиями в динамике цитозольного $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в соседних кардиомиоцитах (Henry et al., 2018), но с различной интенсивностью от клетки к клетке, что

обусловлено их отличиями в морфологии Т-тубулярной сети (Logantha et al., 2010). Таким образом, патологический автоматизм может распространяться на все популяции кардиомиоцитов, приводя к расширению зон эктопического возбуждения. Следует отметить, что вероятность возникновения аномалий в ПД и динамике изменения $[Ca^{2+}]_i$ в легочных венах многократно повышается в условиях адренергической стимуляции (Chen et al., 2001; Coutu et al., 2006; Potekhina et al., 2019; Bond et al., 2020; Okamoto et al., 2022).

В качестве альтернативных источников триггерной эктопической активности (менее 10 % случаев) указывают связку Маршалла, расположенную между ушком ЛП и легочными венами, верхнюю полую вену (Chen et al., 2014; Wijesurendra and Casadei, 2019), а также пучок Бахмана (Saljic et al., 2022), коронарный синус и ушко ЛП (Wijesurendra and Casadei, 2019).

Кроме того, появление эктопических очагов электрического возбуждения может быть обусловлено повышением автоматии кардиомиоцитов предсердий. На кардиомиоцитах человека с длительно персистирующей ФП описаны уменьшение плотности I_{CaL} и повышение амплитуды I_{K1} по сравнению с нормальным миокардом, что способствует укорочению эффективного рефрактерного периода и сокращению длительности ПД при ФП (Dobrev et al., 2005). Также возникновение эктопических очагов в кардиомиоцитах предсердий происходит аналогично описанному для миоцитов легочных вен и сопряжено с появлением ранних и отсроченных постдеполяризаций (Chen et al., 2014; Voigt et al., 2014; Linz et al., 2019; Saljic et al., 2022). Отмечается, что при пароксизмальной форме ФП с большей степенью вероятности имеет место быть триггерная активность, опосредованная отсроченными постдеполяризациями. При этом формирование отсроченных постдеполяризаций происходит без явных признаков электрического ремоделирования, таких как укорочение ПД или гиперполяризация мембранного потенциала покоя, как было показано на кардиомиоцитах ушек правого предсердия человека (Voigt et al., 2014). В альтернативных источниках эктопического возбуждения – коронарный синус, пучок Бахмана и ЛП – также чаще отмечают изменение морфологии ПД в виде отсроченных, а не ранних постдеполяризаций (Wijesurendra and Casadei, 2019).

В свою очередь, повышение частоты отсроченных постдеполяризаций при пароксизмальной ФП связывают с Ca^{2+} перегрузкой в цитозоле кардиомиоцитов. Данный феномен обусловлен повышенным поглощением ионов Ca^{2+} через АТФазы саркоплазматического ретикулума типа 2а (SERCA2a), наряду с нарушением регуляции Ca^{2+} -чувствительных рианодиновых рецепторов (RyR), что вызывает диастолические утечки ионов Ca^{2+} в цитозоль (Voigt et al., 2014; Chen et al., 2014; Linz et al., 2019; Jiang et al., 2019; Saljic et al., 2022). Как отмечается, вероятность патологического открытия RyR CP-

а существенно выше при пароксизмальной, чем при персистирующей и длительно персистирующей формах ФП, но это связано, преимущественно, с увеличением экспрессии RyR, а не с гиперфосфорилированием каналов (Voigt et al., 2014; Saljic et al., 2022).

Кроме того, развитие ФП ассоциируют с замедлением проводимости волны электрического возбуждения между ЛП и ПП, что связано уже с последствиями выраженного структурного ремоделирования миокарда – уменьшение щелевых контактов вставочных дисков вследствие снижения экспрессии коннексинов (Cx43), ведущего к нарушению контакта между кардиомиоцитами в ткани (Rucker-Martin et al., 2006; Pytkowski et al., 2008; Bayer et al., 2019). Замедление проведения волны электрического возбуждения и увеличение количества электрически-непроводящих участков в миокарде предсердий приводит к возникновению re-entry – замкнутых контуров электрического возбуждения.

Субстраты прогрессирования фибрилляции предсердий

Дальнейшие механизмы прогрессирования ФП базируются на так называемых субстратах ФП – последствиях процессов ремоделирования предсердных камер по трём, взаимосвязанным друг с другом, направлениям: электрическом, механическом (т.е. ремоделирование сократительной функции) и структурном (Friedrichs et al., 2012; Moris et al., 2017; Wijesurendra and Casadei, 2019; Malik et al., 2020; Goette et al., 2021).

Аспекты электрического ремоделирования предсердий включают укорочение эффективного рефрактерного периода предсердных кардиомиоцитов наряду с ускоренной или, напротив, аномально замедленной реполяризацией и гиперполяризацией клеток предсердий (вследствие изменённой работы калиевых каналов), а также перегрузку СР и спонтанное высвобождение ионов Ca^{2+} в цитозоль (вследствие нарушения систем регуляции Ca^{2+}). Кроме того, возникают нарушения проводимости из-за измененной экспрессии и локализации коннексинов, соединяющих предсердные миоциты и фибротических изменений (возникающих при активации профибротических путей вследствие дилатации предсердий при их перегрузке давлением/объёмом) (Schotten et al., 2003; Tan and Zimetbaum 2011; Friedrichs et al., 2012; Wijesurendra and Casadei, 2019; Bayer et al., 2019; Krishnan et al., 2021).

Так, обширные участки фиброза способствуют непосредственному формированию неоднородного фронта деполяризации предсердных камер за счёт замедления прохождения волны электрического возбуждения через участки соединительной ткани не обладающих электропроводностью (Li et al., 1999; Lugenbiel et al., 2017). Увеличение содержания соединительной ткани относительно кардиомиоцитов будет способствовать росту пассивной жёсткости и уменьшению эластичности миокарда предсердий, что будет

способствовать уменьшению его адаптационного потенциала к действующим значениям давления/объёма (Hiram et al., 2019; Gottlieb et al., 2023). Более того, изменённая работа предсердий в условиях хронической перегрузки давлением/объёмом провоцирует активацию профибротических сигнальных путей (Nattel 2017; Li et al., 2017; Wijesurendra and Casadei, 2019; Krishnan et al., 2021). Согласно клиническим данным, максимальная плотность фиброза при ФП отмечается в зоне между нижними легочными венами (Митрофанова и соавт., 2017), т.е. вблизи очагов эктопического возбуждения. Также показано, что предотвращение развития фиброза при ФП путём блокирования ренин-ангиотензин II сигнального пути, активирующего пролиферацию фибробластов, замедляет развитие суправентрикулярных нарушений ритма (Anné et al., 2007; Lv et al., 2020).

Также механическое ремоделирование в виде хронической дилатации предсердий в условиях перегрузки давлением/объёмом провоцирует уменьшение рефрактерного периода и повышение возбудимости предсердий в рамках реализации механо-электрической обратной связи (Pfeiffer et al., 2014). В рамках реализации этого процесса, неоднородный фронт распределения механических напряжений в предсердных камерах будет способствовать возникновению градиента электрического возбуждения. Также здесь можно выделить один из аспектов камероспецифичного ремоделирования предсердий. Поскольку устья легочных вен находятся в непосредственном контакте с миокардом ЛП, растяжение камеры при перегрузке давлением-объёмом будет провоцировать и растяжение ткани устья впадающей в него вены. В свою очередь это будет приводить к увеличению частоты спонтанной электрической активности, увеличению числа ранних и отсроченных постдеполяризаций, запускающих аритмию (Chang et al., 2007; Egorov et al., 2019), а также к замедлению проведения электрического импульса от легочной вены к ЛП (Walters et al., 2014). Реализация механо-электрической обратной связи при механическом ремоделировании происходит за счёт активации механо-чувствительных, например, таких как хлорных ($I_{Cl,swell}$) и неселективных катионных каналов ($I_{NSC,swell}$ and $I_{NSC,stretch}$) в кардиомиоцитах (Egorov et al., 2019)

Следует заключить, что аспекты электрического ремоделирования тесно связаны с аспектами механического (развитие неоднородного фронта сократительной активности предсердных камер вследствие триггерной активности и неупорядоченного распространения волны электрического возбуждения) и структурного ремоделирования (Schotten et al., 2003; Ravelli et al., 2011; Friedrichs et al., 2012; Wijesurendra and Casadei, 2019; Krishnan et al., 2021). Таким образом, ФП представляет собой сложный многофакторный процесс (см. Рис. 1.1).

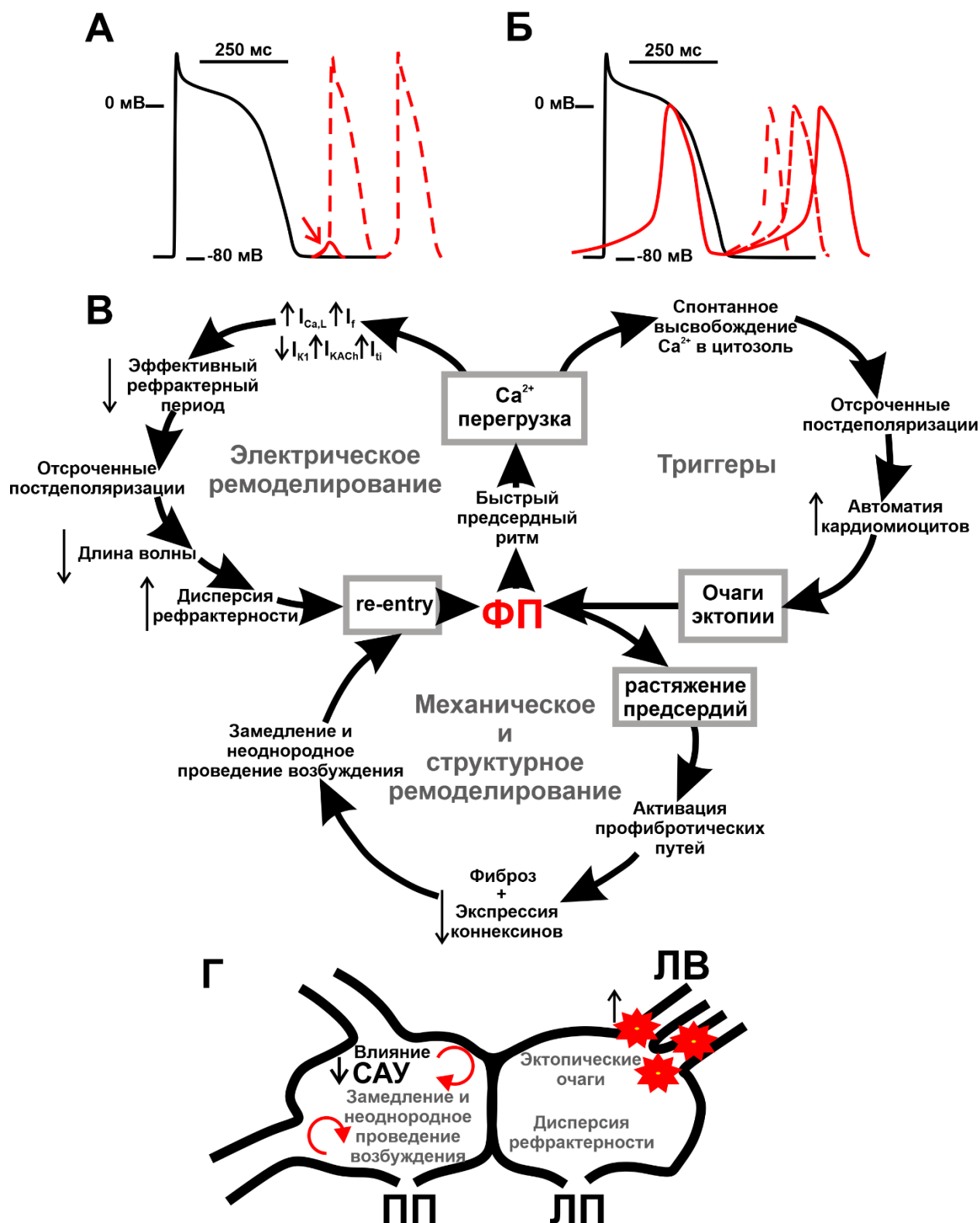


Рис. 1.1. Современная концепция триггеров и субстратов фибрилляции предсердий (ФП). А – Аритмогенное изменение морфологии ПД в виде отсроченных постдеполяризаций. Б – Появление пейсмекерной активности в кардиомиоцитах предсердий. В – Взаимосвязь между триггерами и субстратами ФП. Г – Региональное распространение триггеров и субстратов аритмии. САУ – синоатриальный узел; ЛВ –

легочные вены; ЛП – левое предсердие; ПП – правое предсердие; $I_{Ca,L}$ – входящий Ca^{2+} ток L-типа; I_f – активируемый гиперполяризацией «забавный» ток; I_{K1} – диастолический K^+ ток аномального (входящего) выпрямления; I_{KACH} – АЦХ-зависимый K^+ ток внутреннего выпрямления; I_{ti} – кратковременный входящий ток через NCX. На основе Linz et al., Chen et al. (Linz et al., 2014; Chen et al., 2014).

При этом важную роль в закреплении и прогрессировании пароксизмальной ФП процессы играют процессы механического ремоделирования, влияющие на электрическое ремоделирование через механо-электрическую обратную связь. Можно выдвинуть предположение, что условия механического нагружения будут играть значительную роль в выраженности вызванных пароксизмальной ФП нарушений сократительной функции миокарда предсердий.

1.2.2. Вегетативный генез фибрилляции предсердий

Согласно современной концепции патофизиологии ФП, важнейшим компонентом инициации и прогрессирования нарушений ритма в предсердиях является активация вегетативной нервной системы (ВНС) (Chen et al., 2014; Lau et al., 2016).

Иннервацию сердца, обеспечивающую вегетативную регуляцию, можно подразделить на внутреннюю, представленную сетью ганглиозных узлов, и внешнюю части (Chen et al., 2014; Kharbanda et al., 2022).

Внешняя ВНС, регулирующая функции сердца, представлена следующим образом. Блуждающий нерв, обеспечивающий парасимпатическую регуляцию, выходит из четырех ядер продолговатого мозга, содержит афферентные (~80% от всего количества (Kharbanda et al., 2022)) и эфферентные нейроны, которые иннервируют синоатриальный и атриовентрикулярные узлы, непосредственно миокард предсердий и желудочков, а также внутрисердечные ганглии (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019; Malik et al., 2020). Афферентные входы в блуждающий нерв исходят от соединений легочной вены и ЛП (Malik et al., 2020) (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019; Haïssaguerre et al., 1998). Преганглионарные симпатические нервные волокна проходят через промежуточно-латеральный столб спинного мозга и синапсы в экстракардиальных ганглиях, включая шейные и грудные (звездчатые) ганглии, а уже от них распространяются постганглиозные волокна, иннервирующие миокард предсердий и желудочков (Chen et al., 2014; Malik et al., 2020; Kharbanda et al., 2022). Афферентные нейроны симпатической и парасимпатической внешней ВНС формируют мост обратной связи от сердца к различным уровням ВНС.

Ганглии внутренней нервной системы сердца содержат парасимпатические и симпатические афферентные и эфферентные нейронные цепи с перекрывающимися областями влияния (Попова и соавт., 2020; Malik et al., 2020; Kharbanda et al., 2022). В предсердиях такие ганглии внутрисердечной нервной системы локализованы в месте пересечения ПП с верхней полой веной, обеспечивая контроль электрической активации клеток синоатриального узла, и в месте обоих предсердий с нижней легочной веной, контролируя электрическую активность атриовентрикулярного узла, соответственно (Попова и соавт., 2020). В ганглиях внутрисердечной ВНС также существуют локальные регуляторные цепи, независимо регулирующие баланс эффектов симпатической и парасимпатической ветви ВНС (Kharbanda et al., 2022).

Легочные вены также густо иннервированы, достигая максимальной плотности нервных окончаний в зоне устьев верхних легочных вен (Vaitkevicius et al., 2009; Bradeloux et al., 2021). Миокард верхних и нижних легочных вен иннервируется нервными окончаниями, проходящими от среднего, левого дорсального и дорсального эпикардиальных нервных сплетений ПП (Vaitkevicius et al., 2009), которые, в свою очередь, образованы левой и правой ветвями блуждающего нерва и симпатическими стволами шейного и грудного отдела (Bradeloux et al., 2021). Для легочных вен мышцей выявлены большие содержание катехоламинов и плотность катехоламиновых волокон по сравнению с ЛП, но без значительных их вариаций в самих рукавах легочных вен (Potekhina et al., 2019). На крысах было показано, что плотность катехоламиновых нервных волокон, иннервирующих легочные вены, увеличивается в постнатальном онтогенезе, что обуславливает повышение вероятности развития суправентрикулярных аритмий с возрастом (Kuzmin et al., 2021; Bradeloux et al., 2021). На сердцах человека, изъятых при аутопсии, показано, что ~30% нервных окончаний, иннервирующих легочные вены, имеет адренохолинергический фенотип, а отдельные адрено- и холинергические нейроны совмещены на тканевом уровне организации и достигают максимальной концентрации в передне-верхних сегментах верхних легочных вен (Tan et al., 2006).

Развитие ФП связывают с гиперактивацией симпатического и парасимпатического звеньев ВНС. При этом гиперактивация ВНС сопровождается ремоделированием самой структуры ВНС в виде увеличения симпатической иннервации (Jayachandran et al., 2000; Chen et al., 2014). Более того, методами иммунохимического анализа было обнаружено, что содержание адренергических нейронов увеличивается и в блуждающем нерве, что способствует усилению симпатического тона ВНС (Chen et al., 2014, Malik et al., 2020). Следует отметить, что имеются половые различия в ремоделировании иннервации предсердий. На основе данных вскрытия пациентов, имеющих в анамнезе ФП, установлено,

что у мужчин максимальная плотность ганглиев отмечается в зоне устья коронарного синуса и между нижней легочной веной, тогда как у женщин – между верхней и нижней легочными венами (Митрофанова и соавт., 2017).

Активацию симпатического звена ВНС связывают, преимущественно, с изменением процессов обработки внутриклеточного Ca^{2+} (Chen et al., 2014; Malik et al., 2020). Стимуляция α -адренорецепторов приводит к ингибированию I_{K1} , что наряду с увеличением пейсмейкерного тока I_f при одновременной стимуляции β -адренорецепторов, приводит к росту автоматии кардиомиоцитов, формирующих участки эктопического возбуждения (Chen et al., 2014; Linz 2019). По другому механизму, активация β -адренергических рецепторов будет удлинять плато ПД за счёт пролонгации $I_{Ca,L}$ (посредством фосфорилирования протеинкиназы А (РКА) и кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (СаМКII)), увеличивая вероятность возникновения ранней постдеполяризации. Однако, данный механизм является спорным, т.к. при симпатической стимуляции одновременно усиливается и I_{Ks} , компенсирующий пролонгированный $I_{Ca,L}$ (Chen et al., 2014; Malik et al., 2020). С другой стороны, хроническая гиперстимуляция β -адренорецепторов, может вызывать СаМК II через NO-зависимый сигнальный путь (Gutierrez et al., 2013). Такая активация СаМК II будет приводить к появлению аритмогенных утечек ионов Ca^{2+} из СР (Gutierrez et al., 2013) и провоцировать возникновение отсроченных постдеполяризаций (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019; Saljic et al., 2022). Вместе с этим сообщается об уменьшении амплитуды динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле кардиомиоцитов при стимуляции их β_1/β_2 -адренорецепторов (Rastaldo et al., 2007; Cawley et al., 2011).

Роль холинергического звена ВНС и её основного медиатора АЦХ в генезе ФП долгое время оставалась спорной. С одной стороны, пониженная активность парасимпатического звена ВНС является независимым фактором риска развития ФП (Zimerman et al., 2010). Применение обратимых антихолинэстеразных агентов и вагомиметиков рассматривается в качестве перспективных препаратов для лечения ФП (Zimerman et al., 2010), в то время как низкоуровневая стимуляция блуждающего нерва предлагается в качестве перспективной хирургической коррекции пароксизмальных и хронических нарушений предсердного ритма (Yu et al., 2013; Linz et al., 2019; Stavrakis et al., 2020; Kharbanda et al., 2022). С другой стороны, экспериментальные исследования показывали, что инкубация препаратов миокарда с АЦХ приводит к укорочению длительности ПД. Холинергическая активация мускариновых рецепторов 2 тика (M_2 рецепторов) кардиомиоцитов приводит к ингибированию $I_{Ca,L}$ и активируемого гиперполяризацией I_f в клетках синоатриального узла, вызывая подавление его

электрической активности (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019; Malik et al., 2020). Кроме того, стимуляция M_2 рецепторов АЦХ напрямую активирует АЦХ-зависимый K^+ -ток I_{KAcH} , переходящий в конститутивную форму I_{KH} (Dobrev et al., 2005), что приводит к укорочению эффективного рефрактерного периода и общей длительности ПД (Sarmast et al., 2003; Huang et al., 2006; Linz et al., 2019; Bayer et al., 2019; Sobota et al., 2021) и замедлению проводимости волны электрического возбуждения (Bayer et al., 2019). При этом парасимпатическое влияние на рефрактерность предсердий при стимуляции блуждающего нерва неоднородно из-за пространственного распределения окончаний парасимпатических нервов и/или M_2 рецепторов (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019), что приводит к повышению дисперсии предсердной рефрактерности (Kharbanda et al., 2022). Таким образом, эффекты АЦХ в условиях фиброзных изменений в миокарде будет дополнительно провоцировать очаги re-entry (Moris et al., 2017; Bayer et al., 2019; Krishnan et al., 2021). Кроме того, для пациентов с ФП в анамнезе сообщается снижение плотности нервных волокон, экспрессирующих ацетилхолинэстеразу – фермент, регулирующий длительность действия АЦХ посредством его гидролиза (Митрофанова и соавт., 2017). Все это указывает на то, что гиперактивация холинергического звена ВНС играет роль в создании субстрата ФП. Селективное ингибирование I_{KAcH} рассматривается как способ увеличения эффективного рефрактерного периода и снижения спонтанных волн электрического возбуждения при длительных формах ФП (Dobrev et al., 2005; Sobota et al., 2021).

Также в медицинской литературе описаны случаи холинергической ФП (поствагальной тахи-брадикардии), развивающейся в условиях уменьшения симпатической иннервации с возрастом, а также у молодых людей, имеющих генетическую или эпигенетическую предрасположенность к гиперактивации парасимпатического звена ВНС (Божко и соавт., 2019; Carpenter et al., 2015; Решвили и Сулимов, 2020; Malik et al., 2020). Аналогично описанному выше, существуют хирургические подходы коррекции ФП посредством селективной вагусной деинервации предсердий (Scanavacca et al., 2006).

На сегодняшний день действующая концепция вегетативного генеза ФП (не включающая симптом поствагальной тахи-брадикардии) подразумевает патологические механизмы, индуцирующиеся при гиперактивации как симпатического, так и парасимпатического звена ВНС (как минимум, вследствие их относительной колокализации в сердце) (Linz et al., 2019; Kharbanda et al., 2022). Сочетанный механизм вегетативного генеза нарушений электрофизиологической функции предполагает возникновение отсроченных и/или ранних постдеполяризаций в 3 фазе ПД, возникающих вследствие Ca^{2+} перегрузки в цитозоле клетки (из-за пролонгации $I_{Ca,L}$, активации SERCA2a и возникновения утечки ионов Ca^{2+} из СР) – обусловлено адренергической стимуляцией,

одновременно с укорочением длительности ПД и повышением дисперсии предсердной рефрактерности при активации холинергического звена ВНС (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019; Kharbanda et al., 2022). Основные представления о современной концепции вегетативного генеза в формировании триггеров и субстратов ФП представлены на рисунке 1.2.



Рис. 1.2. Вегетативный генез в формировании триггеров и субстратов фибрилляции предсердий ФП. Эффекты гиперактивации парасимпатического звена вегетативной нервной системы (ВНС) обозначены зелёным цветом; эффекты симпатического звена ВНС – красным. На основе Linz et al (Linz et al., 2014).

1.2.3. Окислительный стресс и изменение внутриклеточного NO/редокс баланса при фибрилляции предсердий

Большую роль как в инициации, так и в развёртывании процессов патологического ремоделирования при ФП отводят окислительному стрессу и изменению NO/редокс баланса (Bonilla et al., 2012; Dobrev and Dudley, 2021; Goette et al., 2021). Показано, что развитие ФП связано с увеличением числа АФК в цитозоле кардиомиоцитов, источниками

которых могут выступать НАДФН-оксидазы, ксантинооксидазы, электрон-транспортная цепь митохондрий и несопряжённые NO-синтазы, в совокупности с нарушениями работы внутриклеточных антиоксидантных систем (Lenaerts et al., 2013; Yoo et al., 2020; Dobrev and Dudley, 2021; Goette et al., 2021). Следует особо отметить, что увеличение внутриклеточного уровня АФК ($[АФК]_i$) опосредуется гиперстимуляцией симпатического звена ВНС (Tsutsumi et al., 2008; Gutierrez et al., 2013), что делает окислительный стресс обязательным компонентом ФП вегетативного генеза. Вместе с этим сопутствующее уменьшение внутриклеточного уровня молекул NO – одного из основных внутриклеточных посредников механо-электрической обратной связи в кардиомиоцитах связано с уменьшением экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и биодоступностью NO в условиях повышенной продукции АФК (Cai et al., 2002; Bonilla et al., 2012; Lenaerts et al., 2013). Однако отмечается, что вызванное увеличением $[АФК]_i$ уменьшение $[NO]_i$ в рамках изменения NO/редокс баланса более характерны для длительных (а не пароксизмальной) форм ФП (Reilly et al., 2011; Lenaerts et al., 2013).

Далее будут подробно рассмотрены последствия окислительного стресса и изменения NO/редокс баланса при ФП на клеточном и тканевом уровнях организации миокарда.

В нормальных условиях внутриклеточные АФК выступает в роли сигнальных молекул в путях, регулирующих процессы сокращения и расслабления гладких мышц сосудов, способствуя процессам вазоконстрикции,

Высокий уровень $[АФК]_i$ связывают с окислительным повреждением миофиламентов саркомера при взаимодействии с цистеиновыми и метиониновыми остатками, что приводит к сократительной дисфункции кардиомиоцитов (Lenaerts et al., 2013; Steinberg, 2013; Moris et al., 2017; Goette et al., 2021). Помимо этого, внутриклеточная гиперпродукция АФК вследствие окисления регуляторных белков (таких как RyR и фосфоламбан и CaMK II) приводит к возникновению диастолических утечек ионов Ca^{2+} и опустошению СР. Это способствует возникновению перегрузки Ca^{2+} в цитозоле, что не только влияет на электрическую и сократительную функцию кардиомиоцитов, но и в конечном итоге активирует апоптотические пути в миокарде предсердий (Tsutsumi et al., 2008; Gutierrez et al., 2013; Purohit et al., 2013; Ren et al., 2018; Yoo et al., 2020; Dobrev and Dudley, 2021; Goette et al., 2021).

Окислительный стресс ведёт также к изменению электрофизиологических характеристик миокарда за счёт влияния на активность ионных каналов. Повышение $[АФК]_i$ приводит к уменьшению деполяризующего натриевого тока (I_{Na}) и изменению реполяризующих калиевых токов (I_{to} , I_{Ks} , I_{K1}) (Ren et al., 2018), что провоцирует

уменьшение длительности ПД (Chen et al., 2014; Ren et al., 2018). Активация НАДН-оксидазы 2 типа (NOX2) при окислительном стрессе приводит к усилению АЦХ-активируемого I_{KACH} и способствует его переходу в I_{KN} за счёт активации и мембранной транслокации протеинкиназы C_3 (PKC₃), (Yoo et al., 2020; Dobrev and Dudley, 2021).

Кроме того, внутриклеточный окислительный стресс (частично происходящий за счёт митохондриальной электрон-транспортной цепи) приводит к повреждению самих митохондрий по механизму положительной обратной связи. Сообщается, что повышенный [АФК]_i вызывает повреждение ДНК митохондрий, что приводит к уменьшению продукции АТФ, но к ещё большему производству АФК (Saks et al., 2006; Renet et al., 2018; Goette et al., 2021). Следовательно, опосредуемый ростом АФК недостаток продукции АТФ будет напрямую способствовать ухудшению сократительной функции кардиомиоцитов вследствие метаболических нарушений (Gandoy-Fieiras et al., 2020). Повышение [АФК]_i активирует сигнальные пути, регулируемые MAP-киназой ERK (MAPK), PKC, транскрипционным фактором NFκB, кальцинеуриновым и тирозинкиназными каскадами, способствует развитию структурных гипертрофических изменений в кардиомиоцитах предсердий (Moris et al., 2017; Dobrev and Dudley, 2021).

Последствия окислительного стресса наблюдаются также и на тканевом уровне организации миокарда предсердий за счёт продукции АФК как резидентными клетками, так и лейкоцитами, составляющих воспалительный инфильтрат в тканях миокарда (Friedrichs et al., 2012). Для случаев, когда инициация ФП была сопряжена таким с фактором риска как ожирение, дополнительным источником АФК в тканях предсердий может являться околосердечная (эпикардальная и перикардальная) жировая ткань (Wong et al., 2017; Krishnan et al., 2021; Gandoy-Fieiras et al., 2020; Goette et al., 2021). Избыток АФК в тканях предсердий приводит к нарушению равновесия между распадом и накоплением внутриклеточного матрикса в ответ на усиливающийся апоптоз кардиомиоцитов, что способствует развитию фиброза (Friedrichs et al., 2012; Moris et al., 2017; Татарский и Напалков, 2023). Следует отметить, что вызванные окислительным стрессом фиброзные изменения, создающие препятствия на пути нормального распространения волны электрического возбуждения по миокарду предсердий, в свою очередь, составляют субстрат для электрического ремоделирования предсердных камер и дальнейшего прогрессирования ФП (Friedrichs et al., 2012; Moris et al., 2017). Кроме того, при возникновении окислительного стресса в клетках стенок сосудистого русла ожидаемо дополнительное нарушение сократительной функции миокарда уже вследствие изменения сосудистого сопротивления в отсутствии адекватного взаимоотношения вазоконстрикции и вазодилатации (Moris et al., 2017).

Как было упомянуто ранее, повышение продукции АФК при ФП происходит параллельно с уменьшением уровня NO. В миокарде в норме NO, продуцируемый эндотелием сосудов, подавляет экспрессию эндотелиального ингибитора активатора плазминогена-1, обеспечивая тем самым фибринолиз тромбов; NO, продуцируемый уже активированными тромбоцитами, ингибирует привлечение большего числа тромбоцитов к формирующемуся тромбу по механизму отрицательной обратной связи (Freedman et al., 1997; Cai et al., 2002; Gkaliagkousi and Ferro, 2011; Lei et al., 2013). В сосудах NO показан как основной регулятор сосудистого тонуса, способствующий вазодилатации (Gkaliagkousi and Ferro, 2011; Lei et al., 2013; Ren et al., 2018). Кроме того, для NO отмечаются антиоксидантные, антипролиферативные и противовоспалительные свойства, что делает NO важным участником в ингибировании атеросклеротических процессов (Rastaldo et al., 2007; Gkaliagkousi and Ferro, 2011; Lei et al., 2013; Ren et al., 2018). Уменьшение уровня $[NO]_i$ в ткани миокарда предсердий при ФП способствует развитию тромбоэмболических осложнений (Cai et al., 2002). Следовательно, уменьшение уровня $[NO]_i$ при ФП провоцирует также развитие атеросклеротических осложнений, а также воспалительные процессы в миокарде предсердий, способствуя тем самым их структурному и функциональному ремоделированию. Вместе с этим следует отметить, что избыточная продукция NO в условиях окислительного стресса может также стать источниками АФК в форме $NO\cdot$ и $ONOO^-$, что провоцирует уже развитие нитрозирующего стресса (Bonilla et al., 2012; Lenaerts et al., 2013; Ren et al., 2018). Нитрозирующий стресс, аналогично окислительному, оказывает негативное влияние на работу внутриклеточных регуляторных механизмов, но через реакции нитрозилирования (Lenaerts et al., 2013; Steinberg, 2013).

Следует отдельно отметить роль NO как одного из внутриклеточных посредников механо-электрической обратной связи в кардиомиоцитах (Cawley et al., 2011; Rastaldo et al., 2007; Boycott et al., 2020). В миокарде в норме NO связывается с растворимой гуанилатциклазой для последующего синтеза молекул вторичного мессенджера цГМФ, которая передаёт сигналы путём активации цГМФ-зависимой протеинкиназы G (PKG) и модулирования активности цГМФ-зависимых фосфодиэстераз (Rastaldo et al., 2007; Bonilla et al., 2012). Низкие уровни $[NO]_i$ и, соответственно, малое число молекул цГМФ вовлечены в реализацию позитивного инотропного ответа кардиомиоцита через цАМФ. Высокие уровни $[NO]_i$ и цГМФ связывают с реализацией негативного инотропного ответа (Rastaldo et al., 2007; Boycott et al., 2020). Некоторые исследователи также предполагают существование независимых от цГМФ механизмов регуляции сократительной функции посредством NO, например, через S-нитрозилирование тиоловых групп, а также окисление белков, вовлечённых в сигнальные процессы (Cawley et al., 2011; Gkaliagkousi and Ferro,

2011; Ohtani et al., 2012). NO, продуцируемый нейрональной NO-синтазой (nNOS), может частично вовлекаться в процессы регуляции инотропного ответа сердечной мышцы в ответ на увеличение частоты сердечных сокращений (Cotton et al., 2001; Rastaldo et al., 2007).

Данные относительно влияния эндогенного NO на параметры укорочения саркомеров и динамики цитозольного $[Ca^{2+}]_i$ противоречивы. Высказываются предположения о том, что опосредованные NO сигнальные процессы влияют на параметры динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле кардиомиоцитов (Boycott et al., 2020; Goette et al., 2021), однако, они ранее опровергались в статье с генетически индуцированной ФП (Cawley et al., 2011). С другой стороны, с помощью модели сердец с генетически «отключенной» экспрессией эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) удалось продемонстрировать взаимосвязь между наличием функциональных eNOS (и, следовательно, опосредованного NO сигналинга) и изменением параметров динамики цитозольного $[Ca^{2+}]_i$ в ответ на адренергическую стимуляцию (Rastaldo et al., 2007). В литературе также описана NO-зависимая активация CaMK II, приводящая к появлению аритмогенных утечек ионов Ca^{2+} из CP (Gutierrez et al., 2013). Опосредованное NO и цГТФ фосфорилирование тропонина I с помощью PKG может приводить к снижению Ca^{2+} -чувствительности миофиламентов саркомера в ходе сердечного цикла (Cawley et al., 2011), хотя в исследовании на папиллярных мышцах мышей сообщается об отсутствии корреляции между уровнями экспрессии продуцирующих NO nNOS и изменением Ca^{2+} -чувствительности (Kerrick et al., 2018). Что более важно, NO (продуцируемый nNOS), вовлекается в процессы контроля уровней АТФазной активности миофиламентов, что указывает на его прямое вовлечение в процессы силогенерации кардиомиоцитов (Kerrick et al., 2018).

1.3 Обзор экспериментальных моделей инициации фибрилляции предсердий на лабораторных животных

Несмотря на то, что естественное развитие ФП практически отсутствует у большинства видов млекопитающих (Schüttler et al., 2020), исследования на лабораторных животных способны внести значительный вклад в понимание механизмов инициации и прогрессирования ФП, а также в обеспечение возможностей терапевтической коррекции данного состояния. Однако вследствие различий в базовой физиологии человека и животных, создание оптимальной модели на ФП на сердце лабораторных животных затруднительно и ограничивает прямую интерпретацию результатов трансляционных исследований на сердце человека (Schüttler et al., 2020).

Наиболее распространёнными экспериментальными модельными животными для инициации ФП являются собаки (Shinagawa et al., 2002; Sharifov et al., 2004; Zou et al., 2016; Yoo et al., 2020), свиньи (Cai et al., 2002; Schüttler et al., 2020) и козы (Reilly et al., 2011; Sobota et al., 2021). Однако, основная проблема при моделировании ФП у животных заключается в том, что ФП человека неоднородна, многофакторна и развивается в течение продолжительного периода времени. Модели ФП на животных могут имитировать определенные аспекты ФП человека и подходят для изучения конкретных механизмов (Nishida et al., 2010; Schüttler et al., 2020). Вид экспериментального животного подбирается исходя из целей исследования и триггера, необходимого для инициации ФП. Так, крупные млекопитающие (козы, собаки и свиньи) наиболее часто применяются для моделирования ФП, возникающей на фоне сердечной недостаточности, ассоциированной с нарушением функции клапанов сердца (Li et al., 1999; Ward et al., 2019) и индуцируемой воспалительными процессами (Zhang et al., 2015; Lee et al., 2023). Лошади обладают способностью к самостоятельному развитию ФП (Buhl et al., 2022; Kjeldsen et al., 2022), что делает интересным объектом с точки зрения трансляционной медицины ввиду сходных с человеком триггеров и субстратов развития суправентрикулярных нарушений сердечного ритма (Schüttler et al., 2020; Kjeldsen et al., 2022). Мелкие млекопитающие (преимущественно, мыши), несмотря на возможность воспроизведения только коротких эпизодов ФП, позволяют разработать генетические модели инициации ФП (Nishida et al., 2010; Cunha et al., 2011; Purohit et al., 2013; Schüttler et al., 2020; Parahuleva et al., 2020). На крысах чаще реализуются модели ФП, в которых суправентрикулярные нарушения ритма возникают вторично по отношению к индуцированной патологии (Nishida et al., 2010): артериальной гипертензии (Choisy et al., 2007; Lau et al., 2013; Parikh et al., 2013), инфаркту миокарда (Rucker-Martin et al., 2006), метаболическим нарушениям (Ono et al., 2007; Liu et al., 2022) и гипоксии, вызванной кратковременной асфиксией (Haugan et al., 2004).

Самой распространённой моделью инициации ФП, встречающейся на всех видах лабораторных животных, является эктопическое возбуждение миокарда предсердий высокими частотами электрической стимуляции (тахи-стимуляция $\geq 250\text{--}300$ уд/мин) посредством имплантированного внешнего электрода, который подводится непосредственно к сердцу (Chen et al., 2001; Shinagawa et al., 2002; Anné et al., 2007; Raily et al., 2011; Lenaerts et al., 2013; Yoo et al., 2020; Sobota et al., 2021). Очевидное удобство данной модели заключается в максимально быстром и точном достижении ожидаемого эффекта гиперстимуляции предсердных камер электрическим током с высокой частотой импульсов. В экспериментах было показано, что гиперстимуляция внешним электрическим полем ткани легочных вен способно вызвать появление спонтанных изменений

цитозольного $[Ca^{2+}]_i$, что способствует формированию участков эктопического возбуждения (Coutu et al., 2006; Henry et al., 2018). Также в условиях тахи-стимуляции отмечается уменьшение длительности ПД и дезадаптация его морфологических характеристик к изменению частоты электрической стимуляции (Chen et al., 2001), что может быть связано с вызванным тахи-стимуляцией спонтанным открытием $I_{K_{ACh}}$ каналов, но без изменения экспрессии самих канальных субъединиц (Voigt et al., 2008). Хотя данный способ позволяет смоделировать в эксперименте как пароксизмальную (Cha et al., 2005; Coutu et al., 2006; Voigt et al., 2008; Sobota et al., 2021), так и персистирующие ФП (Chen et al., 2001; Shinagawa et al., 2002), длительная имплантация электрода является высокоинвазивной процедурой и может быть сопряжена с риском развития воспаления при его длительном нахождении в организме животного. Кроме того, данная процедура не подходит для использования на мелких млекопитающих ввиду исходно большей частоты сердечного ритма (600–800 уд/мин у мышей и ~400 уд/мин у крыс) (Schüttler et al., 2020). Кроме того, при таком способе инициации нарушений ритма не затрагивается вегетативный генез ФП, и развертывание патологического процесса происходит местно, без системного изменения на уровне ВНС.

Выделяют другой пласт высокоинвазивных экспериментальных моделей, направленных на имитацию вегетативного генеза в инициации ФП. Стимуляция блуждающего нерва, наиболее часто применяемая на собаках и овцах (Hamlin and Smith, 1968; Liu and Nattel, 1997; Hirose et al., 2002; Nishida et al., 2010), позволяет воспроизвести вегетативный генез ФП путём гиперактивации парасимпатического звена ВНС (холинергическая ФП). Для имитации гиперактивации адренергического звена ВНС применяется, напротив, стимуляция симпатических нервов околосердечной нервной системы (Liu and Nattel, 1997; Nishida et al., 2010). В литературе описана модель билатеральной цервикальной ваготомии на кошках для изучения изолированного вклада медиаторов нервной системы в инициацию ФП (Kovacs and Bailey, 1985). Существует также сочетанная модель ФП вегетативного генеза, воспроизводящая гиперактивацию обеих ветвей ВНС путём стимуляции синоатриального узла посредством перфузии изолированного сердца растворами АЦХ, адреналина и изопротеринала (Sharifov et al., 2004; Nishida et al., 2010). С помощью последнего метода Sharifov и соавторы (Sharifov et al., 2004) выявили необходимость активации как симпатической, так и парасимпатической ветви ВНС для инициации и поддержания устойчивой ФП.

Следует отметить очевидный минус описанных выше экспериментальных моделей ФП: за исключением цервикальной ваготомии ни одна из высокоинвазивных моделей не

может воспроизвести многодневную пароксизмальную, а также персистирующие и длительно персистирующую формы ФП вследствие малой длительности вмешательства.

Наиболее распространённой экспериментальной моделью ФП, используемой преимущественно на мышах, является модель моногенетической ФП (Cunha et al., 2011; Purohit et al., 2013; Schüttler et al., 2020; Parahuleva et al., 2020). Удобство данной модели заключается в возможности реализовать изменения в генах, ассоциирующиеся с развитием суправентрикулярных нарушений ритма, за относительно небольшой промежуток времени ввиду высокой скорости размножения мышей, а также наблюдать вызванные ФП последствия в длительной перспективе. Однако возможность редактирования только 1–2 генов при постановке модели ограничивает её использование при оценке реальной ФП, которая возникает вследствие многочисленных генетических нарушений (Schüttler et al., 2020).

Отдельно следует выделить модели ФП, опосредуемых предшествующими кардиоваскулярными заболеваниями: хронической левосторонней (Yeh et al., 2008; Nishida et al., 2010) и правосторонней сердечной недостаточностью (Hiram et al., 2019), атриовентрикулярной блокадой (Guerra et al., 2006; Raily et al., 2011), перикардитами (Matsuo et al., 2001), митральной регургитацией (недостаточностью митрального клапана), и артериальной гипертензией (Choisy et al., 2007, Kistler et al., 2006; Lau et al., 2013; Parikh et al., 2013). Любопытная модель описана в работе Zhou и соавторов, в которой исследовалось вероятность и возможные механизмы возникновения нарушений ритма после операции Фонтена – хирургической коррекции врождённых цианотических пороков, заключающейся в установлении атриопульмонального анастомоза (Zhou et al., 2018). Сюда же следует отнести модели ФП, в которых нарушения ритма индуцируются системным воспалением и/или кардиотоксическими препаратами, реализующиеся на крупных млечопитающих (Nishida et al., 2010; Schüttler et al., 2020). Данные модели позволяют наиболее полно воспроизвести генез ФП, вызванный предшествующими структурными и функциональными изменениями миокарда, однако, в ряде случаев может иметь дело риск отсутствия развития нарушений ритма. Также может осложняться интерпретация получаемых данных вследствие многофакторности вмешательства.

В данной работе была использована модель АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной и персистирующей форм ФП, выполненная на крысах (Zou et al., 2016; Lv et al., 2019; Fu et al., 2021; Mikhryakova et al., 2022). Суть модели заключается в ежедневной внутривенной инфузии экзогенного АЦХ для холинергической гиперстимуляции и раствора CaCl_2 для инициации Ca^{2+} перегрузки в цитозоле кардиомиоцитов как напрямую, так и опосредованно адренергической стимуляцией (Chen et al., 2014; Fu et al., 2021) и

активации выпуска норадреналина из околосердечных ганглиев ВНС (Dianat et al., 2015; Malinow et al., 1953).. Продолжительность выполняемых инфузий определяется формой ФП: для инициации пароксизмальной формы постановка внутривенных инъекций осуществляется в течение 7 дней (Zou et al., 2016; Mikhryakova et al., 2022), тогда как для индукции длительных форм период постановки может быть пролонгирован от нескольких недель до 1 месяца (Lv et al, 2019; Fu et al., 2021). Согласно литературным данным, в данной модели ФП отмечается уменьшение эффективного рефрактерного периода и ослабляется ингибирующее влияние синусового узла на эктопическое возбуждение, что соответствует патогенезу ФП вегетативного генеза, наблюдаемой в клинической практике (Sharifov et al., 2004; Zou et al., 2016). Данная модель представляет удобство для исследования с точки зрения малой инвазивности и простоты контроля за длительностью патологического процесса. Кроме того, данный способ инициации ФП предоставляет возможность работы мелкими грызунами, которые являются наиболее доступной, дешёвой и этичной экспериментальной моделью среди лабораторных животных (Nishida et al., 2010; Schüttler et al., 2020).

Следует отметить, что для достижения максимальной эффективности в моделировании ФП (исключая модели ФП генетического генеза), необходимо выполнять подбор лабораторных животных с учётом «немодифицируемых» факторов риска развития ФП, вне зависимости от используемого вида. При экстраполяции данных статистического анализа факторов риска и распространённости ФП в человеческой популяции на лабораторную практику, оптимальным вариантом является выбор животных мужского пола (Ko et al., 2017; Komal et al., 2019; Hindricks et al., 2020; Шапкина и соавт., 2022; Elliott et al., 2023) средней и старшей возрастной группы (Hindricks et al., 2020; Мареев и соавт., 2022; Elliott et al., 2023).

Несмотря на наличие фундаментальных различий в физиологии человека и млекопитающих лабораторных животных, отбор объектов после постановки модели ФП для дальнейших экспериментов должен производиться по критериям, соответствующим выраженным клиническим симптомам ФП. В их число входят изменения показателей электрокардиограммы (наличие f-волн различной формы и амплитуды вместо дискретных P-волн, понижение амплитуды и нерегулярность QRS комплексов), эпизодические нарушения сердечного ритма, сопровождающиеся выраженным ухудшением самочувствия животного, наличие отдышки и сниженной толерантности к физическим нагрузкам (Hindricks et al., 2020; Решвили и Сулимов, 2020; Goette et al., 2021).

1.4 Межпредсердные различия в структуре и функции предсердий в норме и при развитии фибрилляции предсердий

В норме

В норме предсердные камеры левого и правого отдела сердца различаются структурно, функционально и метаболически (Smorodina et al., 2015; Hiram et al., 2019; Gottlieb et al., 2023), а также по профилю экспрессии генов, определяющих их морфологию и функцию (Syeda et al., 2017; Kahr et al., 2011). Данные различия обусловлены их адаптацией к артериальному или венозному кровотоку при работе на большой и малый круги кровообращения.

На уровне органа различия между ЛП и ПП можно выделить по анатомическим особенностям. ЛП имеет меньший размер ушка и устья по сравнению с ПП (Яшин и Шубик, 2022), однако имеет большую толщину стенок и больший % содержания мышечной ткани (относительно соединительной ткани) в миокарде, чем ПП (Whiteman et al., 2019). Вместе с этим, кардиомиоциты ушка ЛП имеют меньшую ширину в сравнении с кардиомиоцитами ушка ПП, тогда как длины саркомеров в покое значительно больше в ЛП, чем в ПП, как было описано на сердцах здоровых (интактных) собак (Arora et al., 2017). Волокна миокарда стенок ЛП формируют сложно упорядоченную сеть; выделяют циркулярные (т.е. идущие параллельно митральному кольцу) и продольные (т.е. расположенные относительно митрального кольца под прямым углом) волокна (Whiteman et al., 2019). В ПП мышечные пучки располагаются упорядоченно – параллельно друг другу вдоль верхней и нижней полых вен (Lang et al., 2022). Различают несколько популяций кардиомиоцитов, составляющие мышечные тяжи предсердий, по наличию или отсутствию Т-тубулярной сети. Показано, что в ПП % кардиомиоцитов с отсутствующей Т-тубулярной сетью в ~2 раза выше, чем в ЛП (Arora et al., 2017). На уровне ткани, для биоптатов предсердий человека сообщается о значительно большем содержании коллагена I и эластина в тканях ПП, но низкой плотности микрососудов, по сравнению с ЛП (Smorodina et al., 2015). Сообщается, что структурная лево-правая асимметрия сердца обусловлена камероспецифичной, левосторонней экспрессией гена PITX2c (Kahr et al., 2011; Syeda et al., 2017) и правосторонней экспрессией *Vmp10* – гена, ответственного за формирование трабекулярной структуры ПП (Kahr et al., 2011). Также за структуру ПП отвечает камероспецифичная экспрессия генов *Adm*, *Id1*, *Id2*, *Id3*, *Smarcd3*, как было показано на образцах ткани человека и мыши (Kahr et al., 2011).

Для миокарда предсердий человека и животных в норме сообщается наличие межпредсердных различий в длительности ПД. В ЛП рефрактерный период и длительность ПД существенно короче, чем в ПП, что связано с градиентом плотности тока I_{Kr} в сторону

ЛП (Schram et al., 2002; Caballero et al., 2010). Для ПП же сообщается о наличии градиента I_{Kur} в направлении его увеличения от ЛП к ПП (Caballero et al., 2010). Вместе с этим, в ПП длительность ПД обнаруживает большую гетерогенность в вертикальном направлении, по сравнению с ЛП: его длительность уменьшается от терминального гребня (*crista terminalis*) к гребенчатым мышцам (*musculi pectinati*), обеспечивая тем самым распространение электрического импульса от синоатриального к атриовентрикулярному узлу (Schram et al., 2002; Попова и соавт., 2020).

Сообщается о существовании зависимого от холинергического звена ВНС градиента длительности ПД между предсердиями, обусловленного большей плотностью канальных субъединиц Kir3.x (Kir3.1 и Kir3.4), регулирующих I_{KAch} , в ЛП, по сравнению с ПП (Sarmast et al., 2003; Huang et al., 2006; Voigt et al., 2010). В данном контексте следует отметить, что именно ЛП имеет развитую иннервацию холинергическими нервными волокнами: нервные волокна отходят от нервного ствола ЛП и наиболее густо иннервируют заднюю стенку камеры (Попова и соавт., 2020). При этом сообщается о наличии градиента иннервации: наиболее плотное расположение волокон отмечается в устье левой верхней легочной вены, а левая сторона задней стенки предсердия более густо иннервирована, чем правая (Попова и соавт., 2020).

На молекулярном уровне для ЛП здорового сердца человека сообщаются более низкие уровни экспрессии микроРНК (miR) miR-93, обладающий кардиопротективным и проангиогенным действием, чем в ПП (Hazarika et al., 2013; Slagsvold et al., 2014).

Суммируя описанные в разделе результаты исследований, можно выдвинуть предположение о том, что ЛП имеет больший потенциал к возникновению к возникновению нарушения ритма и вызванному им ремоделированию, особенно в условиях гиперактивации ВНС.

При фибрилляции предсердий

Общепринята концепция, что ЛП обладает большей уязвимостью к ФП (Sarmast et al., 2003; Huang et al., 2006; Кобалева et al., 2017; Linz et al., 2019; Абдуллаева и соавт., 2023). Молекулярные данные связывают такую уязвимость со снижением экспрессии гена PITX2c, специфичного для левого отдела сердца (Kirchhof et al., 2011). Этот ген в ЛП подавляет экспрессию генов, отвечающих за развитие синоатриального узла (Wang et al., 2010).

На собаках с вызванной электрической тахи-стимуляцией ФП было показано, что ремоделирование ВНС в виде увеличения симпатической иннервации происходит неодинаково для предсердий – максимальные плотности нервных сплетений

обнаруживались в регионе вокруг синоатриального узла, т.е. в своде ПП вблизи впадения верхней полой вены (Jayachandran et al., 2000). С другой стороны, на образцах ткани человека максимальные плотности ганглиев обнаруживались в зоне устья коронарного синуса и нижними легочными венами (преимущественно у пациентов мужского пола), а также между верхней и нижней легочными венами (у пациентов женского пола), тогда как минимальная плотность ганглиев выявлялась в зоне атриовентрикулярного узла (Митрофанова и соавт., 2017). Таким образом, для миокарда человека максимальные плотности иннервации при вызванном ФП ремоделировании ВНС отмечаются со стороны ЛП, а не ПП.

На сердцах крыс с ФП, ассоциированной с артериальной гипертензией, показано, что ЛП, а не ПП, подвергается выраженной гипертрофии с увеличением площади поперечного сечения кардиомиоцитов (Parikh et al., 2013). На сердцах овец было обнаружено, что площадь задней части ЛП вблизи легочных вен подвергается выраженному структурному ремоделированию при хронической ФП, увеличивалась в ~1.3 раза относительно значений, регистрируемых у здоровых животных; при этом, морфология ПП не претерпевает изменений (Filgueiras-Rama et al., 2012).

Неодинаковое ремоделирование электрической функции в ЛП и ПП при ФП было показано во многочисленных исследованиях. Для ЛП сообщаются большие частоты эктопического возбуждения при ФП, по сравнению с ПП, как было описано на предсердном миокарде овец (Filgueiras-Rama et al., 2012). При пароксизмальной ФП был выявлен межпредсердный градиент токов I_{K1} за счёт увеличения экспрессии соответствующих каналов в ЛП (Voigt et al., 2010, Schüttler et al., 2020). Согласно предполагаемым механизмам, дальнейшее ремоделирование, вызванное ФП, вызывает увеличение экспрессии каналов токов I_{K1} , I_{KAch} и $K_{2P3.1}$ наряду со снижением I_{CaL} , что провоцирует уменьшение длительности ПД и стабилизирует re-entry уже в обоих предсердиях (Chen et al., 2014; Schüttler et al., 2020; Saljic et al., 2022). При этом, степень электрической неоднородности между ЛП и ПП повышается с увеличением длительности нарушений ритма (Lau et al., 2013) за счёт снижения I_{to} в ЛП, I_{Kur} в ПП и увеличения неспецифических K^+ токов в обоих предсердиях (Schüttler et al., 2020). Экспериментальные работы сообщают о большем укорочении эффективного рефрактерного периода в ЛП по сравнению с ПП, что было более выражено в ушке предсердий, чем в кардиомиоцитах свободной стенки (Lau et al., 2013). Наряду с этим, большая плотность экспрессии I_{KAch} в ЛП при ФП, сопряжённой с холинергической перегрузкой, приводит к возникновению большего числа re-entry относительно ПП (Sarmast et al., 2003; Huang et al., 2006; Voigt et al., 2010).

Сообщаются различия в источниках окислительного стресса между ЛП и ПП. Для ЛП увеличение продукции АФК связывают с повышением активности Rac1 и НАДФН-оксидазы и уровня белков NOX2 и p22phox (Dudley et al., 2005; Reilly et al., 2011; Yoo et al., 2020). Для ПП развитие окислительного стресса в большей степени связано с разобщённой активностью NO-синтаз и митохондриальных оксидаз, происходящей в большей степени при длительных формах ФП (Reilly et al., 2011; Goette et al., 2021). С другой стороны, при коротких формах ФП большее понижение уровня [NO]_i вследствие нарушения экспрессии NOS при окислительном стрессе отмечается в ЛП, но не в ПП (Cai et al., 2002). Следовательно, в условиях метаболического стресса, ассоциированного с развитием ФП, фокус функциональных изменений также может быть ожидаемо направлен в сторону ЛП.

Сравнение образцов миокарда ЛП и ПП пациентов с ФП с образцами, полученными от пациентов с нормальным синусовым ритмом, показало различия в паттерне экспрессии miR. По сравнению с ПП для ЛП отмечается увеличение уровней экспрессии miR-1 и miR-208, ответственных за электрическое ремоделирование предсердий и развитие наджелудочковых аритмий (Slagsvold et al., 2014).

Резюмируя литературные данные относительно различий функциональных особенностей ЛП и ПП, неоднородности их электрофизиологического ремоделирования при ФП, а также предрасположенности к развитию нарушения ритма на молекулярном уровне организации миокарда, можно предположить ЛП в качестве наиболее уязвимого отдела сердца к действию ФП. Можно предположить, что большее нарушение электрофизиологической функции ЛП при ФП через механизмы электромеханического сопряжения приведет к большему изменению характеристик сократительной функции ЛП по сравнению с ПП, что будет проверено в настоящей работе.

1.5 Механическая нагрузка как фактор регуляции работы миокарда

В норме

Адаптация сократительной функции камер сердца к непрерывно меняющимся в соответствии с потребностями организма характеристиками кровотока и давления обеспечивается не только комплексом внешних нейрогуморальных факторов, но и внутренними механизмами регуляции работы миокарда. Один из таких способов внутренней регуляции заключается в подстройке величины давления, формирующегося в стенках камеры в фазу их активного сокращения (систола), в соответствии с её растяжением при изменении объёма притекающей в фазу диастолы кровью. Такая адаптация сократительного ответа известна также как механизм Франка-Старлинга (Saks et al., 2006; Shiels and White 2008; de Tombe and ter Keurs, 2016; Zhang et al., 2017).

На уровне линейных сократительных объектов (таких как изолированная трабекула, папиллярная мышца и/или кардиомиоцит) зависимость «давление-объём», выражающая механизм Франка-Старлинга, представлена как зависимость «длина-сила». Анализ таких соотношений используется для оценки длинозависимой регуляции изменения силы сокращения, другими словами, инотропного ответа миокарда (Iribe et al., 2014; Zhang et al., 2017; Lookin et al., 2023). В миокарде в норме растяжение стенок камеры большим объёмом притекающей крови сопровождается положительным инотропным ответом составляющих стенку камеры сердца кардиомиоцитов вследствие их растяжения (Iribe et al., 2014).

На молекулярном уровне такая длинозависимая регуляция инотропного ответа сопряжена с несколькими факторами: сближение узлов решётки миофиламентов (Shiels and White 2008; Williams et al., 2013), уменьшение зоны перекрытия тонких филаментов, приводящее к увеличению доступности сайтов связывания для миозина (Shiels and White 2008; Fortuna et al., 2017), и, самый решающий, длинозависимая активация сократительных белков саркомера (Kobirumaki-Shimozawa et al., 2014; de Tombe and ter Keurs, 2016; Ait-Mou et al., 2016; Zhang et al., 2017), происходящая в пределах ~5 мс после растяжения (Mateja and de Tombe, 2012).

Длинозависимая активация сократительных белков саркомера представляет собой комплекс конформационных изменений сократительных белков, повышающих эффективность силогенерирующего актин-миозинового взаимодействия саркомера (Shiels and White 2008; Mateja and de Tombe, 2012; Ait-Mou et al., 2016). Установлено, что в условиях физиологических значений $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле кардиомиоцитов длинозависимая активация обусловлена в большей мере конформационными изменениями толстых филаментов саркомера – фосфорилирования регуляторных лёгких цепей миозина (RLC), ориентации головок миозина (Zhang et al., 2017), как и активация дополнительных миозиновых головок из неактивного состояния (OFF-state) (Campbell et al., 2018). В условиях сниженной $[Ca^{2+}]_i$ основная роль в длинозависимой активации отводится тонкому филаменту: происходит повышение кальциевой чувствительности тропонина С (ТnC) к Ca^{2+} с последующими конформационными изменениями остального тропонинового комплекса (ТnI и ТnТ), способствующих открытию дополнительных сайтов связывания для миозиновых головок с актиновым филаментом (Kobirumaki-Shimozawa et al., 2014; Zhang et al., 2017). Также большая роль в реализации длинозависимой активации отводится сердечному миозин-связывающему белку С (сМуВР-С) и титину, фосфорилирование которых способствует активации как тонкого, так и толстого филаментов саркомера (Mamdi et al., 2016; Ait-Mou et al., 2016; Ponnamm et al., 2019; Park-Holohan et al., 2021).

С увеличением длины кардиомиоцитов происходит увеличение Ca^{2+} чувствительности регуляторных белков саркомера вследствие их кооперативной активации (Smith et al., 2009; Lee et al., 2010; Kobirumaki-Shimozawa et al., 2014; Ait-Mou et al., 2016). Часть литературных данных показывает, что это происходит параллельно с длинозависимым увеличением амплитуды изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в цитозоле кардиомиоцитов (Janssen, 2010; Cingolani et al., 2013; Campbell et al., 2018; Lookin et al., 2023).

Кроме того, увеличение длины кардиомиоцита при его диастолическом растяжении приводит к выравниванию векторов напряжений отдельных саркомеров в его структуре (Li, et al., 2023). Аналогичным образом, при растяжении ткани миокарда происходит активация неактивных в нерастянутом состоянии сегментов, с последующей координацией векторов производимых усилий (Markhasin et al., 2012; Solovyova et al., 2016).

Описанные в литературе механизмы Франка-Старлинга преимущественно соотносятся с биомеханикой желудочковых камер. Однако, реализация механизма длинозависимой регуляции сократимости миокарда происходит и в предсердных камерах (Anwar et al., 2007; Lookin et al., 2023). При сравнении образцов предсердия и желудочка правого отдела сердца крысы было показано, что ПП, хотя и имеет меньшие величины сил активного и пассивного компонентов миокарда, также имеет схожий, хотя и более пологий характер зависимости «длина-сила» (Lookin et al., 2023).

В данном разделе важно упомянуть, что предсердия и желудочки находятся в функциональном и анатомическом взаимодействии, и величины действующих на них условий механического нагружений двусторонне взаимосвязаны (Кобалава и соавт., 2017; Nigam et al., 2019; Решвили и Сулимов, 2020; Reddy et al., 2020; Германова и соавт., 2020). Анатомически сопряжённые с желудочками предсердия модулируют их работу, выполняя следующие функции: резервуарную функцию для венозного возврата во время систолы желудочков, проводниковую функцию во время ранней диастолы желудочков и насосную функцию для увеличения наполнения желудочков в конце диастолы (Habibi et al., 2017; Кобалава и соавт., 2017). С другой стороны, показана модуляция работы предсердия желудочковой камерой: клинические данные обнаруживают взаимосвязь между увеличением объёма желудочка и соответствующем росте конечно-диастолического давления и увеличением величин объёма и давления в полости предсердий (Habibi et al., 2016; Pezel et al., 2022).

Таким образом, механическая нагрузка регулирует механическую и электрическую активность миокарда предсердий в нормальных условиях.

При фибрилляции предсердий

На настоящий момент малоизвестно как меняется длинозависимая регуляция сократимости предсердий при ФП. В ретроспективном исследовании с участием пациентов с ФП без абляции выявлены нарушения корреляции между объёмом и давлением, развиваемым ЛП (Lamy et al., 2024). Кроме того, несмотря на увеличение объёма ЛП при ФП вследствие его дилатации, заполнение камеры кровью происходит медленно (Lamy et al., 2024), что косвенно может способствовать формированию тромба в ушке ЛП (Кобалава и соавт., 2017). Также отмечается, что в предсердиях пациентов ФП снижается эффективность резервуарной функции и функции «трубы» и полностью отсутствует насосная функция, что вызывает нарушение желудочкового наполнения в рамках атриовентрикулярного взаимодействия (Habibi et al., 2016; Кобалава и соавт., 2017). В клинической практике предлагаются подходы по улучшению резервуарной функции ЛП при ФП путём хирургического «закрытия» ушка ЛП для облегчения действующей на миокард предсердия механической нагрузки (Coisne et al., 2017; Reddy et al., 2017). Согласно экспериментальным данным, полученным на изолированном предсердии собаки, закрытие ушка левого предсердия увеличивает крутизну зависимости «давление-объём» в ~2.5 раза, а также способствует хирургическому устранению участка потенциального формирования тромба (Davis et al., 1990).

В проспективном мультиэтническом популяционном исследовании MESA было установлено, что изменение индекса атриовентрикулярного взаимодействия является предиктором развития ФП (Rezel et al., 2022). В экспериментальных работах на свиньях было показано, что развитие аритмии после инфаркта миокарда связано с растяжением предсердий, которое происходит в ответ на увеличение конечно-диастолического давления наполнения с соответствующим увеличением объёма в левом желудочке (Ishikawa et al., 2018). В эхокардиографическом исследовании сердец пациентов с различной степенью диастолической дисфункции было выяснено, что размеры полости и объём ЛП находится в зависимости от выраженности нарушений диастолического наполнения левого желудочка (Yamano et al., 2017). Так, насосная функция ЛП была выше у пациентов с лёгкой степенью диастолической дисфункции левого желудочка, но постепенно снижалась по мере развития диастолической дисфункции в среднюю и тяжёлые формы. Вместе с этим, проводниковая функция предсердия, напротив, повышалась по мере увеличения степени диастолической дисфункции левого желудочка (Yamano et al., 2017). На основе этих данных можно предположить, что нарушение диастолической функции желудочка и насосной функции предсердий при ФП происходит по механизму положительной обратной связи, усугубляя друг друга по мере прогрессирования нарушений ритма.

Без рассмотрения функциональной взаимосвязи с желудочками, вызываемая ФП дилатация предсердий, с механистической точки зрения обусловлена перегрузкой давлением и/или объёмом вследствие нарушенной к ним адаптации миокарда предсердных камер развития из-за неоднородного фронта электрического возбуждения (Eijsbouts et al., 2003). Отмечается, что дилатация предсердий, сопряжённая с перегрузкой давлением/объёмом, может возникать вследствие хронически действовавших факторов риска и предшествующих заболеваний, вторично спровоцировавших ФП (Татарский и Напалков, 2023). Также показана и обратная взаимосвязь между дилатационными изменениями предсердных камер и возникновением неоднородного фронта их деполяризации вследствие возникновения спонтанной электрической активности при активации механочувствительных ионных каналов в кардиомиоцитах (Bode et al., 2000; Reugonnet et al., 2016), как было подробно описано в разделе 1.2.1. Кроме того, хроническое растяжение предсердий приводит к нарушению контакта между составляющими ими кардиомиоцитами из-за уменьшения экспрессии белков щелевых контактов, что также вносит вклад в замедление распространения волны электрического возбуждения и формирования очагов re-entry (Rucker-Martin et al., 2006). Следует отметить, что снижение механической нагрузки на предсердия, приводящее к дилатации предсердных камер, рассматривается как один из потенциальных механизмов ослабления ФП (Ishikawa et al., 2018; Gottlieb et al., 2023).

Устья легочных вен подвергаются наибольшему растяжению в ходе сердечного цикла, поэтому возникновение в них участков спонтанной электрической активации отчасти сопряжено с работой механочувствительных ионных каналов (Chang et al., 2007; Egorov et al., 2019).

Сообщается, что хроническая перегрузка давлением/объёмом способствует активации профибротических путей (Schotten et al., 2003, Wijesurendra and Casadei, 2019, Krishnan et al., 2021). Так, хроническая дилатация предсердий ассоциирована активацией с ростом экспрессии таких профибротических факторов как трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и фактор роста соединительной ткани (CTGF), которые активируют синтез белков внеклеточного матрикса при активации miR-21 и miR-208a и ингибирование miR-30a, miR-132, miR-26a и miR-29b (Nattel 2017; Sygitowicz et al., 2021). Для пациентов с персистирующей ФП и дилатацией предсердий выявляются более высокие уровни miR-21 (Chen et al., 2021), miR-328-3p и miR-133b (Mase et al., 2019). Активацию профибротических путей в миокарде предсердий при их хроническом растяжении также связывают с запуском MAPK-, JAK/STAT- и Ca^{2+} /кальмодулин-зависимых сигнальных путей, которые приводят к увеличению продукции ангиотензина II, способствующему увеличению экспрессии

профибротических факторов, пролиферации фибробластов и гипертрофии кардиомиоцитов (Schotten et al., 2003; Tan and Zimetbaum 2011; Sygitowicz et al., 2021). Также показано, что фибробласты соединительной ткани обладают набором механочувствительных ионных каналов (Stewart and Turner, 2021), активация которых ведет к дифференцировке фибробластов в миофибробласты, производящих проколлаген (превращающийся в коллаген I и III типов), фибронектин, металлопротеиназы и сшивающие коллагеновые волокна химические агенты (Nattel, 2017). С одной стороны данные изменения состава соединительной ткани миокарда создают более устойчивый к действию механических факторов соединительнотканый каркас, но с другой ведут к росту пассивной жёсткости мышцы (Herum et al., 2017) и, как следствие, к изменению характера длинозависимой регуляции силы сокращения и адаптационной способности миокарда (Lamy et al., 2024). Кроме того, наличие фиброзных участков в миокарде приводит к неоднородному распределению напряжений, что также сообщает предсердиям проаритмические условия (Gottlieb et al., 2023).

Кроме того, хроническое растяжение предсердий способствует увеличению [АФК]_i (Dobrev and Dudley, 2021; Goette et al., 2021), что в условиях уже вызванного ФП окислительного стресса будет провоцировать порочный круг повышения активации NOX2 (по механизму положительной обратной связи) (Dobrev and Dudley, 2021). Вызванное ростом [АФК]_i окислительное повреждение миофиламентов саркомера (Lenaerts et al., 2013; Steinberg, 2013; Moris et al., 2017; Goette et al., 2021) может приводить к снижению длинозависимой регуляции сократительного ответа на уровне одиночного кардиомиоцита, Также вызванная ростом [АФК]_i активация апоптотических пути в миокарде предсердий, в свою очередь, будет вызывать нарушения их адаптационной способности к действию механических нагрузок на уровне ткани (Tsutumi et al., 2008; Gutierrez et al., 2013; Purohit et al., 2013; Ishikawa et al., 2018). Однако то, как и насколько вызванное ростом [АФК]_i окислительное повреждение миофиламентов саркомера изменяет параметры сократительной функции предсердий на клеточном и тканевом уровне организации миокарда исследовано недостаточно.

Изменение механической нагрузки при ФП влияет на экспрессию эндотелиальной NO-синтазы. Так, возникновение турбулентного потока в полости предсердий, ведущему к изменению величины действующего на миокард механического напряжения, приводит к уменьшению экспрессии гена NO-синтазы за счёт роста величины опосредуемого током крови напряжения-сдвига (Davis et al., 2001; Cai et al., 2002; Davis et al., 2004). В свою очередь вызванное уменьшением экспрессии NO-синтазы снижение [NO]_i будет провоцировать развитие воспалительных процессов в миокарде (Rastaldo et al., 2007;

Gkaliagkousi and Ferro, 2011; Lei et al., 2013; Ren et al., 2018) и изменение электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах (Rastaldo et al., 2007; Bonilla et al., 2012).

Резюмируя данные о влиянии условий механической нагрузки предсердных камер на формирование субстрата ФП, в данной работе будет проверена гипотеза о возможных изменениях длинозависимой регуляции пассивной и активной силы миокарда ЛП и ПП. Можно выдвинуть предположение, что наиболее выраженные нарушения силы, вызванные ФП, будут наблюдаться при большем растяжении мышцы.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Экспериментальные группы животных

Эксперименты были выполнены на крысах Вистар в соответствии с положениями, изложенными в Директиве 2010/63/EU, и были одобрены комиссией Института иммунологии и физиологии УрО РАН по контролю за лабораторными животными (заключение этического комитета при ФБГУН ИИФ УрО РАН № 06/20). Все животные на протяжении эксперимента получали стандартный рацион, имели свободный доступ к пище и воде. Крысы всех участвующих в исследовании групп содержались в равных условиях (12 часов света/12 часов темноты), по 5–6 крыс в клетке, получали стандартный рацион (комбикорм для лабораторных мышей и крыс Дельта Фидс, ЛБК 120 С-19; БиоПро) со свободным доступом к корму и воде.

В возрасте 9 недель крысы были случайным образом поделены на несколько групп:

1. АЦХ-СаCl₂-индуцированная пароксизмальная форма ФП (одиночные кардиомиоциты N=17 животных; многоклеточные препараты N=10 животных);
2. Контрольная группа – интактные (здоровые) животные, выводимые из эксперимента в возрасте 10 недель (одиночные кардиомиоциты N=21 животных; многоклеточные препараты N=7 животных);
3. Группа интактных животных для экспериментов по прямому влиянию АЦХ – интактные крысы, выводимые из эксперимента в возрасте 10 недель (N=13 животных).

Оценка сократительной функции предсердного миокарда в норме и при пароксизмальной ФП вегетативного генеза выполнялась на одиночных кардиомиоцитах и мышечных полосках, изолированных из ушек предсердных камер. Исследование изолированного действия АЦХ на сократительную функцию миокарда предсердий было выполнено на одиночных кардиомиоцитах в остром эксперименте *in vitro*. Для определения камероспецифичных механизмов изменения механической функции при пароксизмальной ФП были выполнены измерения содержания [АФК]_i и [NO]_i в одиночных кардиомиоцитах. Дополнительно в рамках исследования механизмов ремоделирования сократительной функции миокарда предсердий при пароксизмальной ФП в контрольной группе и группе АЦХ-СаCl₂-индуцированной пароксизмальной ФП были проведены измерения уровня фосфорилирования белков саркомера (N=5 животных в каждой группе) и проведён гистологический анализ ткани предсердий (N=6 животных в каждой группе).

Непосредственно перед процедурой изоляции кардиомиоцитов и многоклеточных препаратов миокарда животные подвергались внутримышечной инъекции раствором гепарина натрия (5000 МЕ/кг) для предотвращения развития тромбоза коронарных артерий

и анестезии Золетилом-100 (Virbac, Франция) в дозировке 0.3 мл/кг с премедикацией 2% Ксилазином (Alfasan, Нидерланды) или Рометаром в дозировке 1 мл/кг за 30 и за 15 минут до эвтаназии, соответственно. Изъятие сердец для экспериментов выполнялось во время глубокого наркоза животных, смерть животных наступала в результате обескровливания.

2.2. Моделирование пароксизмальной формы ФП вегетативного генеза в эксперименте

Инициация пароксизмальной формы ФП вегетативного генеза была реализована при помощи модели АЦХ-СаСl₂-индуцированной ФП, описанной Zou и соавторами (Zou et al, 2016; Lv et al, 2019). В рамках методики крысы возрастом 9 недель подвергались серии инъекций в хвостовую вену в течение 7 дней раствором АЦХ-СаСl₂ (60 мкг/мл АСhСl, 10 мг/мл СаСl₂) в дозировке 1.3 мл/кг. Перед инъекцией место прокола обрабатывалось 70% этанолом в качестве стандартных мер асептики. Фиксация животных в момент инъекции выполнялась согласно патенту № RU2590637C1. До и после введения раствора АЦХ-СаСl₂ выполнялась регистрация ЭКГ при помощи электрокардиографа ECG300G-VET в трёх отведениях (Китай) под быстрой ингаляционной анестезией с использованием изофлурана для выявления пароксизмов. Для контроля устойчивости пароксизмов, дополнительные измерения ЭКГ проводились через 2 часа после инъекции.

В возрасте 10 недель крысы группы пароксизмальной АЦХ-СаСl₂-индуцированной ФП подвергались эвтаназии. К дальнейшим манипуляциям допускались животные, для которых были отмечены выраженные признаки развития патологического процесса в виде одышки, пониженной толерантности к физическим нагрузкам, общего ухудшения состояния, а также стойких изменений параметров ЭКГ (в виде отсутствия дискретных Р-волн и появления f-волн и нерегулярных R-R интервалов (Hindricks et al., 2020) (Рис. 2.1.)), проявлявшихся на протяжении всех 7 дней инъекций. При постановке модели длительность одиночных пароксизмов и амплитуда f-волн на ЭКГ не учитывались.

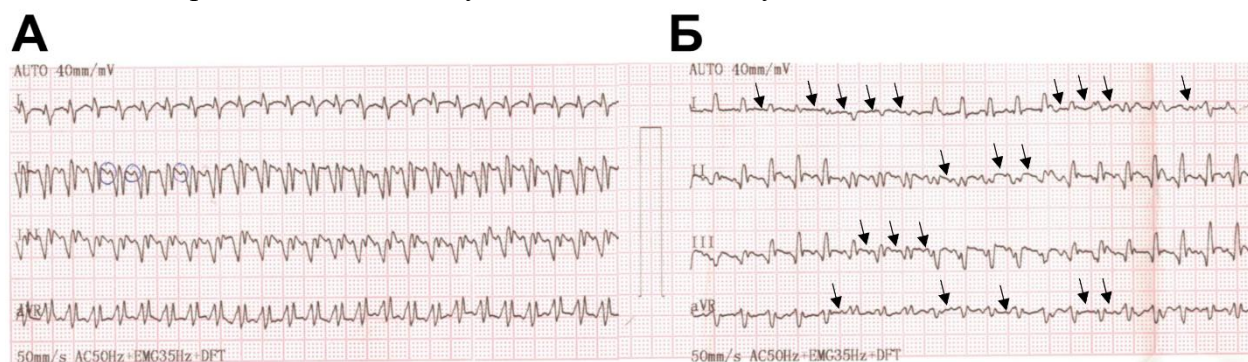


Рис. 2.1. Репрезентативные записи ЭКГ крысы на первый день постановки модели пароксизмальной формы ФП вегетативного генеза. А – До в/в введения раствора АЦХ-

CaCl₂. Б – После в/в введения раствора АЦХ-CaCl₂. Стрелками указаны эпизоды возникновения f-волн вместо Р-зубца, сопровождающиеся последующим критическим снижением амплитуды и полным исчезновением QRS-комплекса.

В случае постановки модели нескольким животным одновременно, вывод серии из эксперимента осуществлялся в срок ≤ 2 дней.

2.3. Изоляция одиночных кардиомиоцитов предсердий

Изоляция одиночных кардиомиоцитов предсердий была реализована посредством авторской методики (Butova et al., 2021), базирующейся на комбинации метода ретроградной перфузии изолированного сердца по Лангендорфу (Bell et al., 2011; Louch et al., 2011) в сочетании с методом инъекций раствором коллагенолитических ферментов непосредственно в камеры сердца (Ackers-Johnson et al., 2016; Myachina et al., 2019).

После эвтаназии сердце в открытой грудной клетке промывалось охлаждённым (15–16 °С) раствором кардиоплегическим раствором, после чего быстро помещалось на установку Лангендорфа, где подвергалось ретроградной перфузии (4.0–4.5 мл/мин) последовательной сменой трёх растворов при 35 °С и непрерывной подаче 100% O₂. На первом этапе сердце в течение 5 минут промывалось содержащим гепарин натрия физиологическим раствором (в мМ: 140.0 NaCl, 5.4 KCl, 1.2 MgSO₄, 10.0 HEPES, 20.0 таурин, 5.0 аденозин, 11.1 d-глюкоза, 1.0 CaCl₂, pH 7.35 с NaOH при 35 °С) для очищения коронарных сосудов от крови и стабилизации сердечных сокращений (около 80–110 уд/мин) в *in vitro* условиях. Далее производилось снижение возбудимости и ингибирование сократительной функции сердца посредством перфузии гиперкалиевым раствором с номинальным содержанием Ca²⁺ (в мМ: 115.0 NaCl, 14.0 KCl, 1.2 MgSO₄, 10.0 HEPES, 20.0 таурин, 5.0 аденозин, 11.1 d-глюкоза, 0.3 ЭГТА и 0.05 CaCl₂, pH 7.25 с NaOH при 35 °С) в течение ≈ 10 минут с момента полной остановки сокращений.

Процедура ферментативного расщепления межклеточного каркаса выполнялась в 4 этапа с использованием комбинации коллагенолитических ферментов: коллагеназы II активностью ~ 305 МЕ/мг (Worthington, США) и протеазы XIV активностью ~ 3.5 МЕ/мг (Sigma Aldrich, США). Проведение данной процедуры в несколько этапов со сменой концентраций ферментов и используемого оборудования позволяет провести изоляцию кардиомиоцитов с учётом различий в содержании соединительной ткани в миокарде ЛП и ПП и оперативно модулировать параметры перфузии в соответствии с меняющимся сопротивлением ткани. На первом этапе посредством ретроградной перфузии на аппарате Лангендорфа в изолированное сердце подавалась композиция: коллагеназа II 0.8 мг/мл и протеаза XIV 0.06 мг/мл. Спустя 3 минуты после начала ретроградной перфузии

изолированного сердца ферментативным раствором в предсердные камеры посредством инсулинового шприца дополнительно подавался раствор, содержащий 1.0 мг/мл коллагеназы II и 0.06 мг/мл протеазы XIV (Рис. 2.2 А). Такая комбинированная перфузия продолжалась до появления начальных признаков разрушения межклеточного каркаса: изменения цвета эпикардиальной поверхности и появления вязких капель. После этого сердце перемещалось в специальную чашку Петри (этап мягкой перфузии), содержащую ~0.9 мг/мл коллагеназы II и 0.06 мг/мл протеазы XIV, где выполнялась процедура ферментативного переваривания посредством инъекций в полость камеры левого желудочка (со скоростью 4–5 мл/мин) при температуре 35 °С и непрерывной подаче 100% O₂ (Рис. 2.2 Б). Для поддержания перфузионного давления все инъекции выполнялись в одну и ту же перфорацию (оставшуюся с предыдущего укола), а аорта и сосуд правого и левого предсердий плотно фиксировались лигатурами. Перфузия данного этапа продолжалась вплоть до появления признаков полного разрушения межклеточного каркаса желудочков: выход одиночных клеток в содержимое чашки Петри, побледнение эпикардиальной поверхности и образование на ней вязкой слизи, появление характерного переваренного мяса и расширение просвета перфораций, оставленных инъекцией. Далее выполнялась сепарация ЛП и ПП в отдельные чашки Петри и инъекционная перфузия продолжалась до полного разрушения соединительнотканного каркаса предсердных камер ~7–10 минут (Рис. 2.2 В, Г).

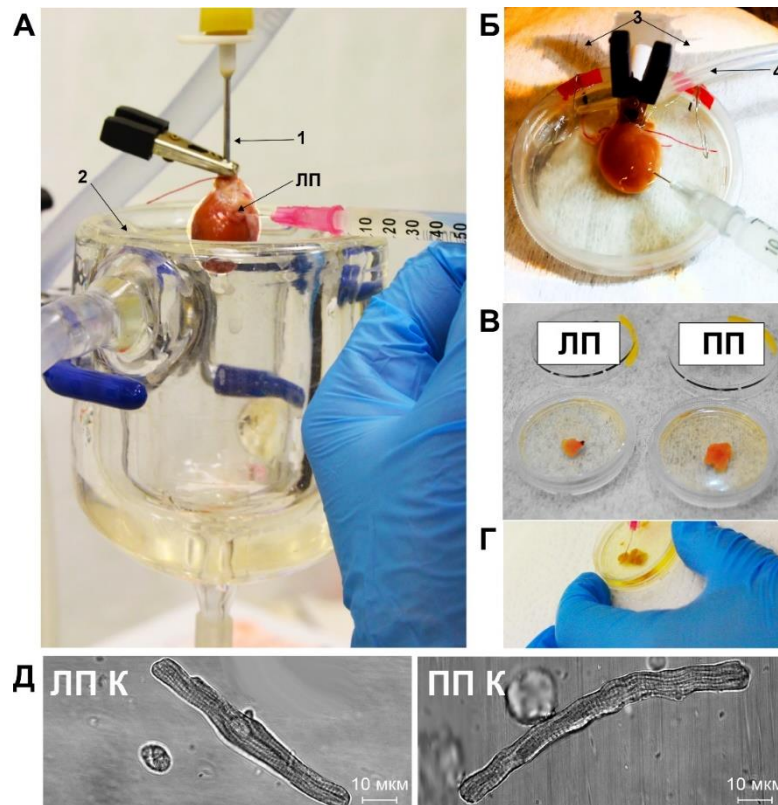


Рис. 2.2. Процедура ферментативного расщепления соединительнотканного каркаса

миокарда предсердий. А – Этап комбинированной перфузии изолированного сердца на аппарате Лангендорфа и инъекций в предсердные камеры. Б – Этап инъекционной перфузии целого сердца в чашке Петри. В – Изоляция предсердий. Г – Инъекционная перфузия предсердий. Д – Репрезентативные фотографии изолированных кардиомиоцитов ЛП и ПП интактной (К) крысы (увеличение 40х). 1 – канюля аппарата ретроградной Лангендорфа; 2 – термостатная чаша, 3 – нагревательная пластина; 4 – трубка подачи O_2 .

В каждой из экспериментальных групп время, затрачиваемое на каждый этап ферментативного переваривания, было различным. Наименьшее время занимало ферментативная обработка изолированных сердец контрольной группы – порядка 10–12 минут перфузии на аппарате Лангендорфа и 16–18 минут перфузии в чашке Петри. В сердцах с экспериментально вызванной ФП вегетативного генеза отмечалась пролонгация времени ферментативного разрушения: 12–15 минут перфузии на аппарате Лангендорфа и 25–30 минут перфузии в чашке Петри.

По окончании перфузии, предсердия механически измельчались, центрифугировались (в течение 2 минут при $7 \times g$ (200 об/мин)) и осаждались в серии содержащих бычий сывороточный альбумин (0.5%) растворов с постепенным подъёмом внеклеточной концентрации Ca^{2+} до физиологических значений (1.8 мМ).

Готовая суспензия изолированных миоцитов хранилась в HEPES-содержащем буфере Тироде (в мМ: 140.0 NaCl, 5.4 KCl, 1.0 $MgSO_4$, 10.0 HEPES, 11.1 d-глюкоза, 1.8 $CaCl_2$ мМ, pH 7.35 с NaOH) при 22–24 °C и использовалась в течение 6–8 часов. Репрезентативные изображения изолированных кардиомиоцитов ЛП и ПП представлены на рисунке 2.2 Д.

2.4. Измерение и анализ характеристик изменения длины саркомеров в кардиомиоцитах предсердий при их механически ненагруженных укорочениях

К измерениям допускались кардиомиоциты с характерной для предсердий веретенообразной формой и визуально сохранной поперечно-полосатой исчерченностью, демонстрирующие активные сокращения при частоте внешней электрической стимуляции 1 Гц.

Динамика длины саркомеров в кардиомиоцитах, сокращающихся без механической нагрузки, регистрировалась при помощи специализированного аппаратно-программного комплекса (MCSYS-02, IonOptix, США), оснащенного высокоскоростной видеокамерой для регистрации изображения кардиомиоцита (частота регистрации не менее 250 кадров/сек). Характеристики укорочения и расслабления саркомеров клетки рассчитывались по профилю интенсивности, формируемому на основе поперечнополосатой исчерченности в

выбранном регионе кардиомиоцита (при увеличении 40х), ориентированном вдоль продольной оси клетки. Измерения выполнялись при температуре 30 °С и частоте внешней электрической стимуляции 1 Гц.

Для сравнения характеристик сократительной функции кардиомиоцитов ЛП и ПП при их механически ненагруженных сокращениях оценивались следующие параметры: конечно-диастолическая длина саркомеров (КДДС), амплитуда укорочения саркомеров (в абсолютных единицах и нормированная на величину КДДС), максимальные скорости достижения пика укорочения ($V_{дп}$) и расслабления саркомера ($V_{др}$), а также времена достижения пика укорочения ($V_{дпс}$) и 50% расслабления саркомера ($V_{др50}$). Анализ параметров выполнялся при помощи средств программного пакета IonWizard (IonOptix, США).

В группе АЦХ- CaCl_2 -индуцированной ФП были выявлены альтернансы укорочения саркомеров, выраженные в виде чередующихся от сокращения к сокращению изменению амплитуды укорочения саркомеров в большую (*MAX*) и меньшую (*MIN*) стороны относительно уровней, регистрируемых в псевдостационарном (без видимых альтернансов) состоянии клетки (Рис. 2.3). В рамках работы был разработан подход к анализу альтернансов (Mikhryakova et al., 2022). Для каждой клетки с видимыми альтернанс-подобными изменениями параметров укорочения саркомеров выполнялся анализ величин амплитуды в парах *MIN* и *MAX*. Далее полученные значения сравнивались с усреднёнными величинами амплитуд, полученных с участков записи псевдостационарных сокращений клеток до (*before*) и после (*after*) эпизода с альтернансом. Значимый порог изменения амплитуды укорочения саркомеров *MIN* и *MAX* в альтернансе для дальнейшего включения в анализ составлял $\geq 5\%$ от величин амплитуды, регистрируемых в псевдостационарном состоянии сокращения клетки.

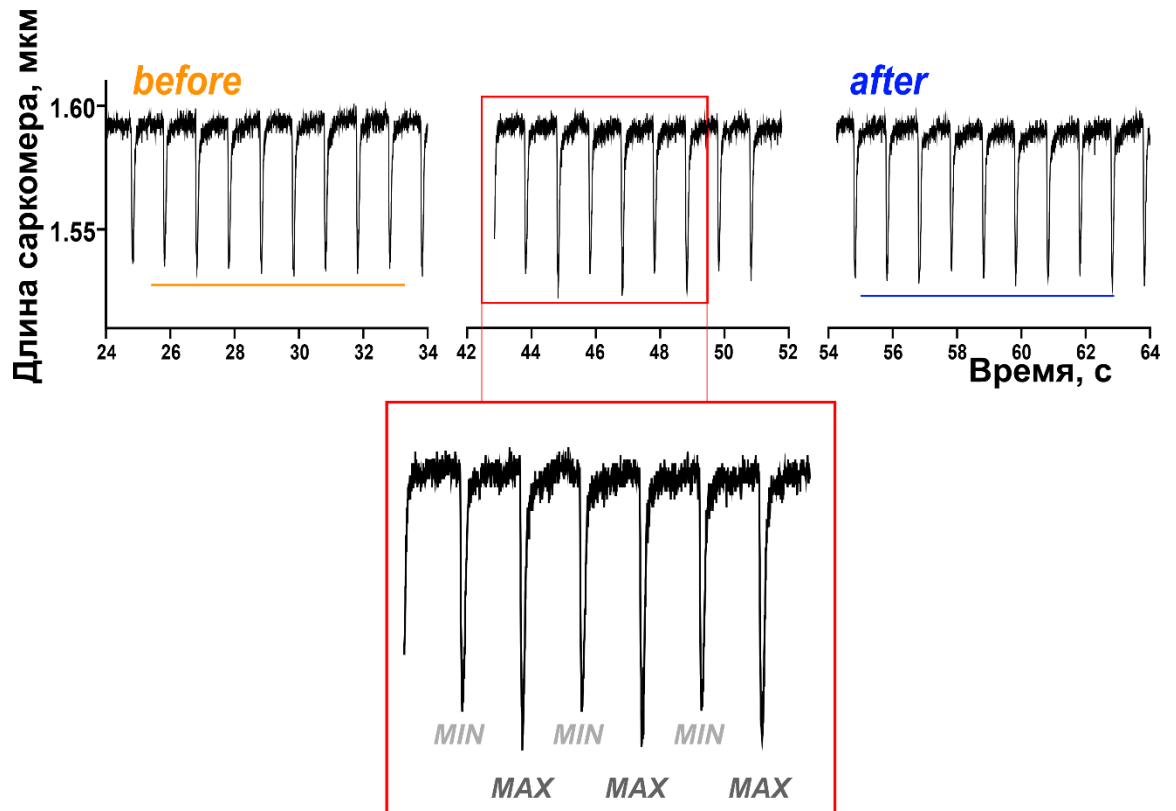


Рис. 2.3. Репрезентативное изображение альтернансов изменения длины саркомеров при сокращении кардиомиоцита. *before* – амплитуда укорочения саркомеров, регистрируемая в псевдостационарном состоянии до возникновения альтернирующего участка в записи; *after* – амплитуда укорочения саркомеров, регистрируемая после эпизода альтернансов; рамкой обозначен участок записи с альтернансами укорочения-расслабления саркомеров; *MIN* – отклонение амплитуды укорочения саркомеров, регистрируемое в альтернирующем участке, в сторону уменьшения от значения, регистрируемого в псевдостационарном состоянии; *MAX* – отклонение амплитуды укорочения саркомеров, регистрируемое в альтернирующем участке, в сторону увеличения относительно значения, регистрируемого в псевдостационарном состоянии

2.5. Измерение и анализ характеристик динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах предсердий при их механически ненагруженных укорочениях

Измерение динамики концентрации ионов кальция в цитозоле клетки ($[Ca^{2+}]_i$) в сокращающихся кардиомиоцитах предсердий при их стимуляции электрическим полем выполнялось при помощи системы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии LSM 710 и программного обеспечения Zen 2009 (Carl Zeiss, Германия). Для визуализации сигнала динамического изменения концентрации цитозольного кальция $[Ca^{2+}]_i$ использовали Ca^{2+} -чувствительный флюорофор Fluo-8AM (AAT Bioquest, Inc., США) в

концентрации 1.7 мкМ и 0.1% Pluronic® F-127 (AAT Bioquest, Inc., США). Для возбуждения флюорофора применялся аргоновый лазер с длиной волны 488 нм; регистрация флюоресценции производилась в оптическом канале 490 – 561 нм. В оптическом канале (при увеличении 40х) на поверхности изображения кардиомиоцита выбирался узкий регион интереса (3 пикселя высотой, 200–500 пикселей длиной), ориентированный вдоль продольной оси клетки. Указанные размеры региона интереса обусловлены необходимостью достижения временной дискретизации в пределах 1–3 мс в ходе линейного сканирования выбранного участка, что позволяет осуществлять измерения флюоресценции в режиме реального времени.

Для оценки содержания ионов Ca^{2+} в СР (СР $[\text{Ca}^{2+}]_i$) выполнялся протокол измерения с кофеином: после записи 10 циклов изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в цитозоле, внешняя электрическая стимуляция отключалась и, при непрерывной записи, к суспензии осуществлялась быстрая подача 10 мМ кофеина с помощью перфузионной системы (IonOptix, США). После регистрации индуцированного кофеином пика $[\text{Ca}^{2+}]_i$, для последующих измерений суспензия кардиомиоцитов заменялась на новую.

Измерения выполнялись при температуре 30°C и частоте внешней электрической стимуляции 1 Гц. Изменение цитозольного $[\text{Ca}^{2+}]_i$ при механически ненагруженных сокращениях кардиомиоцита и СР $[\text{Ca}^{2+}]_i$ анализировались по следующим параметрам: амплитуда изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в ходе цикла сокращения кардиомиоцита и СР $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (в единицах интенсивности флюоресценции красителя, нормированных на фоновое свечение кардиомиоцита ($\Delta F/F_0$)), а также времена достижения пика (ВДП_{Ca}) и 50% спада $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (ВДС₅₀). Анализ параметров флюоресценции цитозольного $[\text{Ca}^{2+}]_i$ выполнялся в программе EqarAll (версия 6.0, автор – Лукин О.Н.) (Myachina et al., 2019).

2.6. Регистрация и анализ характеристик силы сокращения кардиомиоцитов в условиях их механического нагружения

Регистрация силы изолированных кардиомиоцитов выполнялась при их ауксотоническом режиме сокращения (т.е. при произвольном укорочении кардиомиоцита под механической нагрузкой) с использованием метода четырёх карбоновых волокон (Iribe et al., 2014; Volzhaninov and Khokhlova, 2020). В рамках данного метода пара гибких и пара жёстких карбоновых волокон (≈ 10 мкм толщиной каждое) помещаются на поверхность мембраны кардиомиоцита, что обеспечивает фиксацию клетки при помощи сил электростатического взаимодействия (Рис. 2.4). В свою очередь, волокна, помещенные в стеклянные держатели изогнутой формы, крепятся к датчику силы (Aurora Scientific, Канада).

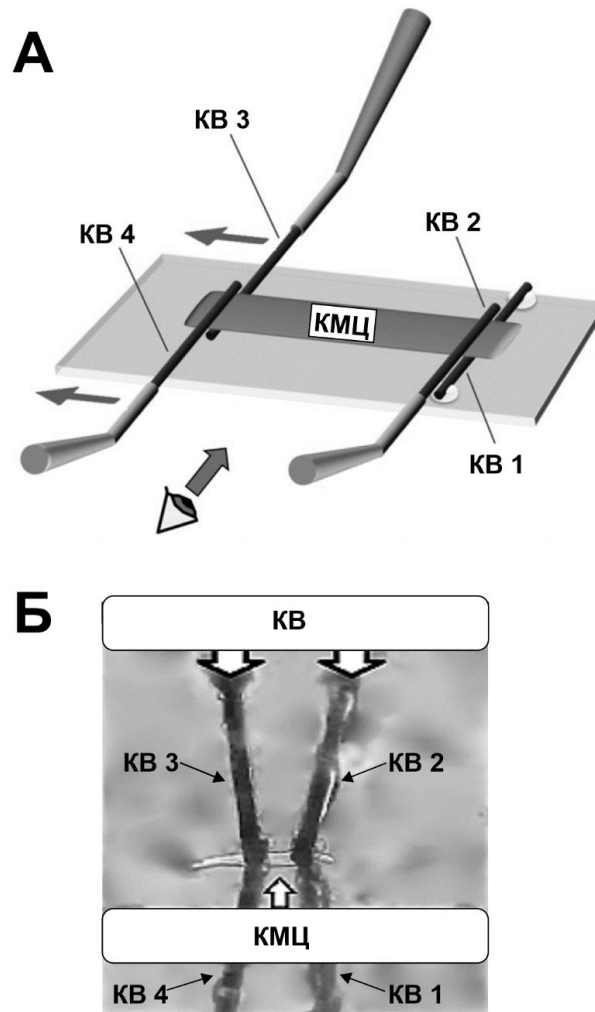


Рис. 2.4. Методика 4 карбоновых волокон для измерения силы одиночного кардиомиоцита. А – Принцип двусторонней фиксации изолированного кардиомиоцита в жёсткой (КВ 1–2) и гибкой (КВ 3–4) парах карбоновых волокон (Irigbe et al., 2014). Б – Репрезентативная фотография фиксации предсердного кардиомиоцита при помощи карбоновых волокон (увеличение 10х). КВ – карбоновое волокно; КМЦ – кардиомиоцит.

Измерение силы кардиомиоцита производилось при помощи аппаратно-программного комплекса (MCSYS-02, IonOptix, США), где в качестве выходного сигнала измеряли расстояние между карбоновыми волокнами в процессе сокращения кардиомиоцита. Сила, развиваемая клеткой в ходе цикла сокращения, рассчитывается по значениям коэффициента изгибающей жёсткости и изгибу гибкой пары карбоновых волокон (0.07–0.09 мН/мм) по формуле 2.1:

$$F = K \times \Delta L_{cf}, \quad (2.1)$$

где F – амплитуда ауксотонической силы, развиваемой кардиомиоцитом; K – коэффициент изгибной жесткости пары гибких карбоновых волокон; ΔL_{cf} – расстояние между правыми и левыми карбоновыми волокнами.

Измерения проводили при температуре 25°C и частоте электрической стимуляции 1 Гц. Для унификации условий между морфологически неоднородными кардиомиоцитами в выборке развиваемая сила нормировалась на площадь поперечного сечения клетки по формуле 2.2 и выражалась в единицах напряжения (мН/мм²):

$$T = F/(\pi d^2/12), \quad (2.2)$$

где T – амплитуда ауксотонического напряжения кардиомиоцита; F – амплитуда ауксотонической силы кардиомиоцита, выраженная в абсолютных значениях; $\pi d^2/12$ – площадь поперечного сечения кардиомиоцита, рассчитанная как площадь эллипса с соотношением 3:1 большого и малого диаметров кардиомиоцита, где d – большой диаметр (ширина) кардиомиоцита. Ширину клетки определяли при помощи программного пакета FIJI ImageJ (US National Institutes of Health, США) на основе изображения кардиомиоцита, полученного при увеличении объектива 40х. Для анализа силогенерирующей способности одиночного кардиомиоцита использовали следующие характеристики: амплитуда напряжения, а также максимальные скорости достижения пика напряжения ($V_{дп}$) и расслабления кардиомиоцита ($V_{др}$), а также времена достижения пика силы ($V_{ДПФ}$) и 50% расслабления ($V_{ДР50}$).

2.7. Регистрация и анализ характеристик силогенерации и зависимости «длина-сила» многоклеточных препаратов предсердий

Многоклеточные препараты ЛП и ПП изолировались из ушек предсердий сразу после эвтаназии животного. Для выделения многоклеточных препаратов использовали HEPES-содержащий буфер Тирод с добавлением ингибитора АТФ-азы миозина, 2,3-бутадион моноксим, и номинальным содержанием Ca^{2+} (в мМ: 140.0 NaCl, 5.4 KCl, 1.0 MgSO₄, 10.0 HEPES, 11.1 d-глюкоза, 0.2 CaCl₂, 30 мМ 2,3-бутадион моноксим, pH 7.35 с NaOH при 22–24 °C и 100% O₂). Данный раствор позволяет ингибировать сократительную активность изолируемой ткани и минимизировать повреждения препарата в процессе его выделения. Раствор подавался напрямую в камеры сердца после вскрытия грудной клетки животного (посредством инъекций в полость левого желудочка по методике Ackers-Jonhson и соавторов (Ackers-Jonhson et al., 2016)), а также использовался для наполнения

препаровальной кюветы. Для экспериментов вырезались длинные неразветвлённые многоклеточные препараты (мышечные полоски) ушек предсердий следующих параметров (в нерастянутом состоянии): длина 2000–3500 мкм, ширина (большой диаметр) 450–650 мкм и высота (малый диаметр) 150–350 мкм. В ПП препараты выбирались таким образом, чтобы избежать захвата ткани синоатриального узла. Репрезентативные фотографии раскрытых по внешней кромке предсердных камер с подходящими для изоляции мышечными тяжами с представлены на рисунке 2.5.

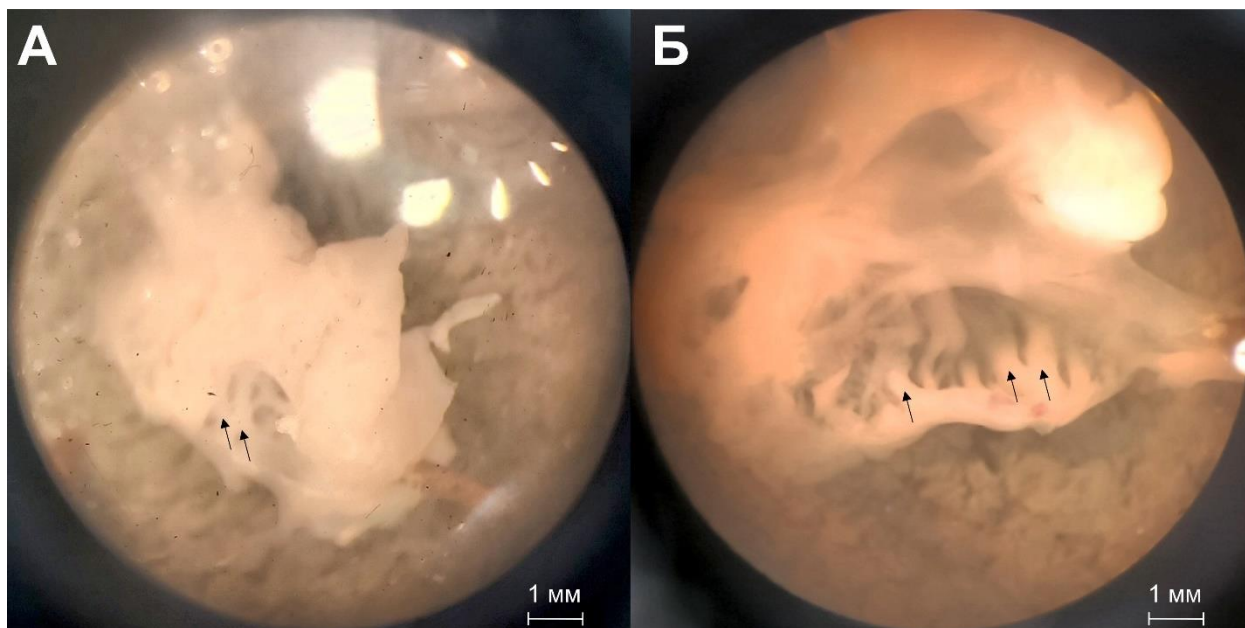


Рис. 2.5. Репрезентативные изображения левого (А) и правого (Б) предсердий интактных крыс (увеличение 1х). Стрелками указаны подходящие для изоляции многоклеточные препараты (мышечные полоски).

Измерения механической активности изолированных полосок предсердий были реализованы при помощи двухканального аппаратно-программного комплекса, разработанного в лаборатории биологической подвижности ИИФ УрО РАН, при 30°C и частоте электрической стимуляции 1 Гц. Конфигурация данного комплекса позволяла задавать механическую нагрузку и регистрировать развиваемую силу одновременно с двух препаратов. Изолированные препараты помещались в термостатируемую кювету и фиксировались к датчику силы и линейному сервомотору длины при помощи пластиковых зажимов. На протяжении измерений многоклеточные препараты подвергались перфузии HEPEs-содержащим буфером Тироде (в мМ: 140.0 NaCl, 5.4 KCl, 1.0 MgSO₄, 10.0 HEPEs, 11.1 d-глюкоза, 1.8 CaCl₂, рН 7.35 с NaOH при 30°C) с непрерывной подачей O₂ для минимизации возможных гипоксических эффектов. Непосредственно до начала

проведения тестовых испытаний и запуска экспериментальных протоколов многоклеточный препарат предсердия сокращался при активной перфузии раствором в изометрическом режиме сокращения (т.е. в режиме без изменения длины в ходе цикла сокращения-расслабления) в течение 40 минут с целью удаления ингибитора АТФ-азы миозина 2,3-бутандион моноксима и восстановления сократительной способности. К измерениям допускались препараты, демонстрирующие стабильную после удаления 2,3-бутандион моноксима силогенерирующую способность на протяжении 30 минут.

Перед началом измерений при помощи окуляр-микрометра производилось определение длины, а также большого и малого диаметра препарата в нерастянутом состоянии для последующего вычисления площади поперечного сечения и определения развиваемого препаратом механического напряжения. Затем аппаратно-программными средствами определялась длина препарата (L_0), соответствующая минимальным значениям активного и пассивного напряжения. Далее путём последовательных диастолических растяжений препарата в изометрическом режиме сокращения определялась его длина, соответствующая максимальной активной силе препарата (L_{MAX}). Репрезентативные протоколы определения L_{MAX} препаратов анализируемых групп представлены на рисунке 2.6.

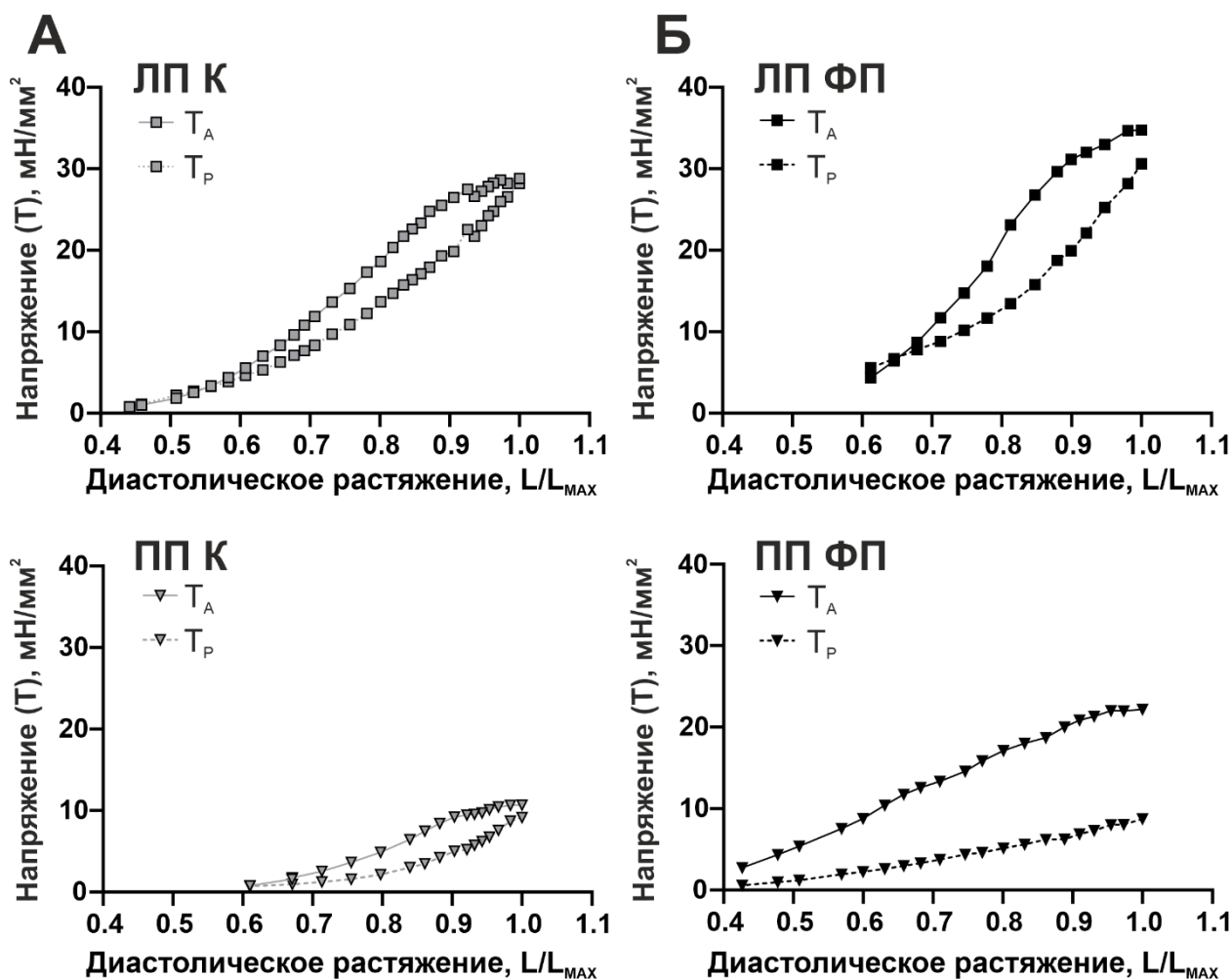


Рис. 2.6. Регистрация амплитуд активного напряжения и значений пассивного напряжения многоклеточного препарата для определения длины, соответствующей максимальной силогенерации в изометрическом режиме работы препарата (L_{MAX}). А – записи протокола для многоклеточных препаратов ушка ЛП (верхняя панель) и ПП (нижняя панель), изолированных из сердец интактных животных. Б – записи протокола для многоклеточных препаратов ушка ЛП (верхняя панель) и ПП (нижняя панель), изолированных из сердец животных с пароксизмальной АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной ФП. К – контрольная группа; ФП – группа АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП; T_A – амплитуды активного напряжения; T_P – величины пассивного напряжения. Диастолическое растяжение представлено в единицах деформации (L/L_{MAX}) долях от L_{MAX}

Протокол измерения включал в себя регистрацию ауксотонических и изометрических укорочений препарата при его диастолическом растяжении (задании (преднагрузок) в единицах деформации в долях от L_{MAX} : 0.80, 0.85, 0.90, 0.95 и 1.00. Ауксотонический режим имитировал работу одиночного кардиомиоцита в условиях его

механического нагружения с одновременным изменением длины и силы в ходе цикла сокращение-расслабление (см. Рис. 2.7 А) и был необходим для сопоставления данных о сократительной активности предсердий на клеточном и тканевом уровне организации миокарда. Проведение измерений изометрическом режиме сокращения препарата (т.е. без изменения его длины в ходе цикла сокращение-расслабление, см. Рис. 2.7 Б) было необходимо для определения влияния пароксизмальной АЦХ- CaCl_2 -индуцированной ФП на максимальную силогенерирующую способность многоклеточного препарата.

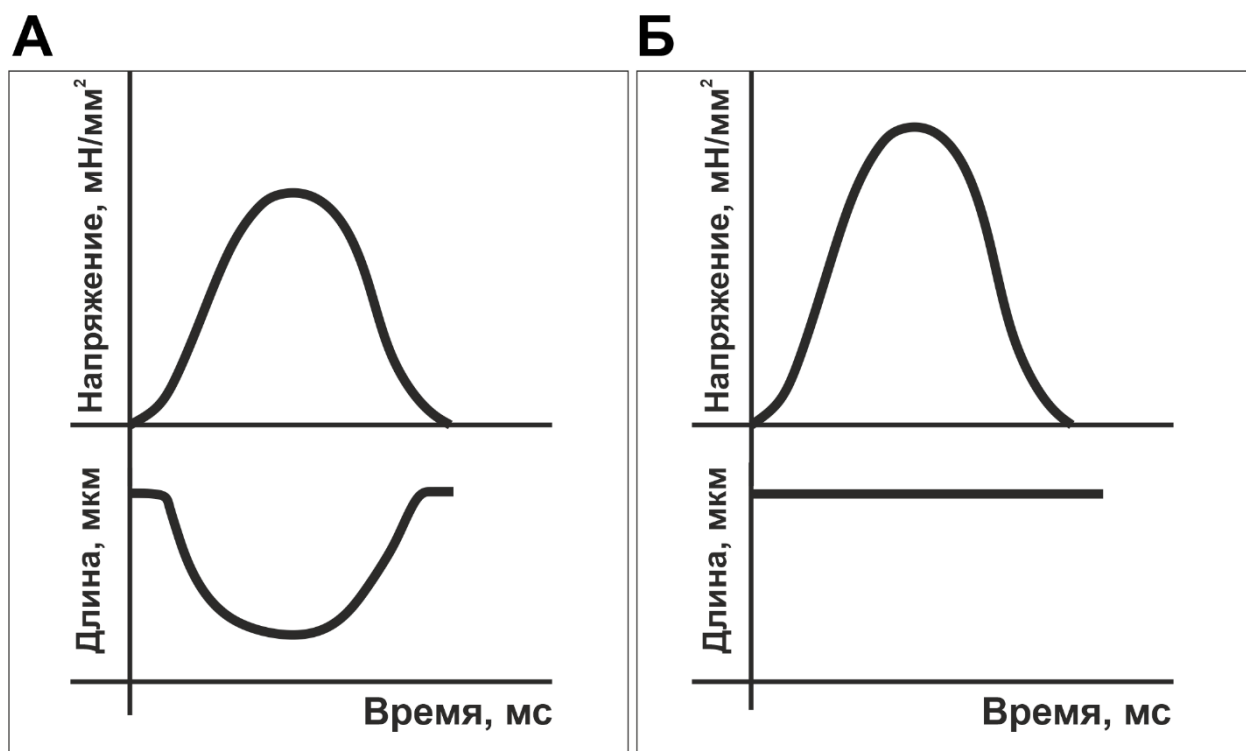


Рис. 2.7. Репрезентативные профили изменения механического напряжения и длины многоклеточного препарата в ауксотоническом и изометрическом режиме сокращения. А – Ауксотонический режим. Б – Изометрический режим.

Для реализации ауксотонического укорочения препарата в программном обеспечении EqarAll (версия 6, авторы – Балакин А.А., Лисин Р.В.) эмпирическим путём выполнялся подбор параметров движения сервомотора по формуле 2.3:

$$\Delta L = (F_i - F_0) \times (100 - \text{AfterLoad}) / k, \quad (2.3)$$

где ΔL – амплитуда формирующегося укорочения; $(F_i - F_0)$ – величина силы (в абсолютных значениях), развиваемая препаратом в данный момент времени, измеренная как разница между пиковым значением (F_i) и начальным уровнем силы (F_0); k – коэффициент, определяющий величину укорочения; *AfterLoad* – коэффициент, определяющий силу ауксотонического укорочения препарата в % от изометрической силы.

Для обеспечения большой амплитуды укорочения с выраженным входным сигналом активной силы, сохраняющим колоколообразную форму, коэффициент AfterLoad задавался как 10%, а k укорочения соответствовал интервалу от 1 до 15 (в зависимости от величин растяжения и активной силы изометрического сокращения). Для унификации условий ауксотонического укорочения при растяжении препарата и между препаратами, коэффициент AfterLoad был принят как константа.

С целью минимизации ошибки измерения, вызванной шумом сервомотора длины, финальные зависимости «длина – сила» кусочно-линейной аппроксимации для определения истинных точек, соответствующих значениям диастолического растяжения, включенных в анализ.

Дальнейший анализ характеристик зависимостей «длина-сила» выполнялся в программе EqarAll 6. Для сравнения значений силы препаратов различного диаметра величины активной и пассивной силы нормировались на площадь поперечного сечения мышцы и выражались в единицах напряжения ($\text{мН}/\text{мм}^2$). Для анализа длинозависимости силогенерации (крутизна зависимости «длина-сила») использовались абсолютные значения активной и пассивной компоненты силы сокращения препаратов.

Анализировались следующие характеристики: амплитуда активного и величина пассивного напряжения (T_A и T_P , соответственно), скорость достижения пика силы, нормированная на амплитуду силы сокращения ($(dF/dt)_{\text{MAX}}/F_{\text{MAX}}$), а также времена достижения пика силы (ВДП_F) и 50% расслабления (ВДР_{50}). Крутизна длинозависимости силогенерации препарата оценивалась по коэффициенту наклона аппроксимированных зависимостей «длина-сила» (см. формулы 2.4 и 2.5, раздел 2.13).

2.8. Оценка прямого действия АЦХ на характеристики сократительной функции одиночных кардиомиоцитов интактных животных

В экспериментах по прямому влиянию АЦХ суспензии кардиомиоцитов ЛП и ПП инкубировались в концентрациях 1, 10 и 100 μM АЦХ в течение 10 минут до начала измерений. В качестве контрольного раствора использовался HEPES-содержащий буфер Тироде (без добавления АЦХ). Регистрация укорочения саркомеров и изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ выполнялась в режиме механически ненагруженных сокращений кардиомиоцитов при температуре 30°C и частоте электрической стимуляции 1 Гц. Измерения выполнялись в течение 3–5 минут после окончания инкубации.

2.9. Оценка содержания АФК и NO в одиночных кардиомиоцитах предсердий

Для измерения уровня АФК в одиночных кардиомиоцитах был использован мембранопроницаемый реагент дигидроэтидиум (DHE, Sigma Aldrich, США). DHE окисляется супероксидом с образованием флюоресцентного 2-гидроксиэтидия (2-OH-E⁺), либо реагирует путём неспецифического окисления другими источниками АФК с образованием флюоресцентного этидия (E⁺). Для визуализации АФК суспензия кардиомиоцитов инкубировалась в темноте с добавлением 5 мкМ DHE в течение 30 минут при температуре 25°C.

Для обнаружения и количественного определения низких (как предполагается в кардиомиоцитах ФП группы) концентраций NO применялся 4-амино-5-метиламино-2',7'-дифторфлуоресцеин диацетат (DAF-FM, Sigma Aldrich, США). Данный реагент практически не флуоресцирует, пока не вступит в реакцию с NO с образованием флуоресцентного бензотриазола. Он пассивно диффундирует через клеточные мембраны и, попав внутрь клетки, превращается в мембранонепроницаемую форму. Квантовый выход флуоресценции DAF-FM составляет ~0.005, но увеличивается до ~0.81 после реакции с NO. Для окрашивания флуорофором суспензия кардиомиоцитов инкубировалась с добавлением 5 мкМ DAF-FM в течение 30 минут при температуре 37°C.

Регистрация свечения флуорофоров на определение [АФК]_i и [NO]_i выполнялось при помощи системы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии LSM 710. Для возбуждения DHE применялся аргоновый лазер 405 нм и оптический канал регистрации 410–460 нм. Для возбуждения DAF-FM применялся аргоновый лазер с длиной волны 488 нм и оптический канал регистрации 495–563 нм. Изображение окрашенного кардиомиоцита получали в режиме полноразмерного сканирования (разрешение 2048×2048 пикселей) с использованием масляного иммерсионного объектива с увеличением 63х. Измерения выполнялись в течение первых 30 минут после окрашивания, что связано с низкой стабильностью красителей и их высокой токсичностью.

Анализ полученных изображений выполнялся в специальном программном обеспечении FIJI ImageJ (US National Institutes of Health, США). Программа позволяет в выбранном регионе анализа (задаваемым вручную) определять содержание АФК, строя распределение интенсивности свечения флуорофора в выбранной области. Анализировалась интенсивность свечения со всей поверхности клетки, что позволяет избежать ошибки в случае неравномерного распределения красителя внутри кардиомиоцита (см. Рис. 2.8).

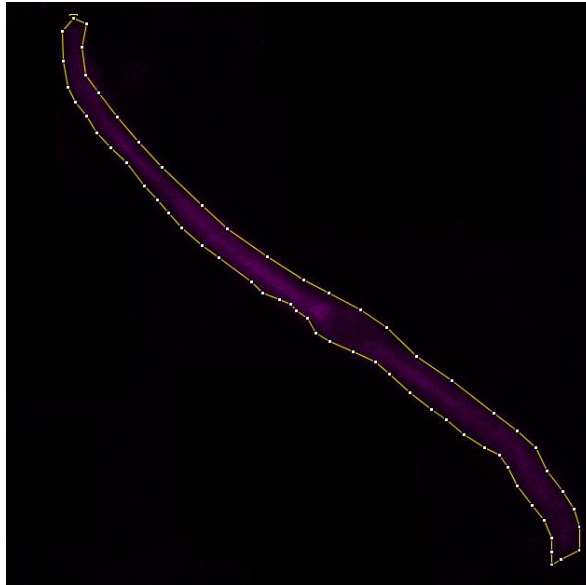


Рис. 2.8. Выделение региона анализа на изображении кардиомиоцита ЛП; жёлтой линией обозначены границы региона, белые стрелки указывают на зоны повышенной и пониженной интенсивности, возникшие вследствие неравномерного распределения флюорофора

Цвета окрашенных флюорофором объектов на изображении задаются в RGB кодировке в диапазоне от 0 до 255. В выбранном регионе анализа FIJI ImageJ строит распределение интенсивности свечения при помощи встроенной функции «Histogram» (см. Рис. 2.9). Программа автоматически определяет среднее значение интенсивности (по пику построенного распределения).

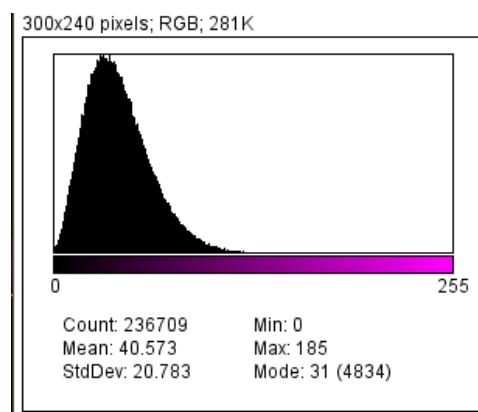


Рис. 2.9. Определение интенсивности свечения флюорофора в анализируемом регионе предсердного миоцита при помощи функции «Histogram»

2.10. Определение степени фосфорилирования белков саркомера

Определение степени фосфорилирования белков саркомера выполняли методом гель-электрофореза с окрашиванием Pro-Q Diamond Phosphoprotein (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкцией, указанной производителем. Для определения общего содержания белка после сканирования на ChemiDoc MP Imaging System (Bio-Rad, США) гели окрашивали SYPRO Ruby (Thermo Fisher Scientific, США). Степень фосфорилирования белков выражали как отношение интенсивности флуоресценции Pro-Q Diamond к SYPRO Ruby. В рамках исследования оценивались степени фосфорилирования сердечного миозин-связывающего белка С (сMyBP-C), лёгких регуляторных цепей миозина (RLC), а также белков тонкого филамента – тропомиозина (Tpm) тропонина Т (TnT) и тропонина I (TnI). Данный блок измерений был выполнен в лаборатории биологической подвижности ИИФ УрО РАН.

2.11. Гистологическая оценка структуры миокарда предсердий

Для гистологических измерений сердца фиксировались в 10% формалине в течение 24–48 ч, после чего подвергались стандартной гистологической проводке на станции Leica TP1020 (Leica Microsystems, Германия) с последующей заливкой органов в парафин на станции заливки Leica EG1160 (Leica Microsystems). Срезы толщиной 3–5 мкм изготавливались при помощи санного микротомы Leica SM2000R (Leica Microsystems).

Для определения толщины ушек предсердий и плотности распределения ядер в предсердной ткани применялось стандартное окрашивание гематоксилином и эозином с помощью системы Leica Autostainer XL (Leica Microsystems). Для оценки соединительнотканного компонента (содержания коллагена) депарафинированные срезы окрашивались с использованием 0.1% Пикросириус красный (Picro Sirius Red Stain Kit (ab150681, Abcam, Великобритания). Для определения количества саркомеров (миофибрилл) и гликогена в срезах применялась периодическая кислота Шиффа с окрашиванием метиленовым синим.

Морфометрические измерения и анализ морфологической картины проводили на микроскопе Leica DM2500 (Leica Microsystems), оснащённым видеокамерой Leica DFC420 (Leica Microsystems). Оценку толщины стенок предсердных камер и плотность распределения ядер в тканях ЛП и ПП выполняли с помощью программного обеспечения Leica Application Suite (Leica Microsystems); результат рассчитывали как среднее значение, полученное минимум с 20 репрезентативных областей на увеличении 40x и 100x. Анализ содержания коллагена, гликогена и числа саркомеров проводился в программном пакете ВидеоТест Морфология 5.2 («Видеотест», Россия). Для анализа рассчитывали соотношение

окрашенных областей к общей площади видимого поля на увеличении 40x и 100x; повторность измерений для каждого образца составила не менее 10 раз. Данный блок измерений был выполнен в лаборатории морфологии и биохимии ИИФ УрО РАН.

2.12. Измерение и анализ морфометрических характеристик одиночных кардиомиоцитов

Регистрация изображений кардиомиоцитов для измерения морфометрии выполнялась в оптическом канале конфокального микроскопа LSM710 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении объектива 40x. Оценка морфометрических характеристик: длины и ширины (диаметра) одиночных кардиомиоцитов выполнялась при помощи программного пакета FIJI ImageJ. Данное программное обеспечение позволяло вручную задать на поверхности клетки область для анализа. В случае неоднородности формы кардиомиоцита (например, наличия утолщений, перетяжек), измерение морфометрической характеристики выполнялось в точках максимального и минимального значений, после чего вычислялось среднее значение параметра.

2.13. Статистический анализ данных экспериментов

В блоке экспериментов по анализу характеристик сократительной функции миокарда предсердий в норме и при ФП проводилось сравнение между следующими группами:

1. ЛП vs. ПП;
2. Норма vs. пароксизмальная форма ФП.

В блоке экспериментов по выяснению острого влияния АЦХ проводилось сравнение между следующими группами:

1. ЛП vs. ПП;
2. Контроль (0 мкМ АЦХ) vs. 1, 10 и 100 мкМ АЦХ;

Статистический анализ полученных данных выполнялся при помощи пробной версии программы GraphPad Prism 8.0 (GraphPad, США) и R Studio (RStudio Team, Integrated Development for R., США). Нормальность распределения подтверждалась применением критерия Шапиро-Уилко (Shapiro-Wilk test), гомогенность дисперсий проверялась критерием Барлетта (Bartlett's test). Для сравнения параметров сократительной функции одиночных кардиомиоцитов между группами использовали иерархический кластерный анализ (Sikkel et al., 2017), 1-факторный дисперсионный анализ с поправкой Даннетта или критерий Краскелла-Уоллиса с поправкой Данна. Для анализа характеристик

гистологического исследования и уровня фосфорилирования выполнялся тест Шейрера-Рея-Хара с поправкой Бонферрони.

Характеристики функции многоклеточных препаратов сравнивались при использовании критерия Краскелла-Уоллиса с поправкой Данна. Для аппроксимации активного компонента силы было использовано уравнение линейной регрессии (см. формулу 2.4):

$$Y = Y_0 + k * x, \quad (2.4)$$

а для аппроксимации пассивного компонента применялось уравнение экспоненциального роста (см. формула 2.5):

$$Y = Y_0 * \exp(k * x), \quad (2.5)$$

Для анализа крутизны зависимости «длина-активная сила» использовался коэффициент k из формулы (2.4), для анализа крутизны зависимости «длина-пассивная сила» – коэффициент k из формулы (2.5). Коэффициент детерминации для аппроксимируемых данных R^2 был больше 0.7. Все представленные для статистического анализа данные выражены как медиана и межквартильный интервал. Различия между группами считались статистически значимыми при значении $p < 0.05$.

Для создания графиков, представленных в данном исследовании, использовалась программа GraphPad Prism 8.0.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Исследование межпредсердных особенностей сократительной функции миокарда предсердий крыс в норме

Оценка сократительной функции миокарда предсердий интактных животных и сравнение степени межпредсердной неоднородности являлись первым этапом работы.

Уровень одиночного кардиомиоцита

Сравнительную оценку сократительной функции одиночных кардиомиоцитов ЛП и ПП проводили, анализируя следующие характеристики: амплитудные и временные параметры укорочения саркомеров при механически ненагруженных укорочениях кардиомиоцита, механического напряжения кардиомиоцита и динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле в ходе цикла сокращения кардиомиоцита и СР $[Ca^{2+}]_i$.

Оцениваемые параметры и репрезентативные профили укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП и ПП в норме представлены на рисунке 3.1. Анализ средних значений в группах приведен на рисунке 3.8, раздел 3.2.1.

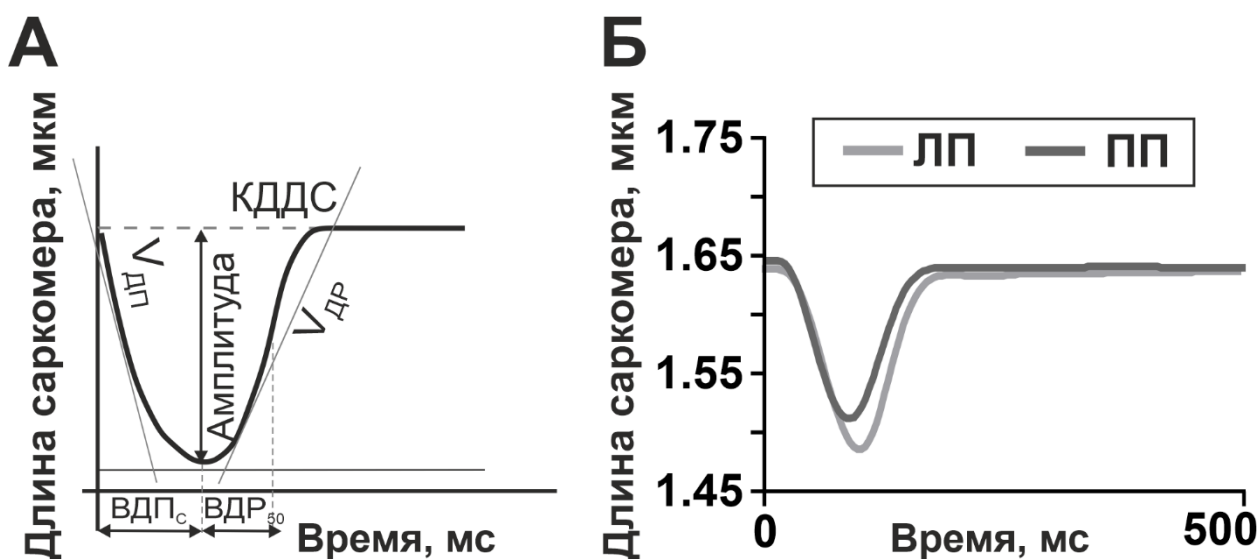


Рис. 3.1. Репрезентативные сигналы изменения длины саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах. А – Анализируемые характеристики укорочения саркомеров. Б – Репрезентативные профили укорочения саркомеров одиночных кардиомиоцитов ЛП и ПП интактных животных

По всем анализируемым параметрам динамики длины саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах была обнаружена однородность (равенство величин) характеристик сокращения кардиомиоцитов ЛП и ПП. Несмотря на то, что амплитуды

укорочения саркомеров были несколько больше в кардиомиоцитах ЛП по сравнению с кардиомиоцитами ПП (9.1 % vs. 7.7 % для амплитуд, нормированных на величину КДДС), различия по этому параметру были недостоверны ($p > 0.99$, U-тест Манна-Уитни).

Оцениваемые параметры и репрезентативные профили механических напряжений, развиваемых кардиомиоцитами ЛП и ПП в норме при их механическом нагружении карбоновыми волокнами представлены на рисунке 3.2. Анализ средних значений в группах приведен на рисунке 3.12, раздел 3.3.1.

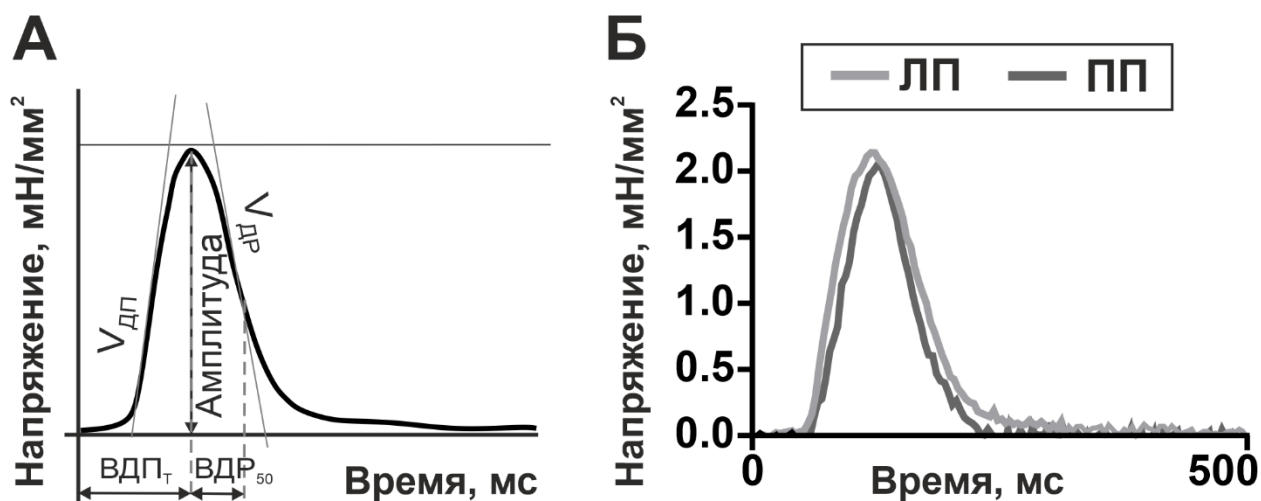


Рис. 3.2. Репрезентативные сигналы напряжения аусотонического сокращения кардиомиоцита при его механическом нагружении. А – Анализируемые характеристики аусотонического напряжения. Б – Репрезентативные профили аусотонического напряжения одиночных кардиомиоцитов ЛП и ПП интактных животных

Аналогично результатам, полученным для динамики длины саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах, между кардиомиоцитами ЛП и ПП не было обнаружено достоверных различий по всем анализируемым параметрам аусотонического напряжения. Таким образом, равенство параметров активного напряжения кардиомиоцитов ЛП и ПП согласуется с межкамерной однородностью динамики саркомеров, несмотря на разницу в условиях механического нагружения кардиомиоцита.

Для понимания механизмов однородности параметров укорочения саркомеров и силогенерирующей способности кардиомиоцитов ЛП и ПП в норме были проанализированы уровни фосфорилирования белков саркомера ЛП и ПП интактных животных (см. рис. 3.22, раздел 3.4.3). Уровни фосфорилирования сМуВР-С, RLC, а также белков тонкого филамента – Тpm и ТnI, не демонстрировали различий между ЛП и ПП. Однако, обнаружено, что уровень фосфорилирования ТnТ в ЛП в ~2 раза выше, чем в ПП

(1.879 vs. 0.8979, соответственно, $p=0.021$, U-тест Манна-Уитни). Полученные результаты согласуются с данными о механической активности одиночных кардиомиоцитов ЛП и ПП и подтверждает отсутствие различий в параметрах сократительной функции между предсердными камерами.

Далее нами были проанализированы межпредсердные особенности изменения $[Ca^{2+}]_i$, как промежуточного звена электромеханического сопряжения, которое может вносить вклад в динамику изменения длины саркомеров и силогенерацию кардиомиоцитов. Оцениваемые параметры $[Ca^{2+}]_i$ и СР $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах ЛП и ПП интактных сердец представлены на рисунке 3.3. Анализ средних значений в группах приведен на рисунке 3.11, раздел 3.2.2.

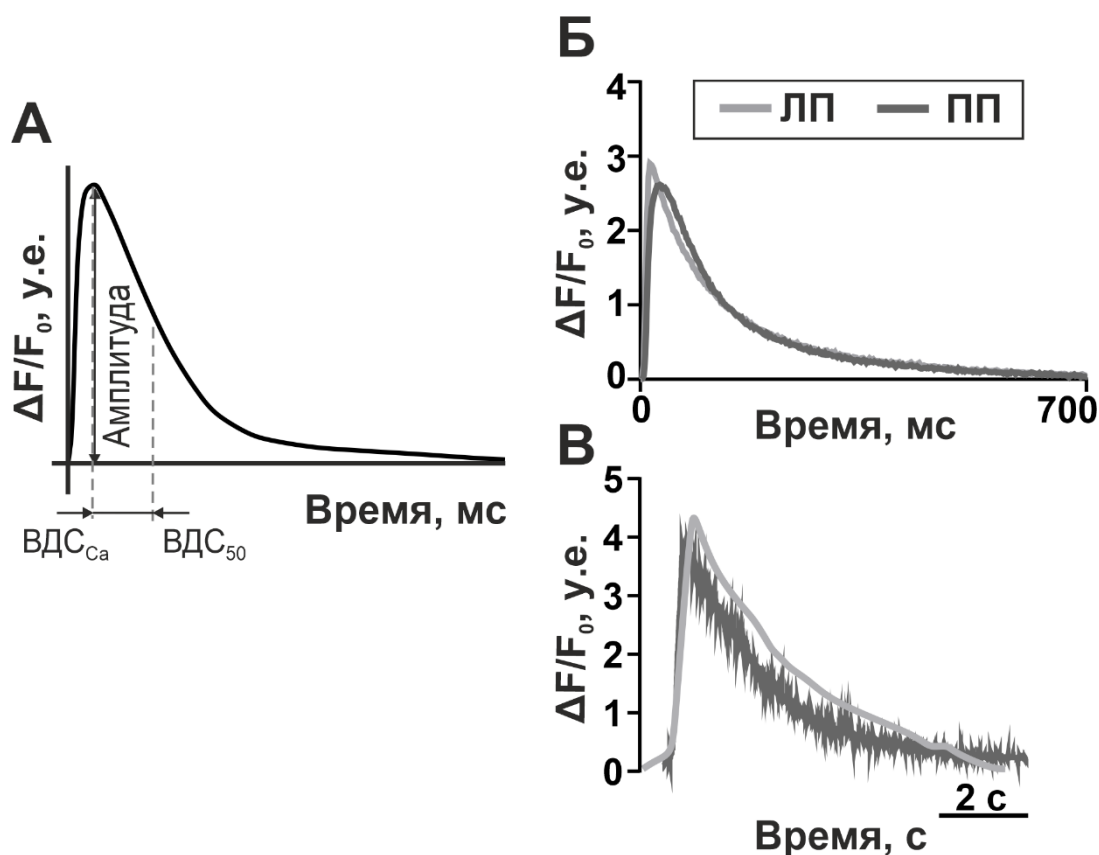


Рис. 3.3. Репрезентативное изменение $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле при механически ненагруженных сокращениях кардиомиоцита. А – Анализируемые параметры изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле. Б – Репрезентативные профили изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле одиночных кардиомиоцитов ЛП и ПП интактных животных. В – Репрезентативные профили $[Ca^{2+}]_i$, вызванные опустошением СР под действием кофеина. у.е. – условные единицы флюоресценции.

Не было найдено отличий как в амплитудных и временных параметрах изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле, так и в амплитудах вызываемого кофеином СР $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах ЛП и ПП. Можно предположить, что однородность кинетики Ca^{2+} в кардиомиоцитах обуславливает однородность параметров динамики саркомеров и ауksотонического напряжения для ЛП и ПП в норме.

Таким образом, однородность механической функции на уровне одиночного миоцита (динамики саркомеров и силы сокращения кардиомиоцита) для ЛП и ПП согласуется с однородностью степени фосфорилирования белков саркомера и однородностью внутриклеточной динамики $[Ca^{2+}]_i$.

Тканевый уровень организации миокарда

На первом этапе было оценено изменение значений активной и пассивной силы в зависимости от длины многоклеточного препарата при его растяжении в диастолу (крутизна хода кривой зависимости «длина-сила», см. Рис. 3.4). В ауksотоническом режиме сокращения не было обнаружено различий в наклоне зависимости «длина-активная сила» между ЛП и ПП, тогда как длинозависимое увеличение пассивной силы имело большую крутизну в ПП по сравнению с ЛП ($p < 0.0001$, U-критерий Манна-Уитни). Анализ изометрического сокращения мышечных препаратов ЛП и ПП показал аналогичные результаты (угол наклона «длина-пассивная сила» 0.05502 в ЛП vs. 0.1691 в ПП, $p < 0.0001$, U-критерий Манна-Уитни).

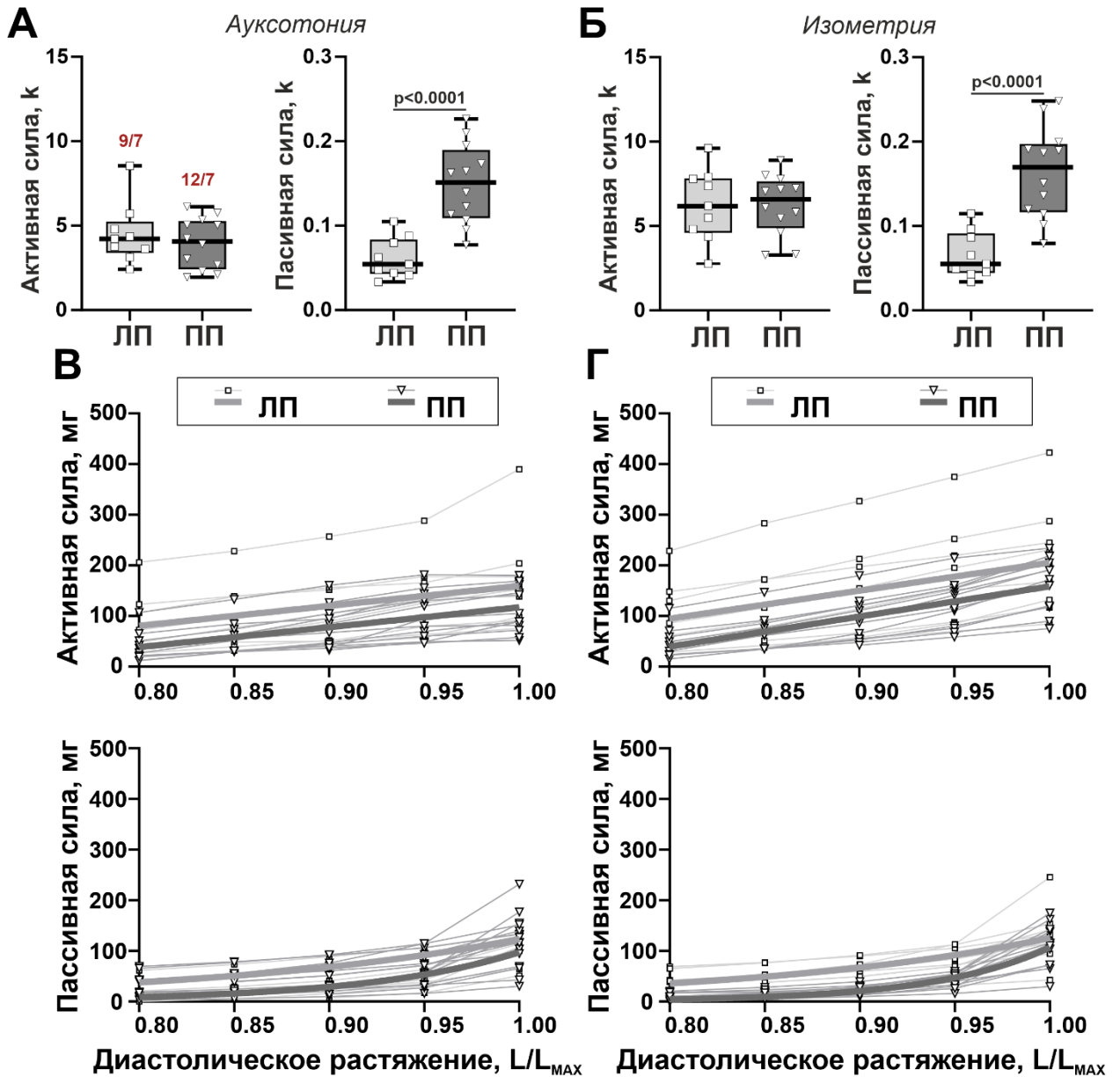


Рис. 3.4. Наклоны аппроксимированных зависимостей «длина-активная сила» и «длина-пассивная сила» многоклеточных препаратов ЛП и ПП интактных животных в ауксотоническом (А) и изометрическом (Б) режимах сокращения. А – Коэффициенты наклона зависимостей «длина-активная сила» и «длина-пассивная сила» ауксотонического сокращения. Б – Коэффициенты наклона «длина-активная сила» и «длина-пассивная сила» изометрического сокращения. В – Линейная регрессия длинозависимого изменения активной силы (верхняя панель) и экспонента роста пассивной силы (нижняя панель) ауксотонического сокращения. Г – Линейная регрессия длинозависимого изменения активной силы (верхняя панель) и экспонента роста пассивной силы (нижняя панель) изометрического сокращения. k – коэффициент наклона ($R^2 \geq 0.7$); жирными линиями обозначены линейные аппроксимации и кривые экспоненциального роста, усреднённые по

значениям всех препаратов в выборке. Число препаратов (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Величина диастолического растяжения указана в единицах деформации в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенерирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}). 1 мг силы соответствует 9.8×10^{-3} мН. U-критерий Манна-Уитни (ЛП vs. ПП), достоверность различий при $p < 0.05$.

Сравнение наклонов аппроксимированных зависимости «длина-сила» для двух режимов сокращения препаратов интактных крыс показал, что в изометрическом режиме сокращения коэффициент наклона «длина-активная сила» повышается на ~62%, но только в ПП ($p = 0.0036$, U-критерий Манна-Уитни). Коэффициенты крутизны «длина-пассивная сила» не обнаруживали достоверных различий между двумя режимами сокращения ни для ЛП, ни для ПП, что свидетельствует о сохранении жизнеспособности препаратов миокарда на протяжении эксперимента. Коэффициенты крутизны зависимостей «длина-сила», полученных для ЛП и ПП интактных животных в ауксотоническом и изометрическом режимах сокращения препаратов, представлены в Таблице 3.1.

Табл. 3.1. Сравнение коэффициентов крутизны зависимостей «длина-сила» ЛП и ПП в норме, полученные для ауксотонического и изометрического режима сокращения препаратов

Предсердие	Компонент силы сокращения препарата	Режимы сокращения	
		Ауксотония	Изометрия
ЛП	Активная сила	4.213 (2.425–8.544)	6.177 (2.676–9.604)
	Пассивная сила	0.053 (0.033–0.105)	0.055 (0.033–0.115)
ПП	Активная сила	4.073 (1.948–6.117)	6.587* (3.276–8.892)

	Пассивная сила	0.151 (0.077–0.226)	0.169 (0.079–0.248)
--	----------------	---------------------	---------------------

*– достоверность различий между изометрическим и ауксотоническим режимом сокращения мышечных препаратов предсердий, критерий U-критерий Манна-Уитни, $p < 0.05$. В скобках указан межквартильный размах от минимального до максимального значения в выборке.

Следующим этапом было проведено сравнение значений напряжений изометрического и ауксотонического сокращений мышечных препаратов ЛП и ПП на каждой длине препарата (на каждой преднагрузке). Оцениваемые параметры и значения активного и пассивного напряжения, развиваемых препаратами ЛП и ПП представлены на рисунке 3.5.

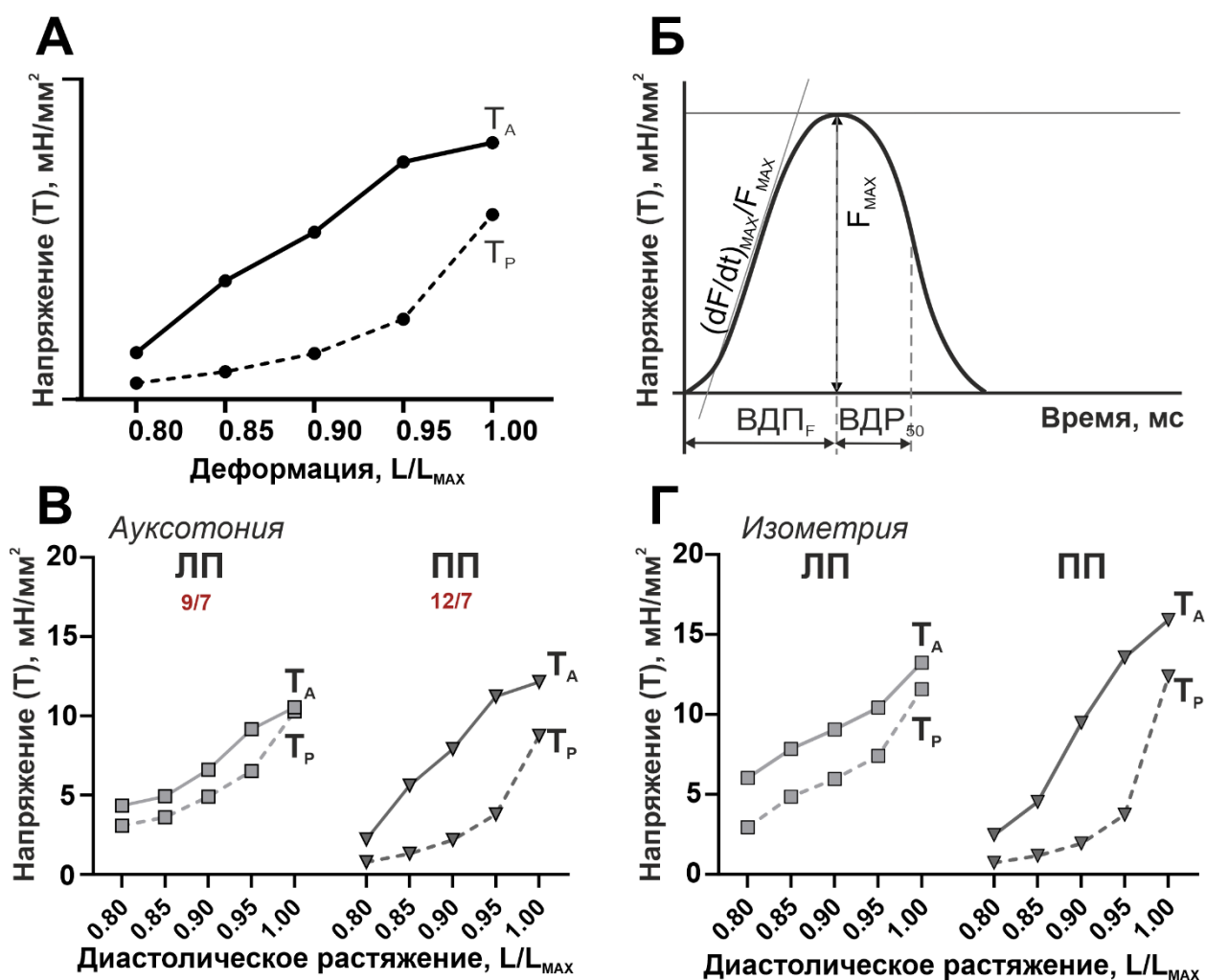


Рис. 3.5. Анализ величин активного и пассивного напряжения многоклеточных препаратов ЛП и ПП интактных животных при их диастолическом растяжении (увеличении

преднагрузки). А – Репрезентативные записи активного напряжения (T_A) и пассивного напряжения (T_P) многоклеточных препаратов ЛП и ПП интактных животных при их диастолическом растяжении. Б – Анализируемые параметры развиваемого препаратом активного напряжения. В – Средние значения активного и пассивного напряжения препаратов ЛП и ПП интактных животных при их ауксотонических сокращениях на различных величинах диастолического растяжения. Г – Средние значения активного и пассивного напряжения препаратов ЛП и ПП интактных животных при их изометрических сокращениях на различных величинах диастолического растяжения. Число препаратов (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Величины диастолического растяжения указаны в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенерирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}).

Обнаружено, что в ауксотоническом режиме сокращения препараты ПП имели меньшие величины пассивного напряжения на малых величинах диастолического растяжения (0.80 и 0.85 L/L_{MAX}) по сравнению с ЛП. При этом, амплитуды активного напряжения не различались для ЛП и ПП во всём диапазоне диастолических растяжений,

демонстрируя гомогенность развития активной компоненты силы для обоих предсердий (см. Рис. 3.6.).

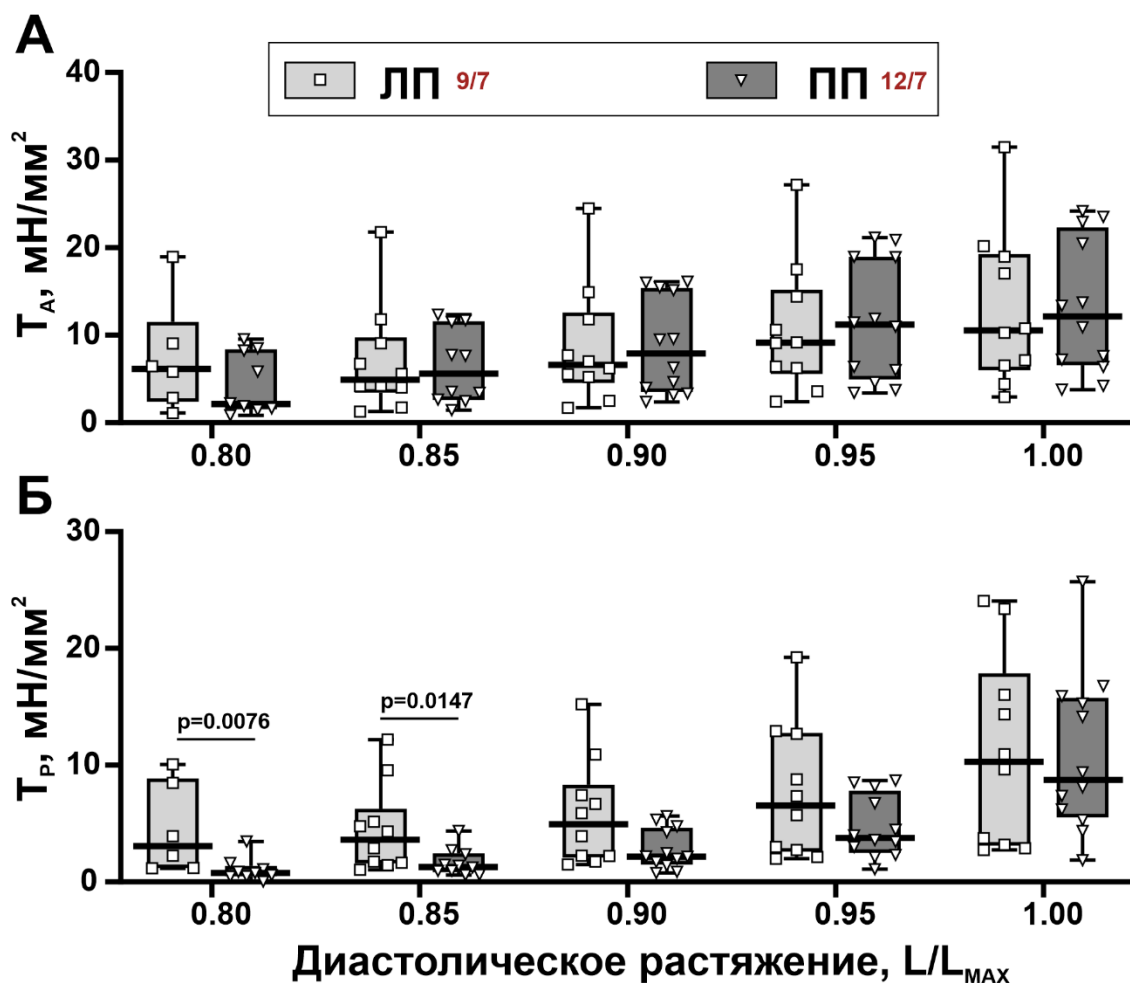


Рис. 3.6. Сравнительный анализ величин активного (T_A) и пассивного (T_P) напряжений, развиваемых препаратами ЛП и ПП intactных животных в ауksотоническом режиме сокращения на различных величинах диастолического растяжения. А – Амплитуды активного напряжения. Б – Значения пассивного напряжения. Число препаратов (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Величины диастолического растяжения указаны в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенерирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}). Критерий Краскелла-Уоллиса, достоверность различий при $p < 0.05$.

Сравнительный анализ величин напряжений, развиваемых ЛП и ПП интактных животных в изометрическом режиме сокращения, подтвердил результаты, полученные в ауксотоническом режиме сокращения (см. Рис. 3.7.). Препараты ПП демонстрировали меньшие, по сравнению с ЛП, величины пассивного напряжения. Однако, в изометрическом режиме сокращения данные различия проявлялись в большем диапазоне величин диастолических растяжений (0.80, 0.85 и 0.90 L/L_{MAX}).

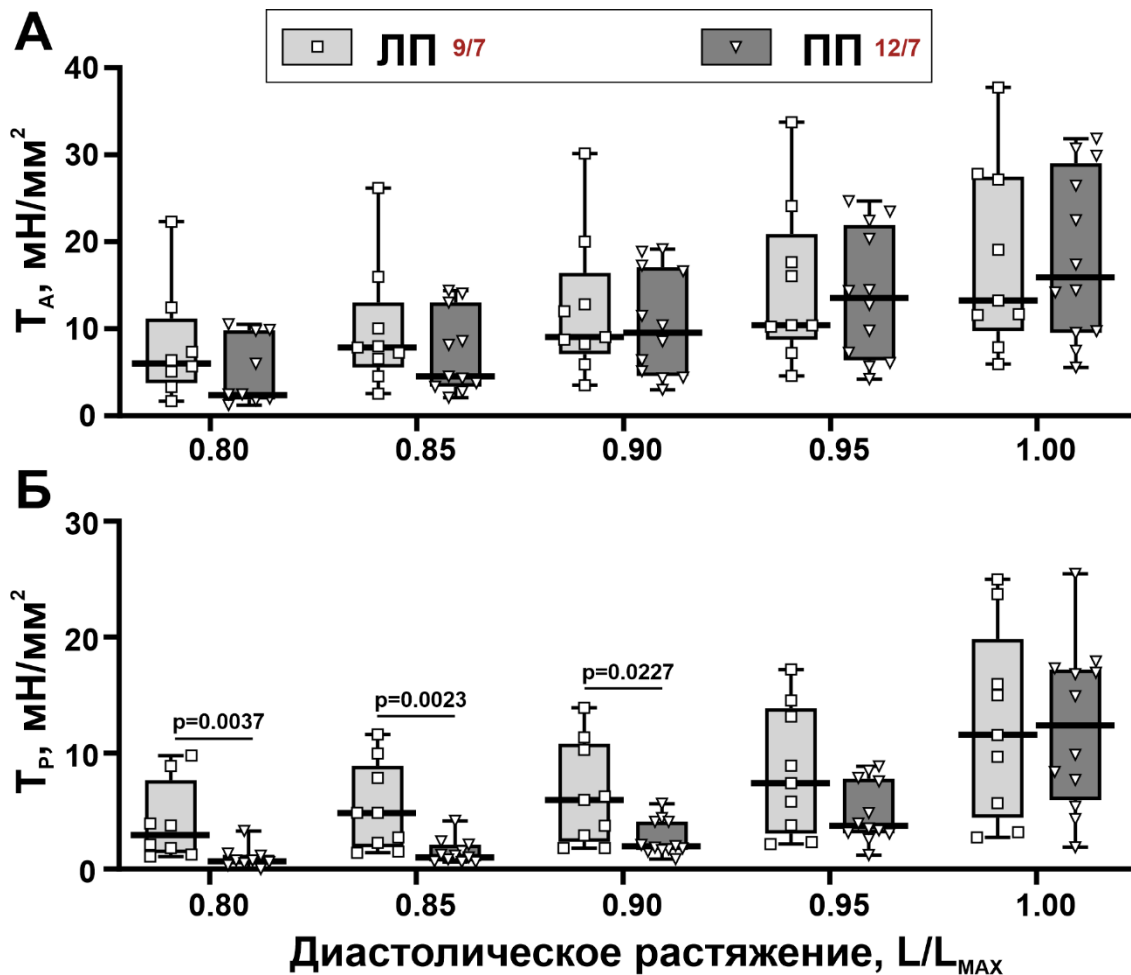


Рис. 3.7. Сравнительный анализ величин активного (T_A) и пассивного (T_P) напряжений, развиваемых препаратами ЛП и ПП интактных животных в изометрическом режиме сокращения на различных величинах диастолического растяжения. А – Амплитуды активного напряжения. Б – Величины пассивного напряжения. Число препаратов (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Величины диастолического растяжения указаны в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}). Критерий Краскелла-Уоллиса, достоверность различий при $p < 0.05$.

Время достижения пика активного напряжения и расслабления многоклеточного препарата, а также скорость достижения пика напряжения не демонстрировали различий между ЛП и ПП ни в одном из исследуемых режимов сокращения. Это согласуется с данными, полученными на одиночных кардиомиоцитах ЛП и ПП, описанных разделом выше.

Таким образом, на тканевом уровне организации миокарда предсердия демонстрируют меньшую степень однородности параметров сократительной функции. В препаратах ПП были найдены меньшие величины пассивного напряжения, но большая крутизна зависимости «длина-сила» по сравнению с ЛП. В то же время, многоклеточные препараты, как и одиночные кардиомиоциты, демонстрировали однородность характеристик активной компоненты силы сокращения.

3.2 Ремоделирование сократительной функции механически ненагруженных кардиомиоцитов при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП

3.2.1 Ремоделирование характеристик укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП

Обнаружено, что АЦХ- CaCl_2 -индуцированная пароксизмальная ФП оказывала большее влияние на параметры укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП по сравнению с кардиомиоцитами ПП. Усреднённый профиль изменения длины саркомеров и анализируемые параметры представлены на рисунке 3.8А. Репрезентативные профили укорочения саркомеров анализируемых групп представлены на рисунке 3.8 Б. В миоцитах ЛП пароксизмальная ФП приводила к уменьшению амплитуды укорочения саркомеров (в ~ 1.27 раз по абсолютным и ~ 1.26 раз по нормированным относительно КДДС единицам) и максимальной скорости расслабления саркомера (в ~ 1.27 раз) относительно значений, полученных в контрольной группе. В кардиомиоцитах ПП было обнаружено увеличение КДДС и максимальной скорости достижения пика укорочения саркомера, что не сопровождалось изменениями амплитуды.

Анализ межпредсердных различий при ФП показал, что АЦХ- CaCl_2 -индуцированная пароксизмальная ФП приводила к возникновению различий между ЛП и ПП в величине КДДС, а также скоростям укорочения и расслабления саркомеров (рис. 3.8).

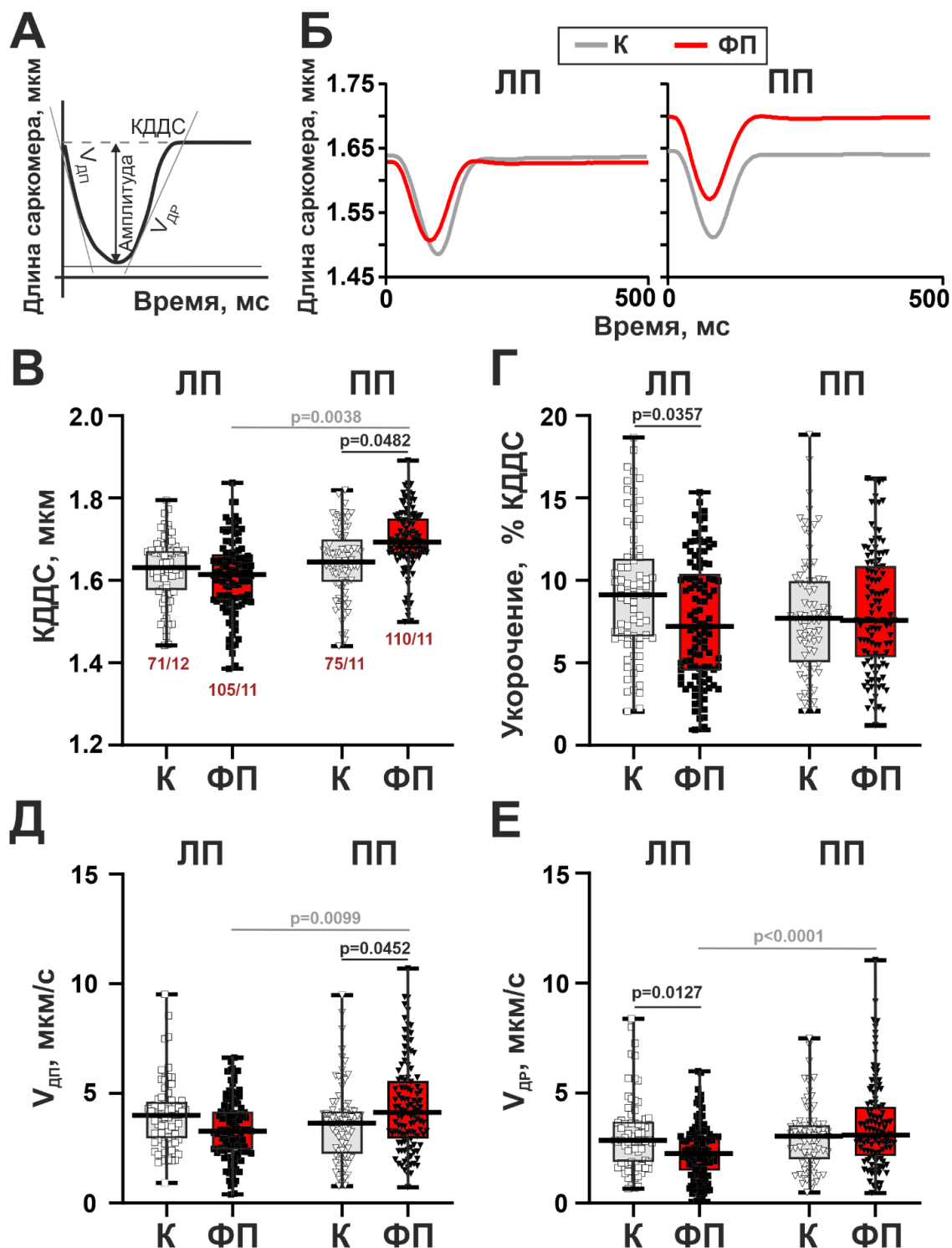


Рис. 3.8. Характеристики изменения длины саркомеров в механически ненагруженных одиночных кардиомиоцитах ЛП и ПП в контрольной группе (К) и при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Анализируемые параметры укорочения саркомеров. Б – Репрезентативные профили укорочения саркомеров. В –

Конечно-диастолическая длина саркомеров (КДДС). Г – Амплитуда укорочения саркомеров, нормированная относительно величины КДДС. Д – Максимальная скорость укорочения саркомеров ($V_{дп}$). Е – Максимальная скорость расслабления саркомеров ($V_{др}$). Число клеток (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу Q1–Q3, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. Иерархический кластерный анализ с логарифмическим преобразованием данных, достоверность различий при $p < 0.05$.

Сравнение временных параметров укорочения и расслабления саркомеров не показало различий между группой ФП и контрольной группой ни для кардиомиоцитов ЛП, ни для кардиомиоцитов ПП (рис. 3.9).

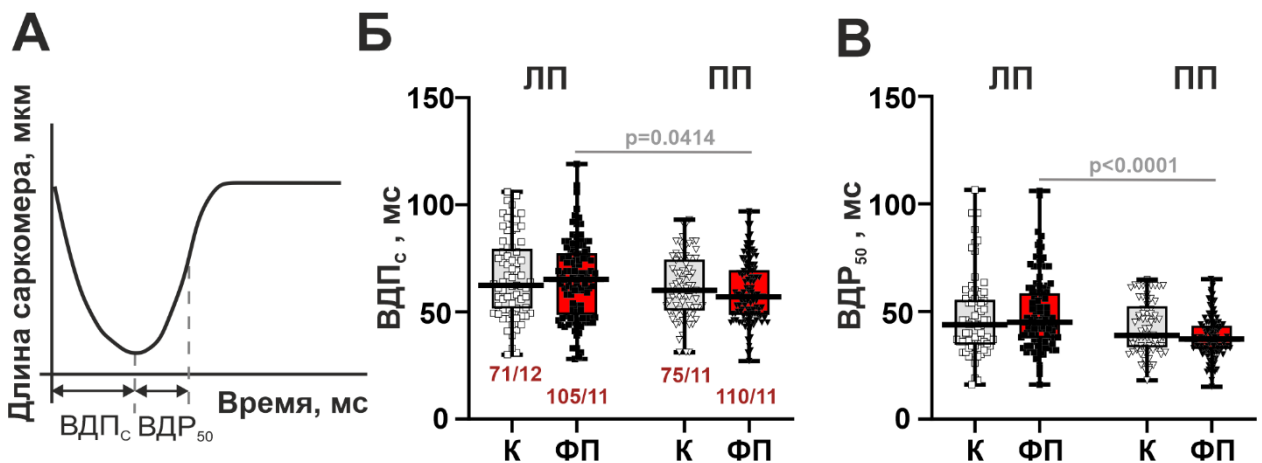


Рис. 3.9. Временные параметры укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП и ПП в контрольной группе (К) и при АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Анализируемые параметры укорочения саркомеров. Б – Время достижения пика укорочения саркомеров (VDP_c). В – Время достижения 50% расслабления саркомеров (VDR_{50}). Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу Q1–Q3, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. Число клеток (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Иерархический кластерный анализ с логарифмическим преобразованием данных, достоверность различий при $p < 0.05$.

Дополнительно были проанализированы параметры альтернансов укорочения саркомеров, возникающих в кардиомиоцитах ЛП и ПП группы с АЦХ- $CaCl_2$ -

индуцированной пароксизмальной ФП (Рис. 3.10). В группе ФП ~84% кардиомиоцитов ($n = 55$ из 65 клеток с отмеченными альтернанс-подобными эпизодами, $N = 5$ животных) демонстрировали альтернансы с отклонениями амплитуды укорочения саркомеров свыше 5% от псевдостационарного уровня. Частота встречаемости альтернансов с отклонениями свыше 5% от референсного значения была недостоверно больше для кардиомиоцитов ЛП (77%), чем для миоцитов ПП (70%) ($p = 0.1419$, критерий Краскелла-Уоллиса). В ЛП отклонения амплитуды укорочения саркомеров в *MAX* альтернансе от референсного значения достигали ~20% (в абсолютных единицах и при нормировании на величину КДДС). Для ЛП кардиомиоцитов величина отклонений амплитуды укорочения саркомеров ЛП в *MIN* альтернансе составляла ~14%. Для ПП кардиомиоцитов отклонения амплитуды укорочения саркомеров составляли ~8% для *MAX*, тогда как для *MIN* – 10% в абсолютных и 11% в нормированных единицах. Было выявлено, что миоциты ЛП имеют большую величину отклонений амплитуды укорочения саркомера в *MAX* альтернансе, по сравнению с клетками ПП ($p=0.0093$ для абсолютных значений амплитуды, $p=0.0056$ для амплитуды в нормированных единицах, критерий Краскелла-Уоллиса).

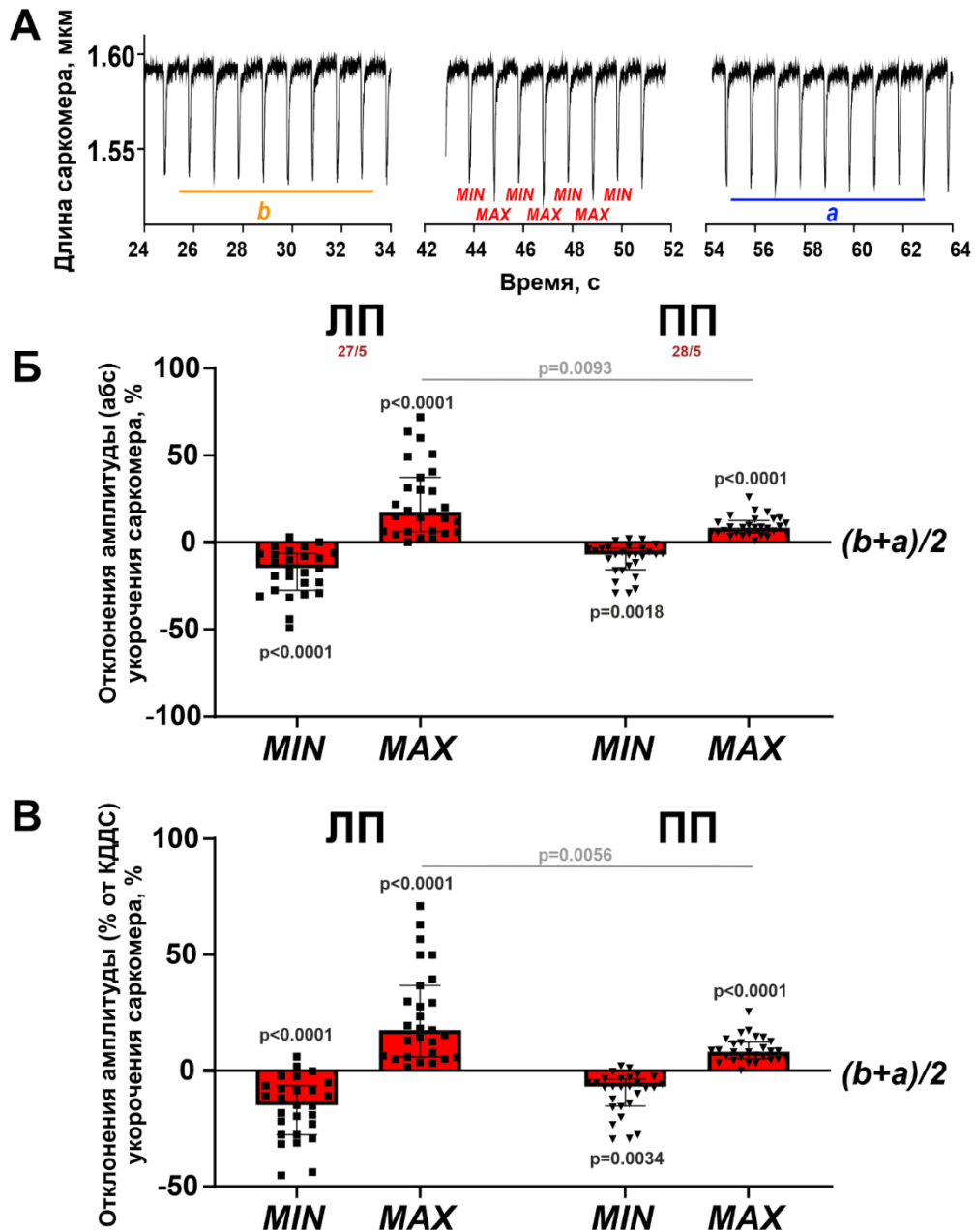


Рис. 3.10. Анализ альтернансов укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП и ПП при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Репрезентативная запись изменения длины саркомеров в кардиомиоците с видимым альтернансом, где b – величина амплитуды укорочения саркомеров, регистрируемая в псевдостационарном состоянии до возникновения альтернирующего участка в записи; a – величина амплитуды укорочения саркомеров, регистрируемая после эпизода альтернансов; MIN и MAX – отклонение амплитуды укорочения саркомеров в альтернансе в сторону уменьшения или увеличения от значений амплитуды в псевдостационарном состоянии, соответственно. Б – Отклонения амплитуды укорочения саркомеров (в абсолютных значениях) в MIN и MAX альтернансах. В – Отклонения амплитуды укорочения саркомеров (нормированной на величину конечно-

диастолической длины саркомера (КДДС)) в *MIN* и *MAX* альтернансах. Величины *MIN* и *MAX* указаны в % от средних величин амплитуды укорочения саркомеров, регистрируемых в псевдостационарном состоянии сокращения клетки до и после альтернанса $((b+a)/2)$. Число клеток (*n*) и количество животных (*N*) в каждой группе обозначено на графике (*n/N*). 1-факторный дисперсионный анализ/критерий Краскелла-Уоллиса, достоверность различий при $p < 0.05$.

Таким образом, в механически ненагруженных кардиомиоцитах АЦХ- CaCl_2 -индуцированная пароксизмальная ФП на клеточном уровне организации миокарда приводит к выраженному нарушению сократительной функции саркомеров в ЛП, практически не затрагивая характеристики укорочения саркомеров в ПП.

3.2.2 Изменение динамики $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в механически ненагруженных кардиомиоцитах при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП

Обнаружено, что АЦХ- CaCl_2 -индуцированная пароксизмальная ФП не оказывает достоверного влияния на параметры кинетики Ca^{2+} ни в кардиомиоцитах ЛП, ни в кардиомиоцитах ПП. Усреднённые профили динамического изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$, регистрируемые при механически ненагруженных укорочениях одиночных кардиомиоцитов, СР $[\text{Ca}^{2+}]_i$ и анализируемые параметры представлены на рисунке 3.11 А. Несмотря на наличие тренда на уменьшение амплитуд изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$, наблюдаемого в обоих предсердиях (см. Рис. 3.11 Б), достоверных изменений относительно величин контрольной группы выявлено не было (К vs. ФП: $p=0.1211$ в ЛП и $p=0.3553$, тест Шейрера-Рэя-Хара). Для амплитуды СР $[\text{Ca}^{2+}]_i$, был получен аналогичный результат: тренд на снижение амплитуды СР $[\text{Ca}^{2+}]_i$, достоверно не подтвердился ни для ЛП, ни для ПП ($p > 0.99$, тест Шейрера-Рэя-Хара, см. Рис. 3.11 В). Времена достижения пика и спада динамического изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в цитозоле также не различались между группами.

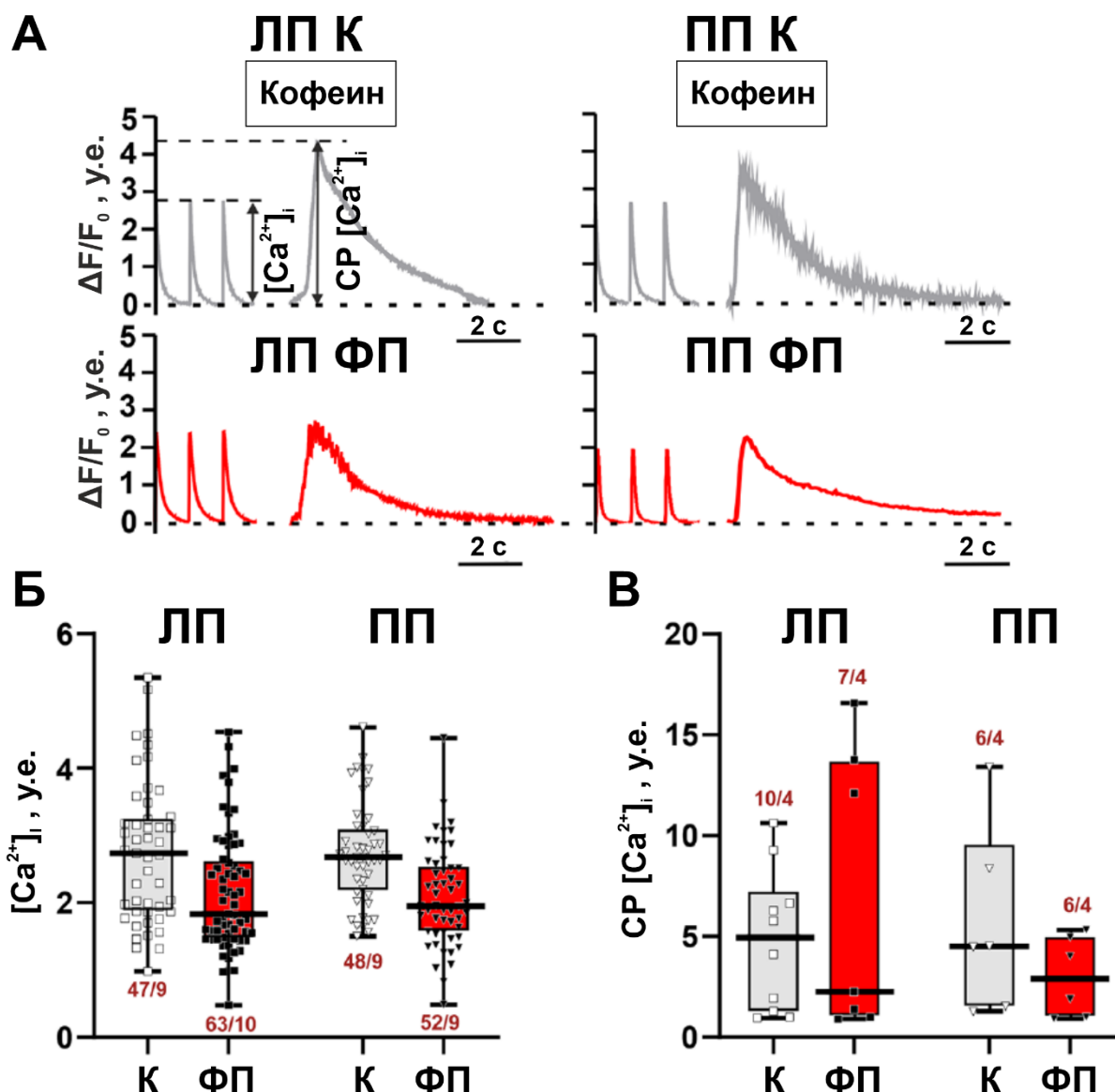


Рис. 3.11. Характеристики динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле механически ненагруженных кардиомиоцитов ЛП и ПП в контрольной группе (К) и при АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Репрезентативные сигналы динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ при сокращении кардиомиоцита и $[Ca^{2+}]_i$, вызванного применением кофеина в отсутствие электрической стимуляции (СР $[Ca^{2+}]_i$) и анализируемые параметры. Б – Амплитуда изменения $[Ca^{2+}]_i$. В – Амплитуда изменения СР $[Ca^{2+}]_i$. $\Delta F/F_0$ – интенсивность флюоресценции красителя, нормированная на фоновое свечение кардиомиоцита; у.е. – условные единицы флюоресценции. Число клеток (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы

«ящика» – интервалу $Q1-Q3$, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке.

Ввиду отсутствия вызванных пароксизмальной ФП изменений в параметрах кинетики Ca^{2+} , можно предположить, что кинетика Ca^{2+} не является звеном, определяющим возникновение межпредсердной неоднородности параметров динамики саркомеров при ФП.

3.3 Ремоделирование сократительной функции предсердий при АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП при действии механической нагрузки

3.3.1 Анализ силогенерирующей способности одиночных кардиомиоцитов при АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП

Усреднённый сигнал напряжения одиночного кардиомиоцита, регистрируемый при его ауksотоническом сокращении с механическим нагружением карбоновыми волокнами и анализируемые характеристики представлены на рисунке 3.12 А. Репрезентативные профили ауksотонического напряжения кардиомиоцитов анализируемых групп представлены на рисунке 3.12 Б. АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированная пароксизмальная ФП при механическом нагружении кардиомиоцитов приводила к выраженным нарушениям параметров ауksотонического напряжения только в кардиомиоцитах ПП. Было обнаружено достоверное снижение амплитуды ауksотонического напряжения и максимальной скорости расслабления кардиомиоцитов без изменения временных параметров силогенерации (см. рисунок 3.12 В–Д).

При этом, несмотря на камероспецифичное влияние АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП, уменьшение амплитуды и скорости расслабления только в кардиомиоцитах ПП не привело к возникновению различий между предсердиями по данным параметрам. Отсутствие межпредсердных различий по параметру скорости расслабления в группе ФП можно связать с наличием одинакового для ЛП и ПП тренда на уменьшение максимальной скорости расслабления ауksотонического сокращения относительно значений, регистрируемых в контрольной группе.

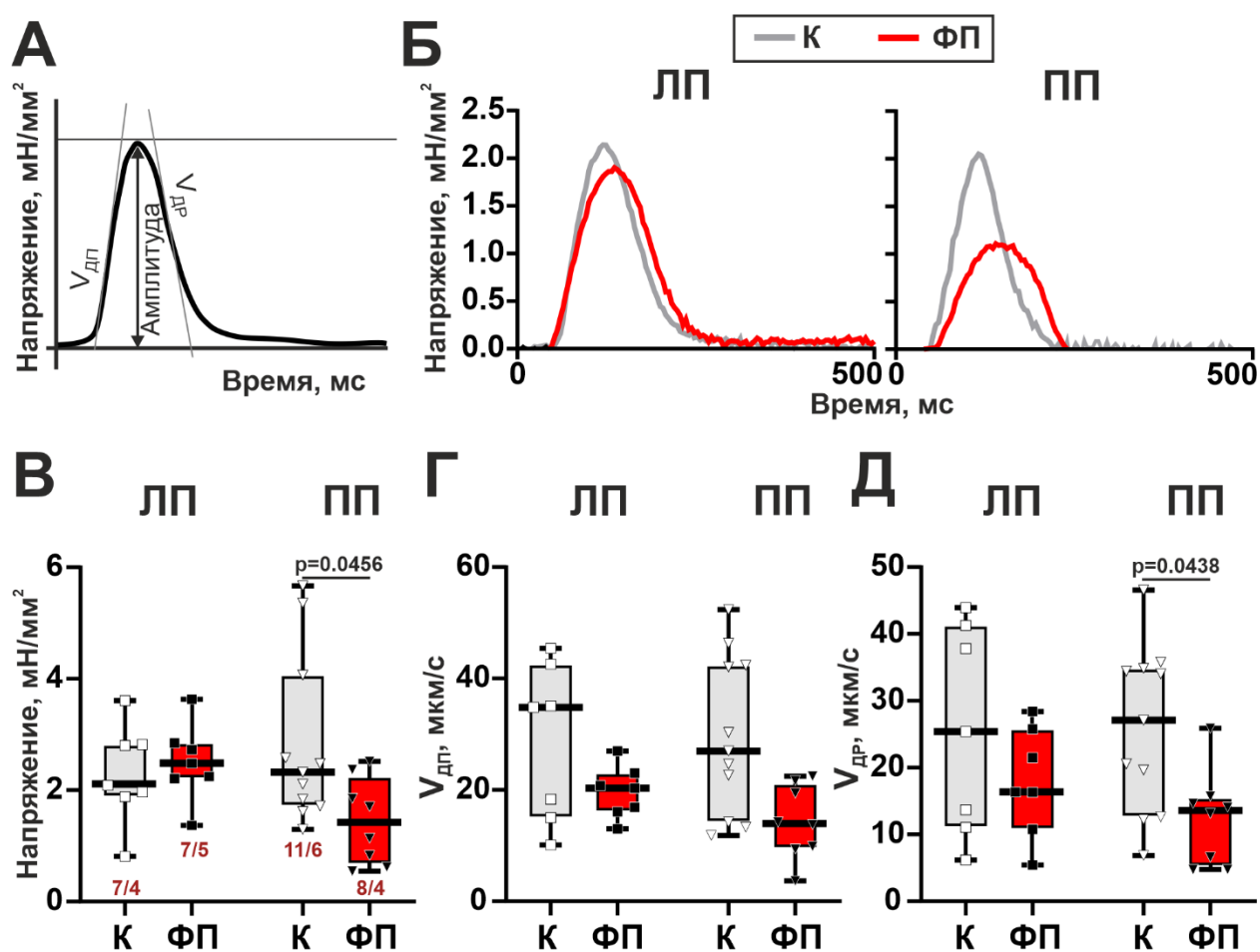


Рис. 3.12. Характеристики аутоконтрактильного напряжения одиночных кардиомиоцитов ЛП и ПП при их механическом нагружении карбоновыми волокнами контрольной группы (К) и группы АЦХ-СаСl₂-индуцированной пароксизмальной ФП. А – Анализируемые параметры аутоконтрактильного напряжения кардиомиоцитов. Б – Репрезентативные профили аутоконтрактильного напряжения одиночных кардиомиоцитов. В – Амплитуда аутоконтрактильного напряжения. Г – Максимальная скорость достижения пика аутоконтрактильного напряжения. Д – Максимальная скорость расслабления. Число клеток (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу Q1–Q3, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. Иерархический кластерный анализ с логарифмическим преобразованием данных, достоверность различий при $p < 0.05$.

Таким образом, несмотря на более выраженные нарушения характеристик изменения длины саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах при пароксизмальной ФП в ЛП, в условиях минимального механического нагружения нарушение силогенерирующей функции проявляется только в кардиомиоцитах ПП. Можно

предположить, что величина механической нагрузки определяет камероспецифичный вектор ремоделирования сократительной функции предсердий. В связи с этим было решено оценить сократительную функцию предсердий при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП в условиях контролируемой механической нагрузки: при смене режимов сокращения (от ауксотонического к изометрическому) и в диапазоне задаваемых диастолического растяжения миокарда.

3.3.2 Изменение длинозависимой регуляции активного и пассивного напряжения миокарда предсердий при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП

Была проведена оценка изменения зависимости «длина-сила» препаратов ЛП и ПП при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП относительно контрольной группы. Для ауксотонического режима сокращения обнаружено, что при ФП крутизна зависимости «длина-активная сила» не менялась ни в ЛП, ни в ПП относительно уровней, регистрируемых в контрольной группе (см. Рис. 3.13 А, В). Однако в ПП было выявлено достоверное уменьшение коэффициента наклона кривой «длина-пассивная сила» на ~24% по сравнению со значениями, полученным для ПП контрольной группы ($p=0.0267$, критерий Краскелла-Уоллиса, см. Рис. 3.12 Б, Д). Вызванное ФП уменьшение крутизны зависимости «длина-пассивная сила» в ПП привело к исчезновению различий между ЛП и ПП данному параметру, которые были показаны для контрольной группы ($p=0.2044$, критерий Краскелла-Уоллиса). Также не было выявлено различий между ЛП и ПП в группе пароксизмальной ФП и для коэффициентов наклона прямой «длина-активная сила».

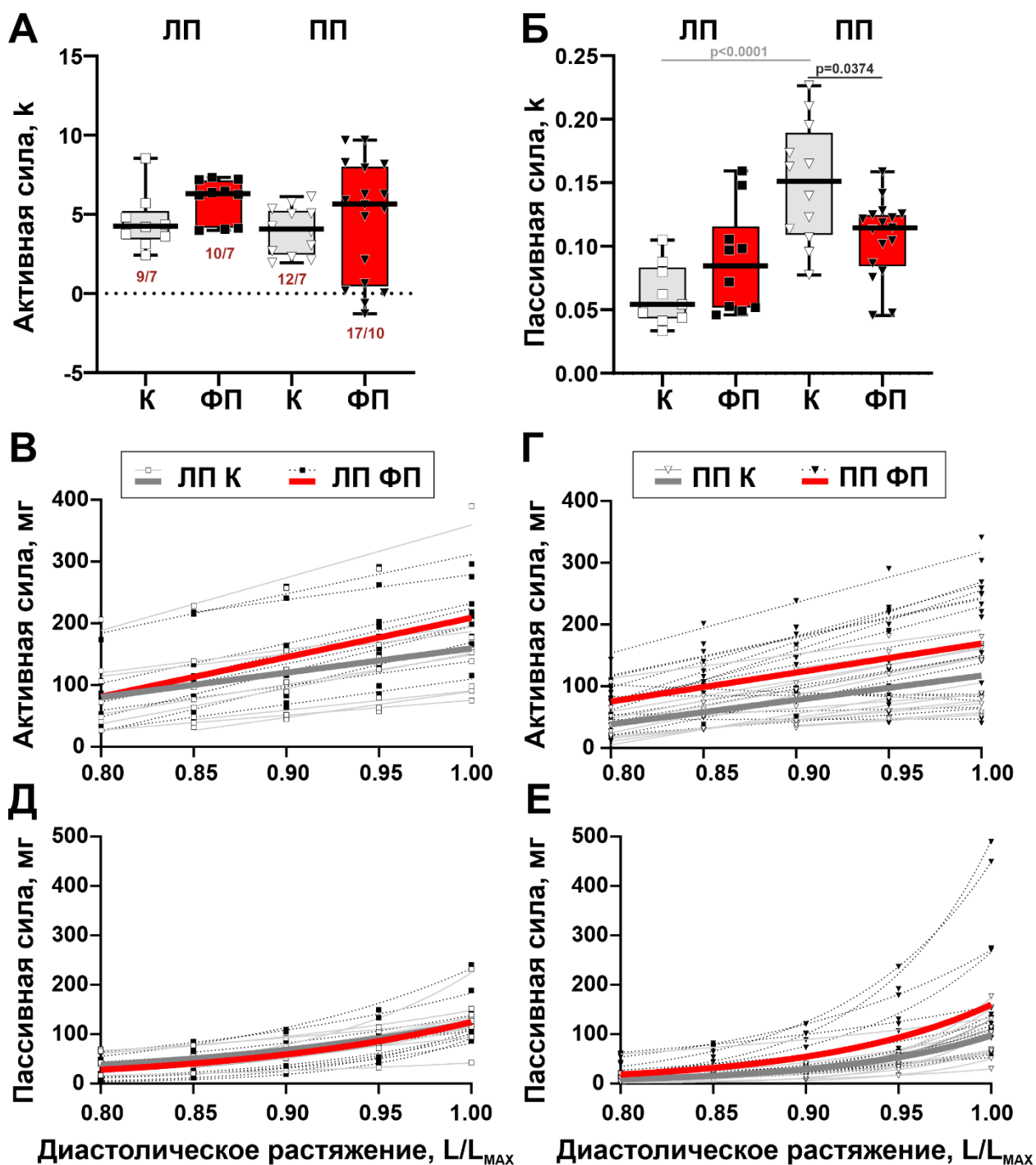


Рис. 3.13. Анализ зависимостей «длина-активная сила» и «длина-пассивная сила» препаратов ЛП и ПП контрольной группы (К) и группы АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП при их ауksотоническом сокращении. А – Коэффициенты наклона зависимости «длина-активная сила». Б – Коэффициенты крутизны зависимости «длина-пассивная сила». В – Аппроксимации длинозависимого изменения активной силы ауksотонического сокращения для препаратов ЛП. Г – Аппроксимации длинозависимого изменения активной силы ауksотонического сокращения для препаратов ПП. Д – Аппроксимации длинозависимого изменения пассивной силы ауksотонического

сокращения для препаратов ЛП. Е – Кривые аппроксимации длинозависимого изменения пассивной силы ауксотонического сокращения для препаратов ПП. k – коэффициент наклона ($R^2 \geq 0.7$); жирными линиями обозначены линейные аппроксимации и кривые экспоненциального роста, усреднённые по значениям всех препаратов в выборке. Число препаратов (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначены на графике (n/N). Величина диастолического растяжения указана в единицах деформации в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенерирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}). 1 мг силы соответствует 9.8×10^{-3} мН. Тест Краскелла-Уоллиса, достоверность различий при $p < 0.05$.

При исследовании длинозависимости силогенерации многоклеточных препаратов в изометрическом режиме сокращения, было обнаружено изменение крутизны наклонов «длина-сила» как для активного, так и для пассивного компонентов сил (см. Рис. 3.14). Пароксизмальная ФП приводила к увеличению коэффициента наклона зависимости «длина-активная сила» изометрического сокращения на ~39% в ЛП ($p=0.0101$) и 26% в ПП ($p=0.0019$, критерий Краскелла-Уоллиса). Вместе с этим, только в ПП при ФП отмечалось уменьшение крутизны зависимости «длина-пассивная сила» изометрического сокращения на ~24% (относительно коэффициента, регистрируемого в контрольной группе, $p=0.0426$, критерий Краскелла-Уоллиса). В ЛП при ФП зависимость «длина-пассивная сила» хотя и демонстрировала тренд на почти 70% увеличение крутизны относительно значений контрольной группы, но данное различие было недостоверным (K vs. ФП: 0.05502 и 0.09365, соответственно, $p=0.0623$, критерий Краскелла-Уоллиса). Данные изменения привели к сохранению межпредсердной однородности в характере длинозависимого увеличения активной силы в группе ФП, но вызвали исчезновение межпредсердных различий по длинозависимому характеру роста пассивной жёсткости (по сравнению с контрольной группой).

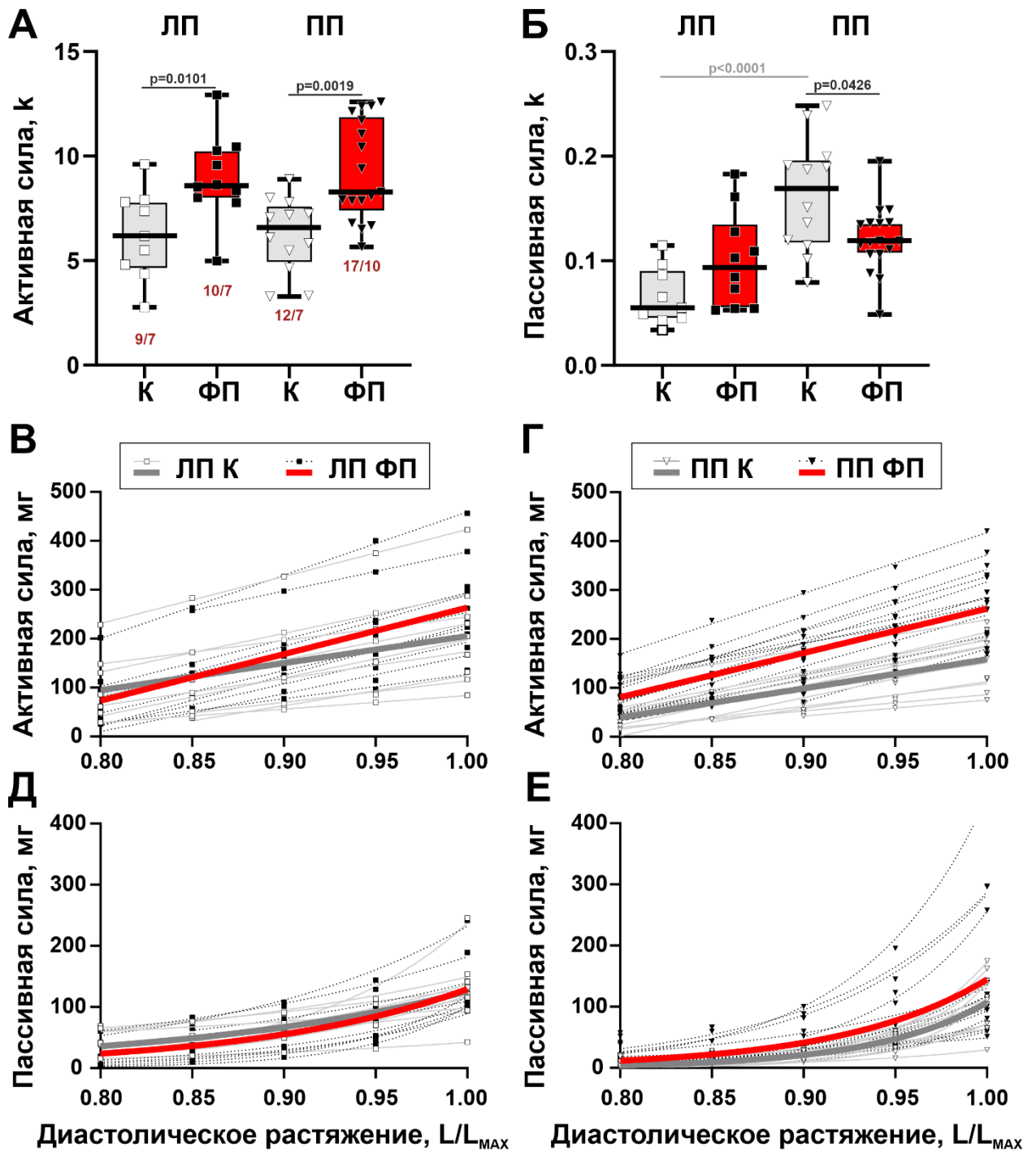


Рис. 3.14. Анализ зависимостей «длина-активная сила» и «длина-пассивная сила» препаратов ЛП и ПП контрольной группы (К) и группы АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП при их изометрическом сокращении. А – Коэффициенты наклона зависимости «длина-активная сила» изометрического сокращения. Б – Коэффициенты крутизны зависимости «длина-пассивная сила» изометрического сокращения. В – Аппроксимации длинозависимого изменения активной силы изометрического сокращения для препаратов ЛП. Г – Аппроксимации длинозависимого изменения активной силы изометрического сокращения для препаратов ПП. Д – Аппроксимации длинозависимого

изменения пассивной силы изометрического сокращения для препаратов ЛП. Е – Кривые аппроксимации длинозависимого изменения пассивной силы изометрического сокращения для препаратов ПП. k – коэффициент наклона ($R^2 \geq 0.7$); жирными линиями обозначены линейные аппроксимации и кривые экспоненциального роста, усреднённые по значениям всех препаратов в выборке. Число препаратов (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначены на графике (n/N). Величина диастолического растяжения указана в единицах деформации в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенерирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}). 1 мг силы соответствует 9.8×10^{-3} мН. Тест Краскелла-Уоллиса, достоверность различий при $p < 0.05$.

Сравнение характера длинозависимого увеличения значений сил между ауксотоническим и изометрическим режимами сокращения препаратов показало, что ФП приводит к выраженному росту крутизны зависимостей «длина-активная сила» и «длина-пассивная сила» при переходе на изометрический режим сокращения. Как и в группе контрольных животных, при ФП в изометрическом режиме сокращения увеличивался коэффициент наклона «длина-активная сила» для ПП, но всего на ~48% ($p=0.0004$, критерий Краскелла-Уоллиса). Данный результат ~14% меньше наблюдаемого в группе контрольных животных. Однако, при ФП было обнаружено увеличение крутизны зависимости «длина-активная сила» при переходе препарата с ауксотонического на изометрический режим работы и для ЛП (чего не отмечалось в группе контрольных животных). Увеличение крутизны наклона «длина-активная сила» при переключении режимов в ЛП составляло 35%, что недостоверно меньше изменений, полученных для препарата ФП группы ПП. Коэффициенты наклона «длина-пассивная сила» при ФП, также, как и в контрольной группе, достоверно не различались между двух режимов сокращения ни для ЛП, ни для ПП. Это свидетельствует о сохранении жизнеспособности мышечных препаратов группы ФП на протяжении эксперимента такой же, как и в группе интактных животных. Все коэффициенты крутизны аппроксимированных зависимостей «длина-сила», полученных для ЛП и ПП групп «контроль» и «ФП» в ауксотоническом и изометрическом режимах сокращения препаратов, представлены в Таблице 3.2.

Табл. 3.2. Сравнение коэффициентов крутизны зависимостей «длина-сила», полученных для ауксотонического и изометрического режима сокращения препаратов ЛП и ПП контрольной группы и при АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП

Предсердие	Группа	Режимы сокращения			
		Ауксотонический		Изометрический	
		F _A	F _P	F _A	F _P
ЛП	К	4.213 (2.43–8.54)	0.054 (0.03–0.11)	6.117 (2.77–9.60)	0.055 (0.03–0.11)
	ФП	6.313 (3.99–7.35)	0.085 (0.05–0.16)	8.581* (4.98–12.93)	0.094 (0.05–0.18)
ПП	К	4.073 (1.95–6.12)	0.151 (0.08–0.23)	6.587* (3.28–8.89)	0.169 (0.08–0.25)
	ФП	5.606 (1.27–9.70)	0.114 (0.05–0.16)	8.276* (5.66–12.59)	0.119 (0.05–0.20)

F_A – активная сила сокращения препарата; F_P – пассивная сила препарата. * – достоверность различий между изометрическим и ауксотоническим режимом сокращения мышечных препаратов предсердий, тест Краскелла-Уоллиса, $p < 0.05$. В скобках указан межквартильный размах от минимального до максимального значения в выборке.

Далее были проведена оценка изменения величин активного и пассивного напряжения препаратов ЛП и ПП при пароксизмальной ФП относительно значений контрольной группы.

В ЛП пароксизмальная ФП не вызывала достоверного изменения амплитуды активного и величины пассивного напряжений, как и изменения параметров времени и скорости сокращения и расслабления по сравнению с уровнями контрольной группы. Однако, в ЛП при ФП был обнаружен выраженный тренд на уменьшение величин пассивного ауксотонического напряжения ($p=0.075$, критерий Краскелла-Уоллиса), регистрируемый на всём диапазоне диастолических растяжений. Амплитуды активного ауксотонического напряжения ЛП при ФП не менялись относительно контрольных значений во всём диапазоне диастолических растяжений (см. Рис. 3.15). В изометрическом

режиме сокращения, для ЛП при ФП отмечались такие же тренды изменений, но без достоверных различий ($p > 0.05$, критерий Краскелла-Уоллиса).

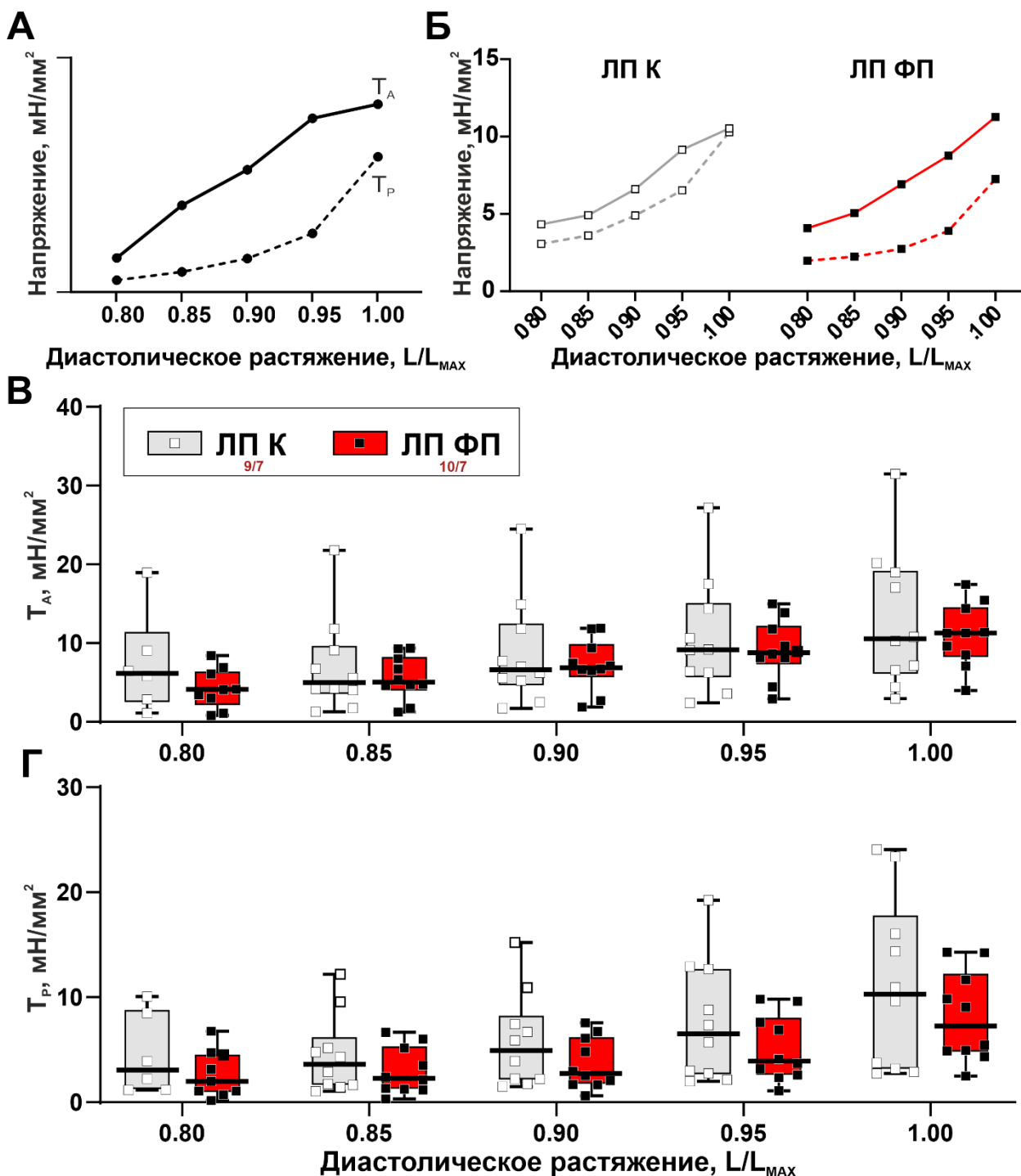


Рис. 3.15. Анализ величин активного и пассивного напряжений препаратов ЛП контрольной группы (К) и группы АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП при их аутокотоническом сокращении. А – Репрезентативные зависимости значений напряжения от диастолического растяжения, демонстрирующие соотношение амплитуд активного (T_A) и величин пассивного (T_P) напряжения. Б – Репрезентативные профили изменения

амплитуд активного и величин пассивного напряжения препаратов ЛП при их диастолическом растяжении в группах К и ФП. В – Значения амплитуд активного напряжения препаратов ЛП. Г – Значения величин пассивного напряжения препаратов ЛП. Величина диастолического растяжения указана в единицах деформации в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенерирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}). Данные представлены как медиана и интервал Q1–Q3. Число препаратов выборки (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N).

В ПП при ФП амплитуды активного напряжения демонстрировали тренд на уменьшение в диапазоне субмаксимальных и максимальных диастолических растяжений – 0.90, 0.95 и 1.00 L/L_{MAX} ($p > 0.072$, тест Краскелла-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни, см. Рис. 3.16 В). В ПП также обнаруживался тренд и на уменьшение величин пассивного напряжения, но только в диапазоне 0.95 и 1.00 L/L_{MAX} (см. Рис. 3.16 Г).

Следует отметить, что межпредсердные различия в величинах пассивного напряжения, регистрируемые в диапазоне малых диастолических растяжений (0.80–0.90 L/L_{MAX}) на препаратах предсердий интактных животных, нивелировались при действии пароксизмальной ФП. Данная закономерность была выявлена как для ауксотонического, так и для изометрического режимов сокращения.

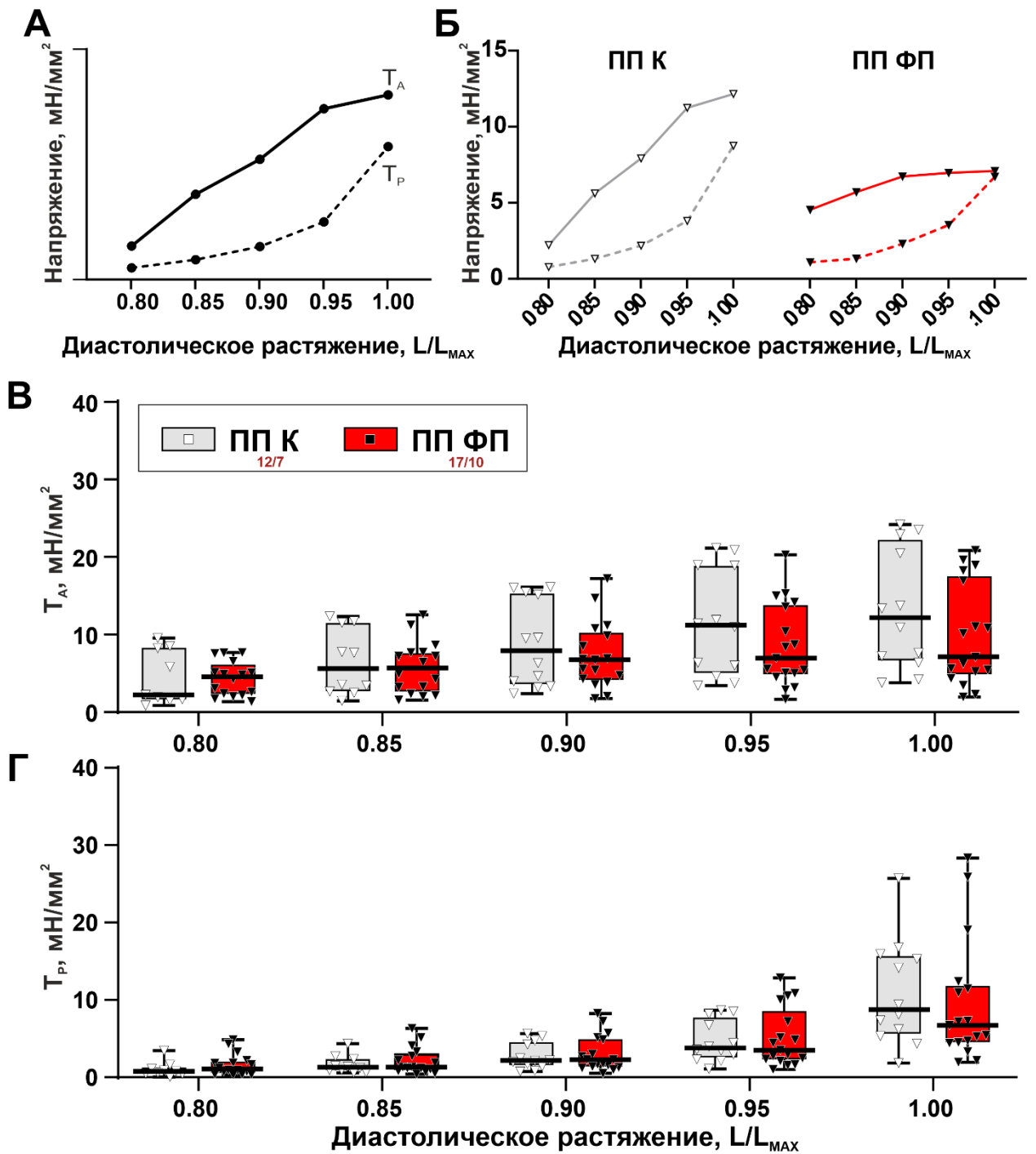


Рис. 3.16. Анализ величин активного и пассивного напряжений препаратов ПП контрольной группы (К) и группы АЦХ-СаСl₂-индуцированной пароксизмальной ФП при их ауксотоническом сокращении. А – Репрезентативные зависимости значений напряжения от диастолического растяжения, демонстрирующие соотношение амплитуд активного (T_A) и величин пассивного (T_P) напряжения. Б – Репрезентативные профили изменения амплитуд активного и величин пассивного напряжения препаратов ПП при их диастолическом растяжении в группах К и ФП. В – Значения амплитуд активного напряжения препаратов ПП. Г – Значения величин пассивного напряжения препаратов ПП.

Величина диастолического растяжения указана в единицах деформации в долях от длины мышцы, соответствующей максимальной силогенерирующей способности при выбранных внешних условиях (L/L_{MAX}). Данные представлены как медиана и интервал Q1–Q3. Число препаратов выборки (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N).

Таким образом, на тканевом уровне организации миокарда пароксизмальная ФП вегетативного генеза ведёт к изменению характера длинозависимой регуляции силы, но без достоверного изменения величин активного и пассивного напряжения во всём диапазоне диастолических растяжений. При этом, большему изменению при ФП подвергается ЛП, что приводит к сглаживанию межпредсердных различий в крутизне наклона «длина-пассивная сила», которое наблюдается в норме.

Резюмируя данный блок результатов, можно сделать вывод, что камероспецифичность вызванного пароксизмальной ФП ремоделирования сократительной функции зависит от условий механического нагружения и по-разному проявляется на клеточном и тканевом уровнях организации миокарда. С увеличением уровня организации наблюдается меньшее число изменённых параметров сократительной функции ЛП и ПП, но вместе с этим отмечаются признаки нарушения длинозависимой регуляции пассивного напряжения для ПП, что в перспективе может иметь влияние на общую величину напряжения миокарда в систолу. Если в механически ненагруженных кардиомиоцитах при ФП выявлялись сократительная дисфункция саркомеров ЛП и появление межпредсердной гетерогенности в параметрах сократительной функции, то в условиях механического нагружения наблюдалось ухудшение характеристик силогенерации кардиомиоцитов ПП и не было выявлено межпредсердной неоднородности в характеристиках сократимости кардиомиоцитов.

3.4 Механизмы ремоделирования сократительной функции предсердий при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП

3.4.1 Прямое влияние АЦХ на параметры сократительной функции механически ненагруженных кардиомиоцитов

Для выяснения вклада холинэргического компонента ВНС в ремоделирование параметров сократительной функции миокарда ЛП и ПП при ФП была выполнена серия острых экспериментов с АЦХ. Репрезентативные сигналы изменения длины саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП и ПП при остром действии 1, 10 и 100

мкМ АЦХ представлены на рисунке 3.17 А. Усреднённый профиль укорочения саркомера с репрезентацией анализируемых параметров представлен на рисунке 3.17 Б.

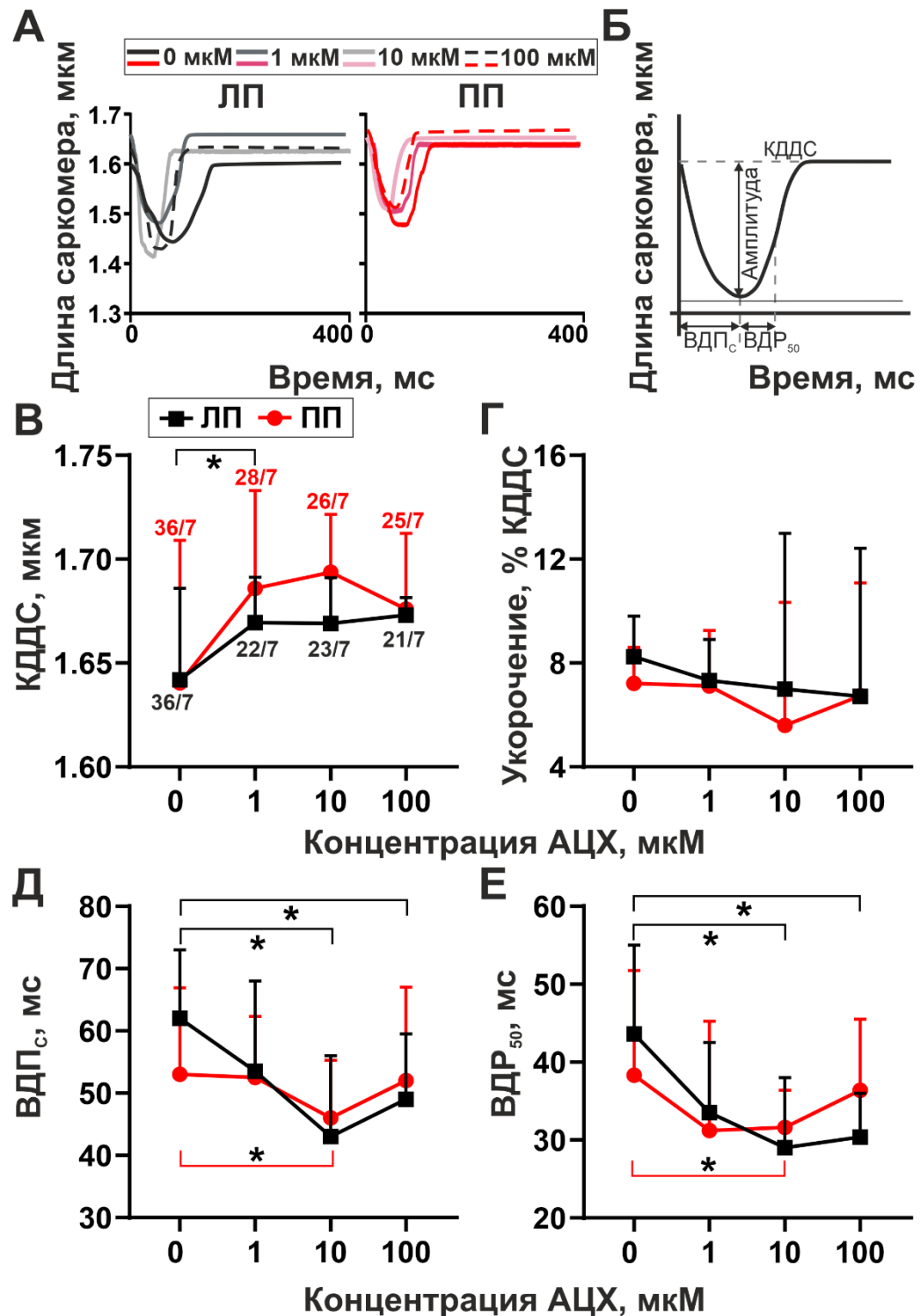


Рис. 3.17. Кривые «доза-эффект», описывающие прямое влияние АЦХ на характеристики укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП и ПП. А – Репрезентативные профили укорочения саркомеров ЛП и ПП, полученные после их инкубации с 0, 1, 10 и 100 мкМ АЦХ в течение 10 минут. Б – Анализируемые параметры укорочения саркомеров. В – Конечно-диастолическая длина саркомера (КДДС).

Г – Амплитуда укорочения саркомеров, нормированная на КДДС. Д – Время достижения пика укорочения саркомеров (ВДП_с). Е – Время достижения 50% расслабления саркомера (ВДР₅₀). Данные представлены как медиана и интервал Q1–Q3. 1-факторный дисперсионный анализ (КДДС); 1-факторный дисперсионный анализ Брауна-Форсайта (амплитуда укорочения саркомера, % КДДС); тест Краскелла-Уоллиса (ВДП_с и ВДР₅₀). Достоверность различий 1, 10 и 100 мкМ АЦХ от значений контрольной группы (0 мкМ АЦХ) при $p < 0.05$.

Инкубация кардиомиоцитов ЛП и ПП интактных животных с АЦХ не приводила к изменениям в амплитуде укорочения саркомеров и КДДС, которые регистрировались в модели АЦХ-СаCl₂-индуцированной пароксизмальной ФП (см. Рис. 3.16 Б, В). С другой стороны, как и в используемой модели ФП, параметры укорочения саркомеров кардиомиоцитов ЛП при инкубации с АЦХ были в большей степени подвержены изменению в сравнении с саркомерами миоцитов ПП. В механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП интактных животных инкубация с АЦХ приводила к уменьшению времени достижения пика укорочения и расслабления саркомера при концентрациях 10 и 100 мкМ. В кардиомиоцитах ПП острый эффект АЦХ на временные параметры укорочения саркомера был менее выраженным и обнаруживал свойство «насыщения» – максимальный эффект АЦХ достигался при концентрации 10 мкМ (уменьшение ВДП_с и ВДР₅₀ на ~62 и ~32%, соответственно), тогда как при 100 мкМ временные параметры возвращались к уровню значений контрольной группы (см. Рис. 3.16 Д, Е). Следует отметить, что инкубация с АЦХ не вызывала также изменений и в величинах максимальных скоростей укорочения и расслабления саркомера ЛП и ПП, несмотря на соответствующее уменьшение временных параметров.

Репрезентативные сигналы изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле кардиомиоцитов контрольной группы и после их инкубации с 1, 10 и 100 мкМ АЦХ представлены на рисунке 3.18 А. Усреднённый профиль изменения цитозольного $[Ca^{2+}]_i$, регистрируемый при механически ненагруженных укорочениях одиночных кардиомиоцитов и анализируемые характеристики представлены на рисунке 3.18 Б.

Инкубация кардиомиоцитов ЛП с АЦХ не приводила к уменьшению амплитуды изменения $[Ca^{2+}]_i$. В кардиомиоцитах ПП АЦХ вызывал снижение амплитуды $[Ca^{2+}]_i$ на ~43% при действии концентраций 1 и 100 мкМ, тогда как инкубация с 10 мкМ АЦХ не оказывала достоверного эффекта (см. Рис. 3.18 В). Временные параметры изменения $[Ca^{2+}]_i$ при прямом действии АЦХ подверглись большому изменению в цитозоле кардиомиоцитов ЛП, но не ПП. В ЛП АЦХ вызывал уменьшение времени достижения пика $[Ca^{2+}]_i$ на ~30–38% относительно значений контрольной группы на всём диапазоне тестируемых концентраций (см. Рис. 3.18 Г). В миоцитах ПП отмечалась ~50% пролонгация времени достижения спада $[Ca^{2+}]_i$ относительно контрольных значений только при концентрации 1 мкМ АЦХ (см. Рис. 3.18 Д). Данные результаты не согласуются с эффектами модели АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП, где не было обнаружено изменения параметров динамики Ca^{2+} в цитозоле кардиомиоцитов ни для ЛП, ни для ПП.

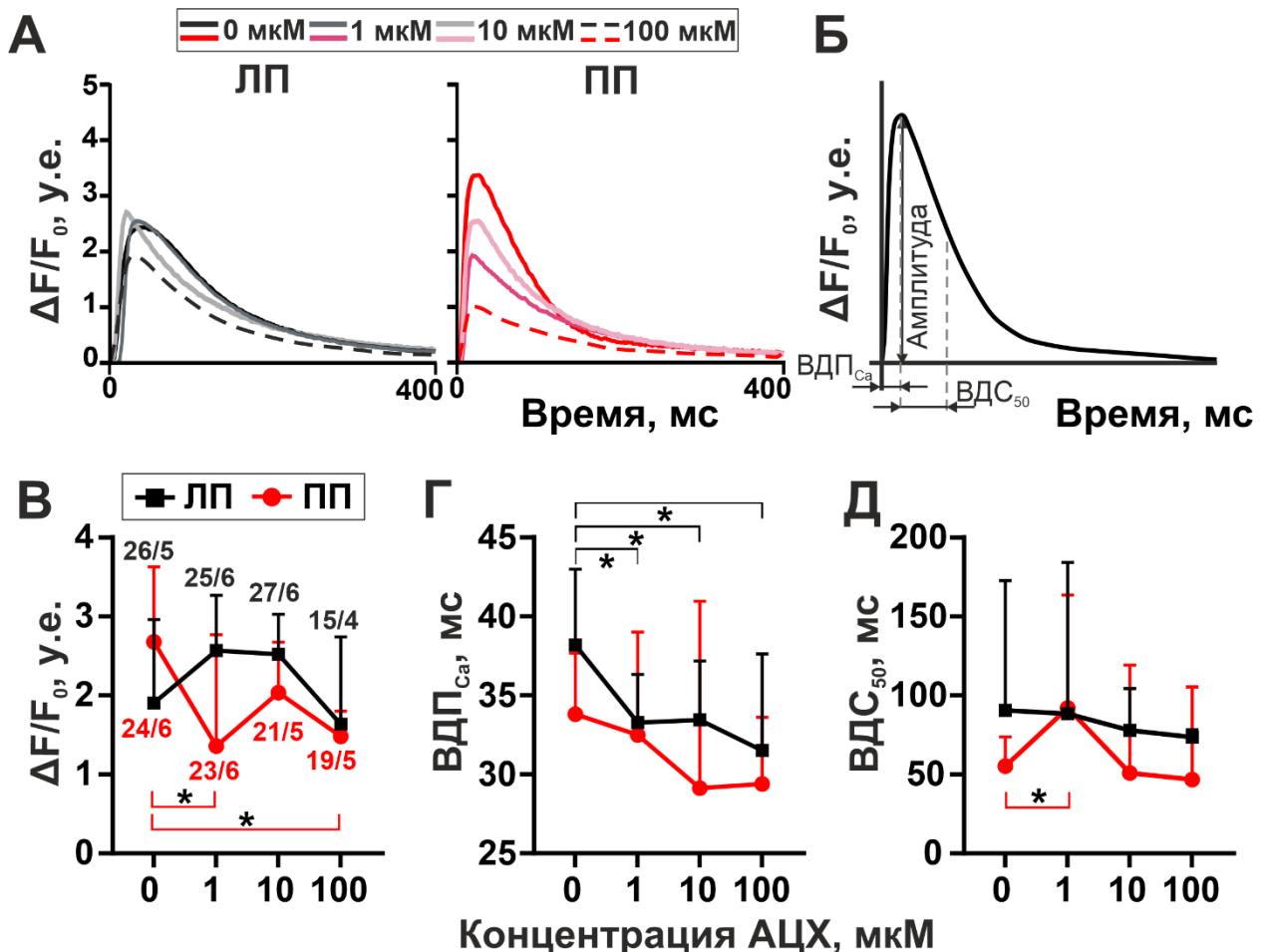


Рис. 3.18 Кривые «доза-эффект», описывающие прямое влияние АЦХ на параметры динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле механически ненагруженных кардиомиоцитов ЛП и ПП при их сокращении. А – Репрезентативные профили изменения $[Ca^{2+}]_i$, полученные после инкубации кардиомиоцитов с 0, 1, 10 и 100 мкМ АЦХ в течение 10

минут. Б – Анализируемые параметры изменения $[Ca^{2+}]_i$. В – Амплитуда изменения $[Ca^{2+}]_i$ ($\Delta F/F_0$). Г – Время достижения пика $[Ca^{2+}]_i$ ($ВДП_{Ca}$). Д – Время достижения 50% спада $[Ca^{2+}]_i$ ($ВДС_{50}$). Данные представлены как медиана и интервал Q1–Q3. Тест Краскелла-Уоллиса, достоверность различий значений в группах 1, 10 и 100 мкМ АЦХ и значений контрольной группы (0 мкМ АЦХ) при $p < 0.05$.

Вместе с этим, эффекты прямого действия АЦХ на параметры сократительной функции изолированных кардиомиоцитов интактных животных отличались от полученных в модели АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП, хотя и были сосредоточены преимущественно на ЛП в обоих типах экспериментов. Инкубация кардиомиоцитов ЛП интактных животных с АЦХ в дозозависимой манере приводила к уменьшению времени достижения пика укорочения и расслабления саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах без соответствующего изменения амплитуды и/или уменьшения скоростей укорочения и расслабления. При АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной ФП в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП выявлялось уменьшение амплитуды укорочения и скорости укорочения и расслабления саркомера, но не сопровождалось изменением соответствующих временных параметров динамики саркомеров (см. Рис. 3.9, раздел 3.2.1).

Разное направление изменений параметров сократительной функции кардиомиоцитов при АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП и прямом действии АЦХ демонстрирует, что гиперактивация холинергического звена ВНС лишь в малой степени опосредует механическое поведение кардиомиоцита при развитии пароксизмальной ФП.

3.4.2 Оценка содержания АФК и NO в одиночных кардиомиоцитах предсердий при пароксизмальной АЦХ- CaCl_2 -индуцированной ФП

Оценка $[\text{АФК}]_i$ в одиночных кардиомиоцитах предсердий показала, что $[\text{АФК}]_i$ увеличивается на ~ 2.6 раз в кардиомиоцитах ЛП ($p=0.0005$) и ~ 2.8 раз в кардиомиоцитах ПП ($p=0.0005$, иерархический кластерный анализ) относительно значений контрольной группы (см. Рис. 3.20). Не было найдено различий в значениях $[\text{АФК}]_i$ между контрольными животными, тогда как при ФП содержание $[\text{АФК}]_i$ в ЛП превышал $[\text{АФК}]_i$ ПП в 1.84 раза.

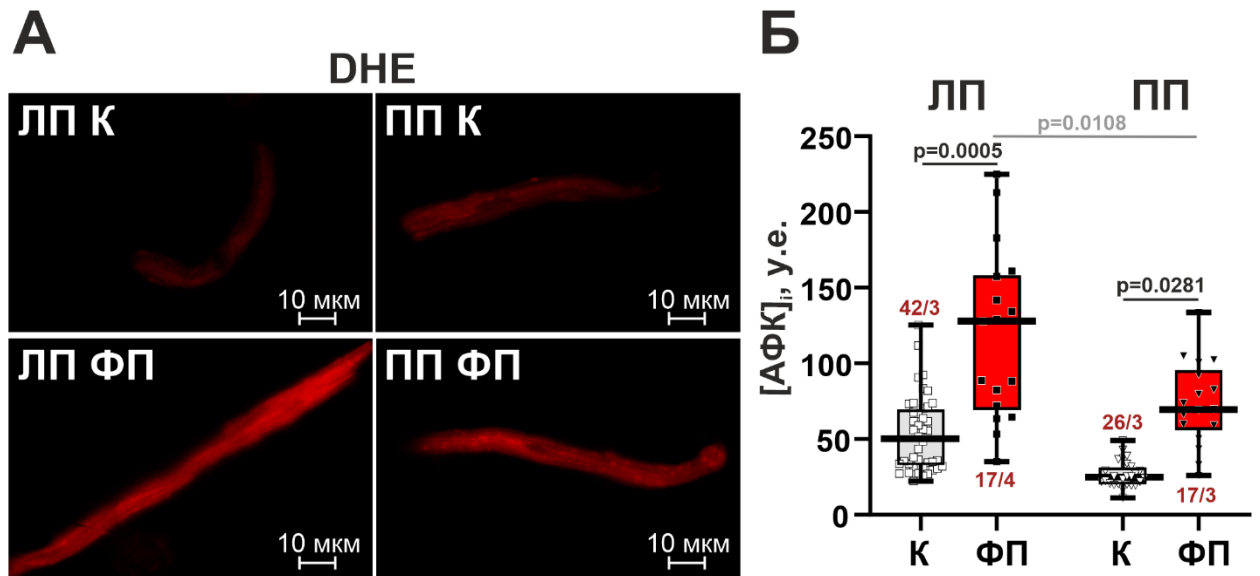


Рис. 3.20 Содержание АФК в одиночных изолированных кардиомиоцитах ЛП и ПП в контрольной группе (К) и при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Репрезентативные изображения кардиомиоцитов ЛП и ПП, окрашенных флюорофором DHE для анализа $[\text{АФК}]_i$ (масляный иммерсионный объектив, увеличение 63х). Б – Анализ $[\text{АФК}]_i$; у.е. – условные единицы флюоресценции. Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу $Q1-Q3$, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. Число клеток (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Иерархический кластерный анализ с логарифмическим преобразованием данных, достоверность различий при $p < 0.05$.

Для оценки изменения NO в миокарде ЛП и ПП при пароксизмальной ФП были выполнены измерения $[\text{NO}]_i$ в одиночных кардиомиоцитах (см. Рис. 3.21). В группе пароксизмальной ФП отмечалось достоверное понижение $[\text{NO}]_i$ в ~ 39 раз в ЛП и ~ 26 раз в ПП ($p < 0.0001$, иерархический кластерный анализ).

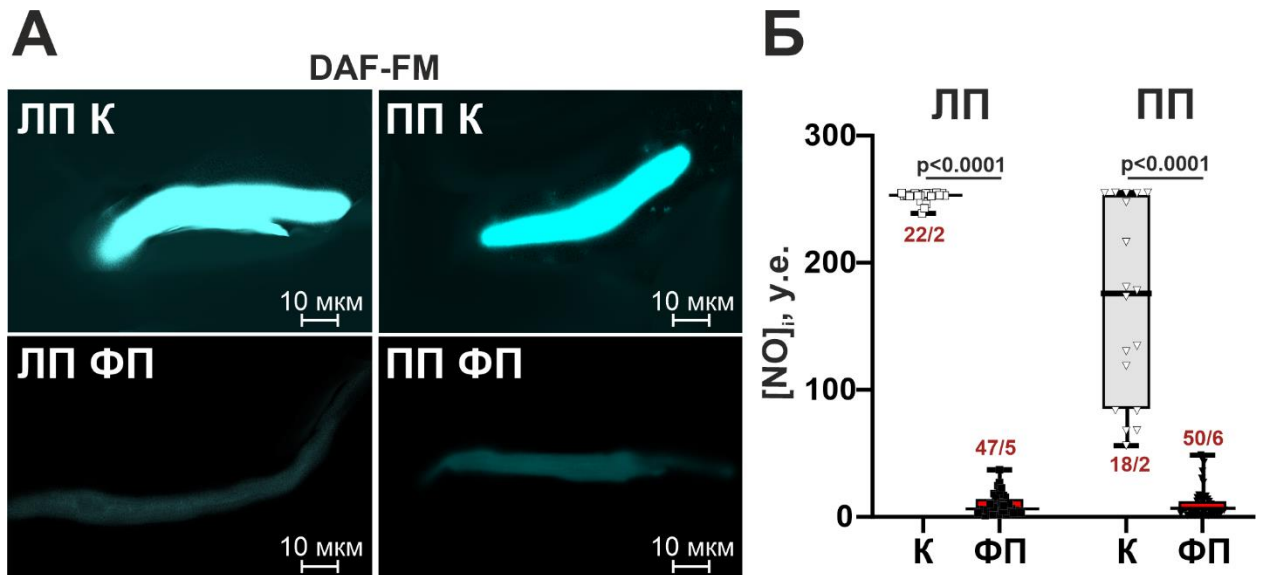


Рис. 3.21 Содержание NO в одиночных изолированных кардиомиоцитах ЛП и ПП в контрольной группе (К) и при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Репрезентативные изображения кардиомиоцитов ЛП и ПП, окрашенных флюорофором DAF-FM для анализа $[\text{NO}]_i$ (масляный иммерсионный объектив, увеличение 63х). Б – Анализ $[\text{NO}]_i$; у.е. – условные единицы флюоресценции. Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу Q1–Q3, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. Число клеток (n) и количество животных (N) в каждой группе обозначено на графике (n/N). Иерархический кластерный анализ с логарифмическим преобразованием данных, достоверность различий при $p < 0.05$.

Таким образом, пароксизмальная ФП приводит к увеличению продукции АФК и уменьшению содержания NO в миокарде ЛП и ПП, что может иметь негативные последствия на сократительную функцию предсердий (в большей степени в ЛП, чем в ПП).

3.4.3 Изменение степени фосфорилирования белков саркомера при пароксизмальной АЦХ- CaCl_2 -индуцированной ФП

Репрезентативное изображение геле-электрофореза белков с окрашиванием Pro-Q Diamond и SYPRO Ruby (см. Рис. 22 А). Обнаружено, что в большей степени уровни фосфорилирования белков саркомера при пароксизмальной ФП изменяются в ЛП. Так, в ЛП ФП привела к снижению уровней фосфорилирования сМуВР-С на ~56% и TnI на ~42% относительно значений контрольной группы ($p=0.0180$, тест Шейрера-Рэя-Хара). Такое камероспецифичное изменение уровней фосфорилирования сМуВР-С и TnI при ФП привело к возникновению различий в степени фосфорилирования данных белков между ЛП

и ПП (см. Рис. 3.22 Б, Е). В ПП при ФП отмечалось только увеличение степени фосфорилирования RLC на ~40% относительно значений, полученных для контрольных животных ($p=0.0326$, тест Шейрера-Рэя-Хара, см. Рис. 3.22 В). При этом, увеличение степени фосфорилирования RLC в ПП не приводило к возникновению различий между ЛП и ПП по данному параметру. Уровни фосфорилирования Трм и ТnТ не подверглись достоверному изменению при пароксизмальной ФП ни в ЛП, ни в ПП, и не обнаруживали изменение паттерна фосфорилирования, описанного для интактных животных ($p > 0.50$, см. Рис. 3.22 Г, Д).

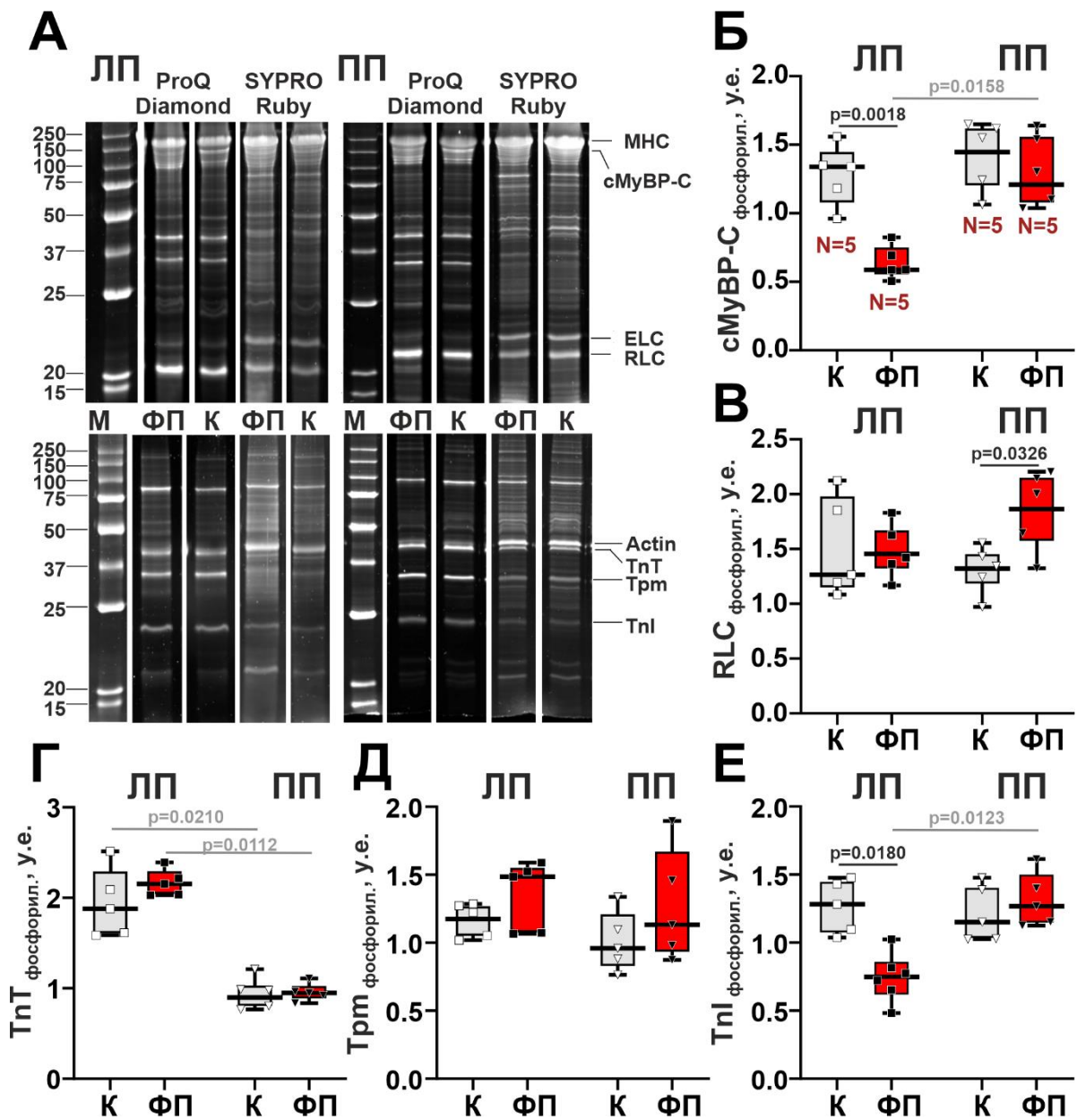


Рис. 3.22 Оценка степени фосфорилирования белков саркомера ЛП и ПП в контрольной группе (К) и при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП. А –

Репрезентативное изображение гель-электрофореза белков с окрашиванием Pro-Q Diamond и SYPRO Ruby. Б – Уровни фосфорилирования миозин-связывающего белка (сMyBP-C). В – Уровни фосфорилирования регуляторных лёгких цепей миозина (RLC). Г – Уровни фосфорилирования тропонина Т (TnT). Д – Уровни фосфорилирования тропомиозина (Trm). Е – Уровни фосфорилирования тропонина I (TnI). у.е. – условные единицы соотношения интенсивности флюоресценции Pro Q Diamond/SYPRO Ruby. Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу Q1–Q3, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. N – количество животных в каждой из анализируемых групп.; каждая точка представляет среднее значение, полученное с измерений на каждом животном в выборке. Тест Шейрера-Рэя-Хара с логарифмическим преобразованием данных, достоверность различий при $p < 0.05$.

3.4.4 Анализ морфологических параметров кардиомиоцитов и ткани предсердий при пароксизмальной АЦХ-СаCl₂-индуцированной ФП

Оценка изменения морфологических характеристик предсердий при пароксизмальной ФП оценивалось на 2 уровнях организации миокарда. На уровне изолированных кардиомиоцитов были оценены параметры длины и ширины (диаметра) клеток (оценка ремоделирования мышечного компонента миокардиальной ткани *per se*). На тканевом уровне была дана общая оценка особенностей предсердного миокарда (толщина стенок, количество ядер и диаметр кардиомиоцитов), а также оценка изменения соотношения мышечного и соединительнотканного компонента миокардиальной ткани в ЛП и ПП.

Репрезентативные изображения кардиомиоцитов ЛП и ПП контрольной и ФП и результаты статистического анализа длины и ширины кардиомиоцитов представлены на рисунке 3.21. Было выявлено статистически значимое увеличение длины но не ширины кардиомиоцитов ЛП животных с ФП на ~12% по сравнению со значениями контрольной группы ($p=0.0333$, Тест Шейрера-Рэя-Хара). Морфометрические параметры кардиомиоцитов ПП не менялись при АЦХ-СаCl₂-индуцированной пароксизмальной ФП в сравнении с миоцитами группы интактных животных. Следует отметить, что в интактном миокарде кардиомиоциты ЛП имели на ~8% меньшую длину по сравнению с миоцитами ПП ($p=0.0217$). Таким образом, вызванное пароксизмальной ФП увеличение длины кардиомиоцитов ЛП приводило к исчезновению межпредсердных различий по длине кардиомиоцита, которое ранее было показано для интактных животных (Рис. 3.23).

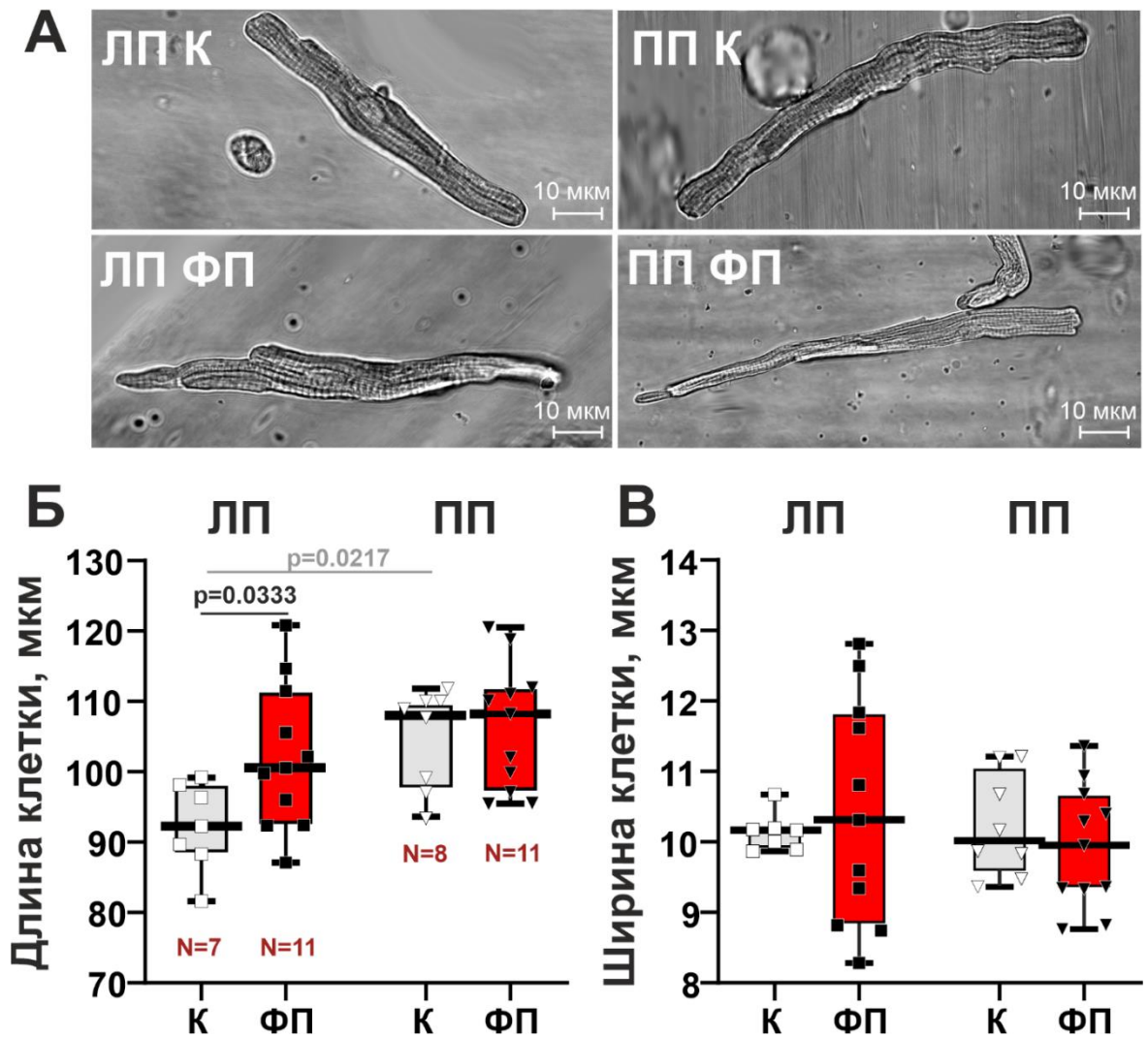


Рис. 3.23 Анализ длины и ширины (диаметра) одиночных кардиомиоцитов в контрольной группе (К) и при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Репрезентативные изображения одиночных кардиомиоцитов ЛП и ПП (увеличение 40х). Б – Длина одиночных кардиомиоцитов. В – Ширина одиночных кардиомиоцитов. N – количество животных в каждой из анализируемых групп.; каждая точка представляет среднее значение, полученное с измерений на каждом животном в выборке. Данные представлены в формате «ящика-с-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу Q1–Q3, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. Тест Шейрера-Рэя-Хара с поправкой Бонферрони, достоверность различий при $p < 0.05$.

Результаты гистологического исследования ткани ЛП и ПП интактных животных и при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП представлены на рисунке 3.24. По результатам анализа было обнаружено незначительное уменьшение толщины свободных

стенок ЛП и ПП при ФП, которое не сопровождалось изменением диаметра кардиомиоцитов и числа ядер в предсердной ткани ($p > 0.99$, тест Шейрера-Рэя-Хара). Только в ЛП были обнаружены признаки интерстициального фиброза при ФП: содержание коллагена в ЛП при ФП увеличилось на ~33% по сравнению с уровнем контрольной группы ($p = 0.0374$ тест Шейрера-Рэя-Хара). Также в ЛП при ФП отмечалось ~3-кратное увеличение содержания гликогена ($p = 0.0212$) и ~1.2-кратное уменьшение объема миофибрилл ($p = 0.0079$). В свою очередь, в ПП при ФП наблюдалось достоверное изменение соотношения гликогена и миофибрилл: количество гликогена было в ~2.2 раза выше ($p = 0.0212$), а количество миофибрилл в ~1.1 раз меньше ($p = 0.0079$) по сравнению с уровнями в контрольной группе.

Камероспецифичное влияние пароксизмальной ФП на морфологию тканей ЛП и ПП привело к выраженным различиям в структуре предсердий. Так, несмотря на отсутствие достоверных изменений толщины свободных стенок предсердий при ФП, свободная стенка ЛП у животных с ФП оказалась в ~2 раза толще, чем у ПП ($p = 0.0208$, тест Шейрера-Рэя-Хара). АЦХ- CaCl_2 -индуцированная пароксизмальная ФП привела также к межпредсердным различиям в % содержания миофибрилл в ткани: в ЛП % миофибрилл стал в ~1.1 раз меньше, чем в ПП ($p = 0.0113$, тест Шейрера-Рэя-Хара).

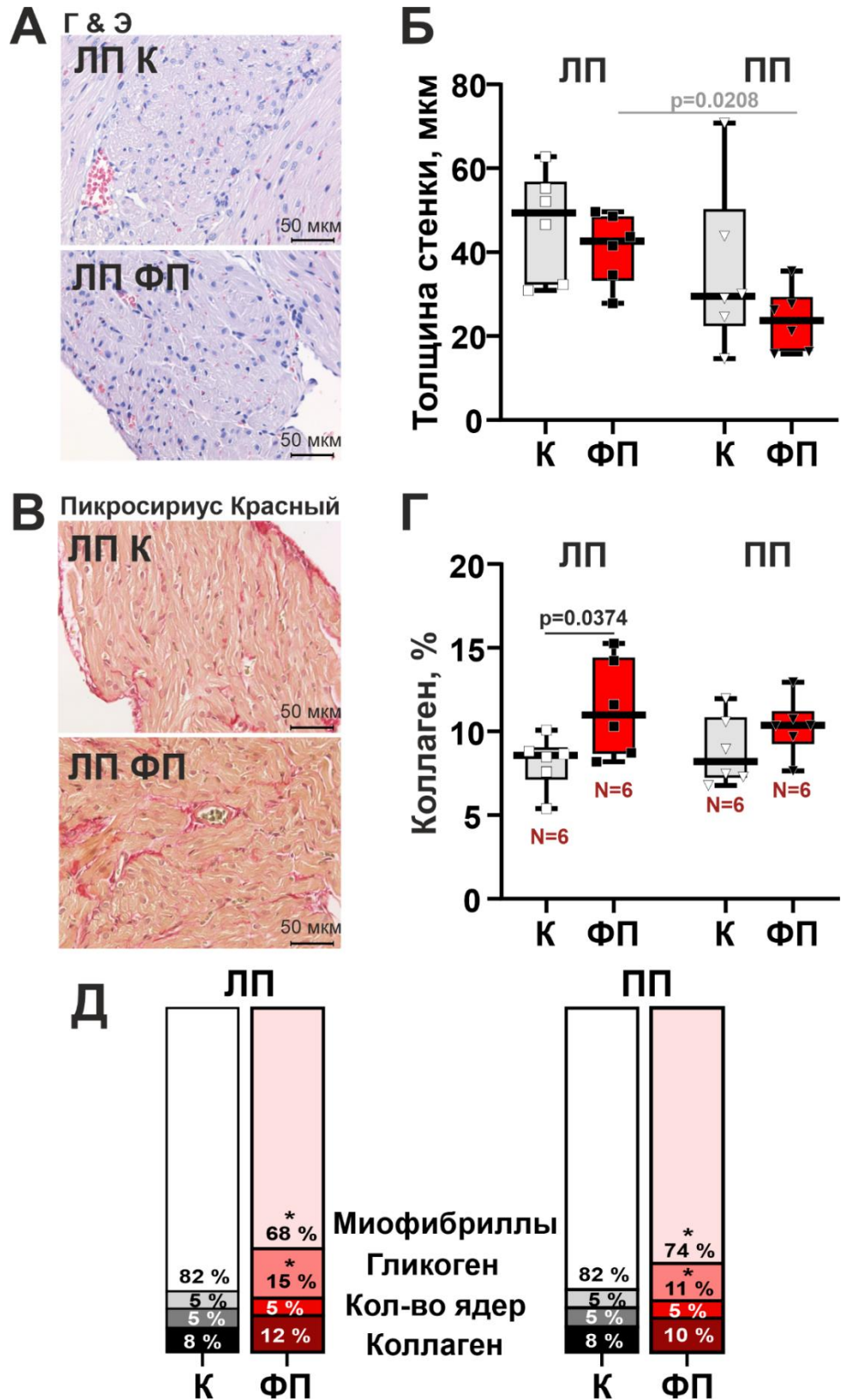


Рис. 3.24 Морфологические особенности ремоделирования ЛП и ПП при АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП. А – Пример гистологического окрашивания гематоксилином и эозином (Г&Э) тканей ЛП животных контрольной группы (К) и с АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП для выявления изменений в толщине стенок

и общей морфологической оценки ЛП и ПП (увеличение 40х). Б – Толщина стенок предсердий. В – Пример гистологического окрашивания пикросириусом красным тканей для выявления изменений в содержании коллагена (увеличение 40х). Г – Содержание коллагена в тканях предсердий. Д – Относительный состав тканей предсердий (* обозначена достоверность различий между группами К и ФП). N – количество животных в каждой из анализируемых групп.; каждая точка представляет среднее значение, полученное с измерений на каждом животном в выборке. Данные представлены в формате «ящика-усами», где горизонтальная линия соответствует медиане, границы «ящика» – интервалу Q1–Q3, а «усы» – разбросу между минимальным и максимальным значениями в выборке. Каждая точка представляет собой медианное значение, полученного для одного животного. Тест Шейрера-Рэя-Хара с поправкой Бонферрони, достоверность различий при $p < 0.05$.

Резюмируя данный раздел, следует отметить, что эффект большинства механизмов, прямо или косвенно вовлекаемых в ремоделирование сократительной функции предсердий, имеет большую выраженность в ЛП по сравнению с ПП. В ЛП в большей степени проявляется чувствительность параметров сократительной функции и $[Ca^{2+}]_i$ к прямому действию АЦХ, а также отмечается более выраженное увеличение продукции АФК, снижение уровней фосфорилирования белков толстого и тонкого филаментов саркомера, а также дилатационные, фиброзные и дистрофические изменения в ткани при пароксизмальной ФП.

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1 Однородность параметров сократительной функции миокарда левого и правого предсердий в норме на уровне одиночных кардиомиоцитов

В ходе исследования миокарда интактных животных (контрольная группа к пароксизмальной ФП) была обнаружена однородность параметров сократительной активности миокарда ЛП и ПП на клеточном уровне организации в норме. Полученные результаты не согласуются с ранее полученными данными о межпредсердных различиях в электрофизиологических характеристиках миокарда, таких как меньшие длительности ПД в ЛП (Schram, et al., 2002, Sarmast 2003, Huang 2006, Caballero et al., 2010, Voigt 2010)) и морфологических характеристик миокарда (меньшие размеры миоцитов ЛП по сравнению с ПП). С другой стороны, электрофизиологические и сократительные характеристики работы миокарда могут не согласовываться напрямую даже в рамках электромеханического сопряжения, что может быть обусловлено преобразованием и передачей электрического сигнала внутрь клетки (для совершения сокращения) через системы вторичных посредников (ter Keurs, 2011; Pfeiffer et al., 2014), а также особенностями внутриклеточного метаболизма (Bers, 2008) и вязко-эластичными свойствами ткани (Ambrosi et al., 2011).

Активация белков саркомера путем фосфорилирования и изменение $[Ca^{2+}]_i$ в цикле сокращения могут определять величину параметров сокращения и силогенерации кардиомиоцитов (Janssen, 2010; Niederer et al., 2014; Ait-Mou et al., 2016; Zhang et al., 2017; Fortuna et al., 2017). При сравнении уровней фосфорилирования белков саркомера предсердий интактных животных была обнаружена однородность уровней фосфорилирования сMyBP-C, RLC, Trm и TnI в ЛП и ПП. Также было выявлено отсутствие различий между ЛП и ПП в параметрах амплитуды динамического изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле и в СР $[Ca^{2+}]_i$. Полученные результаты объясняют отсутствие различий в величинах параметров амплитуды и скорости укорочения саркомеров, как и силы сокращения кардиомиоцита

4.2 Неоднородность свойств миокарда левого и правого предсердий в норме на тканевом уровне организации

На тканевом уровне организации миокарда нами были обнаружены межкамерные различия в характере длинозависимого роста пассивной силы ЛП и ПП интактных животных. ПП миокарда в норме демонстрировало меньшие по сравнению с ЛП величины пассивной жёсткости в диапазоне малых диастолических растяжений. Такие межпредсердные различия по величинам пассивного напряжения могли бы подразумевать

меньший объём соединительнотканного компонента и либо больший объём мышечного компонента в ткани ПП, по сравнению с ЛП. Однако, результаты гистологического анализа показали одинаковое содержание коллагена, а также толщины ушек ЛП и ПП интактных животных. Следовательно, межкамерные различия в величине пассивной жёсткости могут быть обусловлены иными различиями.

На основании литературных данных разницу в пассивной жесткости миокарда ЛП и ПП можно попытаться объяснить различиями в уровнях экспрессии и уровнях фосфорилирования белка титина. Титин известен как основной механосенсор, определяющий пассивную эластичность саркомера (Zhang et al., 2017; Krysiak et al., 2018) и играющий роль в длинозависимой активации миофиламентов (Ait-Mou et al., 2016; Li et al., 2023). В литературе показано, что изменение уровня фосфорилирования титина играет роль в развитии сократительной дисфункции сердца. Так, показано, что опосредованное серин/треонин фосфатазой 5 гипофосфорилирование N2B-региона титина, локализованного на I-диске саркомера, связано с ростом пассивной жёсткости миокардиальной ткани и развитием диастолической дисфункции при сердечной недостаточности (Hudson et al., 2011; Krysiak et al., 2018). Следовательно, меньшие величины пассивного напряжения на малых величинах растяжения, а также большая чувствительность пассивного компонента силы к изменениям длины в ПП могут быть связаны с гиперфосфорилированием титина вследствие повышенной активности каталитической субъединицы РСА или цГМФ-зависимой протеинкиназы G (PCG) (Krysiak et al., 2018; Li et al., 2023).

Также в ПП интактных сердец была отмечена большая в сравнении с ЛП крутизна зависимости «длина-активная сила» миокарда при переходе с ауksотонического режима в режим с максимальной активацией мышцы (изометрию). Учитывая описанную в литературе роль титина в длинозависимой активации белков саркомера (Ait-Mou et al., 2016; Zhang et al., 2017), можно с осторожностью предположить, что возможные межкамерные различия в уровнях его фосфорилирования вносят вклад в различную выраженность активации белков сократительного аппарата в ЛП и ПП.

4.3. Влияние пароксизмальной ФП вегетативного генеза на сократительную функцию предсердий

При исследовании камероспецифичного влияния пароксизмальной ФП на сократительную функцию предсердий были обнаружено следующее:

1. В ЛП в сравнении с контрольной группой было обнаружено уменьшение амплитуды и скорости расслабления саркомеров в механически ненагруженных

кардиомиоцитах, большая по сравнению с ПП частота появления и амплитуда альтернансов укорочения саркомеров в выборке, а также рост крутизны зависимости «длина-активная сила», но без изменения величин активного напряжения кардиомиоцита (при его механическом нагружении) и многоклеточных препаратов миокарда (при изменении величины диастолического растяжения).

2. В ПП было обнаружено увеличение КДДС и скорости укорочения саркомеров, которые также сопровождалось возникновением альтернансов в амплитуде укорочения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах. Вместе с этим отмечалось уменьшение крутизны «длина-пассивная сила», увеличение крутизны «длина-активная сила», а также снижение величин активного напряжения кардиомиоцита (при его механическом нагружении) и многоклеточных препаратов миокарда (в диапазоне больших диастолических растяжений).

По количеству параметров сократительной функции, подвергшихся изменению, можно сделать вывод, что в механически нагруженных условиях именно ПП становится более уязвимой к ФП. Это не согласуется с данными предшествующих исследований, указывающих на большую уязвимость электрофизиологических параметров к вызванному ФП ремоделированию в ЛП (Sarmast et al., 2003; Huang et al., 2006; Voigt et al., 2010), а также гипотезе, выдвигаемой в данном исследовании на основании работы электромеханической и механо-электрической связей в миокарде (Pfeiffer et al., 2014). Так, согласно литературным данным, при ФП отмечается более выраженное сокращение эффективного рефрактерного периода и укорочение длительности ПД в ЛП по сравнению с ПП (Voigt et al., 2010; Lau et al., 2013). В данном исследовании не было обнаружено влияния пароксизмальной ФП на параметры времени укорочения саркомера, силы кардиомиоцита и активного напряжения препарата, которые могли бы быть вызваны изменениями в морфологии ПД в виде укорочения длительности ПД или аномально замедленной реполяризации, провоцирующей ранние постдеполяризации (Schotten et al., 2003; Pfeiffer et al., 2014). Хотя и были отмечены модуляции в параметрах скорости укорочения и расслабления саркомера и активного напряжения аусотонического сокращения кардиомиоцита, их изменение носило камероспецифичный характер – каждый из параметров скорости по разному изменялся для ЛП и ПП и имел разные вызванных ФП направления изменений. В свою очередь, это позволяло полноценно соотнести их с описанными в литературе изменениями временных характеристик ПД.

Таким образом, результаты исследования позволяют сделать вывод об отсутствии схожести в направлении электрического и механического ремоделирования при пароксизмальной ФП вегетативного генеза.

Кроме того, обнаружено, что выраженность и камероспецифичность ремоделирования параметров сократительной функции при пароксизмальной ФП зависит от условий механического нагружения, задаваемом в эксперименте. При задании механической нагрузки было обнаружено вызванное ФП уменьшение величин активного напряжения кардиомиоцита и многоклеточного препарата ПП, а также скорости расслабления кардиомиоцита ПП. Тогда как в ПП группы ФП в отсутствие механического нагружения степень фосфорилирования сМуВР-С, TnI, Tpm и TnT сохранялась на уровне контрольных значений, а амплитуда укорочения саркомеров не изменялась. Поскольку сердце является органом, работающем в условиях механической пред- и пост-нагрузки, экстраполяция полученных результатов на уровень целого органа также позволяет выделить ПП (а не ЛП) как регион, уязвимый к потере сократительной функции при пароксизмальной ФП.

Далее в этой главе будут предположены механизмы, определяющие вызванное пароксизмальной ФП ремоделирование параметров сократимости *per se* и при действии на миокард предсердий различных условий механического нагружения.

Камероспецифичные механизмы сократительной дисфункции предсердий при пароксизмальной ФП, проявляющиеся без механического нагружения миокарда

Для анализа механизмов, ответственных за межпредсердные особенности изменения сократительной функции миокарда предсердий при пароксизмальной ФП, были проанализированы профили фосфорилирования белков саркомера. Было обнаружено камероспецифичное изменение уровней фосфорилирования: в ЛП обнаружено снижение уровней фосфорилирования сМуВР-С и TnI, а в ПП – повышение уровня фосфорилирования RLC относительно значений контрольной группы.

Преыдушие исследования связывают уменьшение амплитуды укорочения саркомеров и увелечение времени их укорочения и расслабления с понижением уровня фосфорилирования сМуВР-С (Kumar et al., 2020). Уменьшение фосфорилирования TnI также связывают с развитием сократительной дисфункции миокарда (Salhi et al., 2023). Таким образом, можно предположить, что снижение уровней фосфорилирования сМуВР-С и TnI в ЛП может способствовать уменьшению амплитуды и скорости расслабления саркомеров, наблюдаемому в механически ненагруженных кардиомиоцитах.

В исследовании на образцах миокарда крысы с инфарктом миокарда и человека с сердечной недостаточностью, уменьшение фосфорилирования RLC приводило к пролонгации сокращения и уменьшению амплитуды силы в скинированных трабекулах (Тоерфер et al., 2013). Напротив, увеличение фосфорилирования RLC приводило к

увеличению амплитуды и скорости достижения пика силы и скорости расслабления скинированных трабекул (Toepfer et al., 2013). Таким образом, несмотря на появление нестабильности сокращения в виде механических альтернансов, увеличение уровня фосфорилирования RLC при пароксизмальной ФП может способствовать поддержанию амплитуды укорочения саркомера в кардиомиоцитах ПП, сопоставимое со значениями контрольной группы.

Кроме того, в кардиомиоцитах ПП было отмечено увеличение КДДС при ФП. Данное изменение можно попытаться связать с изменением активности титина при ФП (Huang et al., 2021; Cizauskas et al., 2023). Титин стабилизирует размер саркомера, располагаясь с двух сторон от Z-дисков к центру толстого филамента, и, в условиях гиперфосфорилирования ослабляет пассивное напряжение саркомера и способствует его большему расслаблению, что проявляется в увеличении его конечно-диастолической длины (Ait-Mou et al., 2016; Zhang et al., 2017; Li et al., 2023). Таким образом, камероспецифичное фосфорилирование белков саркомера при ФП может приводить к наблюдаемому паттерну межкамерных различий в механически ненагруженных кардиомиоцитах предсердий.

Окислительный стресс, происходящий вследствие увеличения продукции АФК и нарушения работы внутриклеточных антиоксидантных систем, указан как один из факторов, способствующий возникновению и прогрессированию ФП (Reilly et al., 2011; Schillinger and Patel, 2012; Sovari and Dudley, 2012; Ren et al., 2018; Yoo et al., 2020). Показано, что повышение значений [АФК]_i приводит к окислительному повреждению миофиламентов саркомера (Lenaerts et al., 2013; Steinberg, 2013; Moris et al., 2017; Goette et al., 2021).

В ходе исследования было обнаружено, что при ФП значения [АФК]_i в становятся больше в кардиомиоцитах ЛП по сравнению с кардиомиоцитами ПП. В литературе сообщается о различиях в источниках окислительного стресса между ЛП и ПП. Так, для ЛП увеличение продукции АФК связывают с повышением активности Rac1, НАДФН-оксидазы и увеличением экспрессии белков NOX2 и p22phox (Dudley et al., 2005; Reilly et al., 2011; Yoo et al., 2020), тогда как для ПП развитие окислительного стресса в большей степени относят с разобщённой активностью NO-синтаз и митохондриальных оксидаз, происходящей при длительных формах ФП (Reilly et al., 2011). Можно предположить, что различная выраженность увеличения [АФК]_i в кардиомиоцитах ЛП и ПП обусловлена различиями в источнике АФК и временем, затрачиваемым на их активацию. Кроме того, установлено, что растяжение предсердий дополнительно увеличивает [АФК]_i (Dobrev and Dudley, 2021; Goette et al., 2021), что в условиях уже вызванного ФП окислительного стресса

будет провоцировать повышение активации NOX2 по механизму положительной обратной связи (Dobrev and Dudley, 2021). Наши результаты показывают, что длина кардиомиоцитов ЛП увеличивается при ФП, в отличие от кардиомиоцитов ПП, что может указывать на дилатационные изменения и перерастяжение миокарда ЛП. Таким образом, более выраженный рост [АФК]_i в кардиомиоцитах ЛП может быть объяснён и по этому механозависимому механизму.

Таким образом, большую выраженность нарушения сократительной функции саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП можно связать с посттрансляционной модификацией белков саркомера, происходящей в условиях повышенной [АФК]_i.

Однако, для объяснения процессов ремоделирования параметров силы сокращения, более выраженных в ПП, были предполагаются другие механизмы регуляции сократительной функции миокарда предсердий при пароксизмальной ФП, которые будут рассмотрены далее.

Камероспецифичные механизмы сократительной дисфункции предсердий при пароксизмальной ФП, проявляющиеся в условиях механического нагружения миокарда

Результаты исследования показали, что при действии механической нагрузки нарушения сократительной функции более выражены в ПП чем в ЛП. При ФП амплитуды активного ауксотонического напряжения одиночного кардиомиоцита и активного изометрического напряжения многоклеточного препарата ПП становились ниже уровней, регистрируемых в контрольной группе. В ЛП не было обнаружено изменений в величинах развиваемой силы сокращения относительно уровня в контрольных животных.

Анализ зависимостей «длина-сила» показал, что для многоклеточных препаратов ПП при ФП отмечалось увеличение коэффициента наклона «длина-активная сила» в изометрическом режиме сокращения, но уменьшение крутизны зависимости «длина-пассивная сила» в ауксотоническом и изометрическом режиме сокращения. В многоклеточных препаратах ЛП также отмечалось увеличение крутизны зависимости «длина-активная сила» в изометрическом режиме сокращения, но не было найдено изменений в коэффициентах крутизны «длина-пассивная сила» между группами ФП и контроль.

Недавнее исследование на кардиомиоцитах крыс показывало, что характеристики функции саркомеров в ходе цикла сокращение-расслабление неоднородны в разных участках кардиомиоцита (Li et al., 2023). Так, во время цикла укорочение-расслабление кардиомиоцита в отсутствие механической нагрузки, порядка 10–20 % его саркомеров

остаются неактивными, либо растягиваются под действием соседних участков в кардиомиоците. При растяжении кардиомиоцита происходит активация ранее неактивных саркомеров, и включение их в цикл укорочение-расслабление, что ведёт к увеличению амплитуды укорочения саркомера и улучшению силогенерирующей способности кардиомиоцита (Li et al., 2023). Таким образом, можно выдвинуть предположение, что механическая нагрузка за счёт активации большего числа саркомеров может способствовать сохранению силы кардиомиоцита ЛП даже при сниженном профиле фосфорилирования белков саркомера.

Следует отметить, что увеличение крутизны зависимости «длина-активная сила» для ЛП и ПП при ФП было получено только в изометрическом режиме сокращения препаратов. Изометрический режим, в виду отсутствия изменения длины препарата в ходе его сокращения, может быть рассмотрен как режим с максимальной кооперативной активацией белков саркомера (Kampourakis and Irving, 2021; Lookin et al., 2021). Следовательно, механическая нагрузка также может усиливать вызванный пароксизмальной ФП эффект на активную силу за счёт более выраженной активации белков сократительного аппарата.

Результаты гистологического анализа показали, что в кардиомиоцитах обоих предсердий пароксизмальная ФП приводит к уменьшению числа миофибрилл. При этом, в ЛП данное уменьшение было более выраженным, чем в ПП, что может быть обусловлено большим значением $[AФК]_i$, ведущим к окислительному повреждению белков саркомера (Lenaerts et al., 2013; Steinberg, 2013). Также в ЛП отмечалось увеличение длины кардиомиоцита, провоцируемое, вероятнее всего, хронической дилатацией предсердной камеры, соответствующей патогенезу ФП (Schotten et al., 2003; Cangemi et al., 2019; Хорькова и соавт., 2020). В ПП параметры длины и ширины кардиомиоцита при пароксизмальной ФП оставались без изменений. Для кардиомиоцитов желудочков описан механизм компенсаторного увеличения числа саркомеров в продольном направлении в ответ на продолжительную перегрузку давлением/объёмом в диастолу (Russel et al., 2010; Wilson et al., 2014). Однако, объяснение сохранности силогенерирующей способности ЛП простым увеличением числа саркомеров в продольном направлении будет некорректным, ввиду того, что не происходило увеличения клетки в ширину с соответствующим увеличением количества параллельных элементов, что обеспечивало бы сложение сил в кардиомиоците согласно классическим реологическим моделям биомеханики миокарда (Соловьёва и соавт., 2006).

Различия в силогенерирующей способности ЛП и ПП при пароксизмальной ФП могут быть обусловлены их различной механочувствительностью. Ранее сообщалось о том, что ЛП и ПП крыс по-разному реагируют на одинаковые величины «напряжения-сдвига»

(Le et al., 2020). Также предшествующие исследования сообщали о различиях в плотности субъединиц механочувствительных ионных каналов в миокарде ЛП и ПП крыс (Egorov et al., 2024), мышей и человека (Schmidt et al., 2017), предполагая потенциальный вклад данных различий в патогенез ФП. В частности было показано, что при ФП, сопровождающейся дилатацией предсердий, нарушение экспрессии белка $K_{2P2.1}$ (ответственного за регуляцию активируемого растяжением K^+ тока), было более выраженным в ткани ПП (Schmidt et al., 2017). Однако, эти данные больше объясняют различия в электрическом, но не в механическом ремоделировании ЛП и ПП в условиях механической нагрузки при пароксизмальной ФП. Более подробно исследованы межкамерные различия в механочувствительности и вклад этих различий в ремоделирование сократительной функции миокарда желудочков. Показано, что левый желудочек имеет больший адаптивный потенциал к перегрузке давлением/объёмом, что позволяет поддерживать силогенерирующую способность в течение долгого времени, тогда как правый желудочек в подобных условиях реагирует быстрым ремоделированием структуры и сократительной функции (Modesti et al., 2004; Mekkaoui et al., 2015). На основании литературных и наших данных можно предположить наличие большего адаптивного потенциала левых отделов сердца и большую механочувствительность правых отделов сердца. Однако механизмы камероспецифичной механочувствительности в ЛП и ПП требуют экспериментального уточнения.

Выраженная пологость кривой «длина-пассивная сила» миокарда ПП при пароксизмальной ФП может быть обусловлена изменениями морфологии предсердий. Гистологический анализ миокардиальных срезов показал, что при ФП уменьшается число саркомеров (в большей степени в ЛП, чем в ПП), увеличивается содержание гликогена и коллагена в ЛП, но не в ПП. Можно предположить, что увеличение содержания коллагена на фоне уменьшения числа саркомеров (миофибрилл) позволяет поддерживать пассивные свойства миокарда ЛП при ФП, сравнимые со значениями в контрольной группе. Наоборот, в ПП уменьшение числа саркомеров может приводить к снижению пассивной жёсткости, формируемой со стороны миофиламентов саркомера (Ait-Mou et al., 2016; Zhang et al., 2017; Li et al., 2023).

Камероспецифичные механизмы ремоделирования сократительной функции предсердий, рассмотренные в данном разделе, представлены на рисунке 4.1.

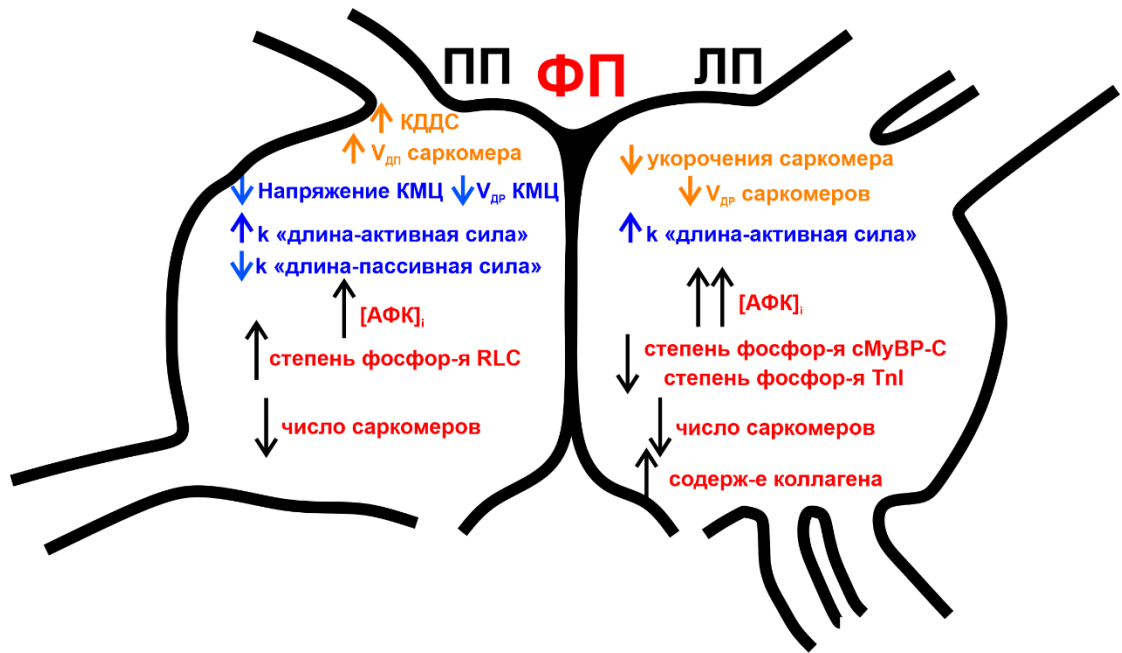


Рис. 4.1. Схема особенностей сократительной дисфункции миокарда ЛП и ПП при пароксизмальной ФП. Оранжевым цветом обозначены характеристики сократительной функции кардиомиоцитов, сокращающихся без механической нагрузки; синим – характеристики сократительной функции кардиомиоцитов и многоклеточных препаратов под механической нагрузкой; k – коэффициент крутизны зависимости; ↓↑ – направление изменений при ФП по сравнению с контрольной группой (норма).

Также можно предложить функциональное значение снижения амплитуд активного напряжения и крутизны кривой «длина-пассивное напряжение» миокарда ПП при пароксизмальной ФП. На клинических данных пациентов было показано уменьшение насосной функции с параллельным увеличением проводниковой функции предсердия в соответствии с ростом выраженности диастолической дисфункции желудочка (Yamano et al., 2017). Снижение активного напряжения и длинозависимого увеличения пассивной силы ПП при пароксизмальной ФП может косвенно указывать на изменение функций насосной и проводниковой и предсердия на уровне целого сердца и предполагать развитие диастолической дисфункции в правом, а не в левом желудочке.

Таким образом, наблюдаемая в норме однородность параметров сократительной функции на клеточном уровне и неоднородность пассивной жесткости на тканевом уровне организации миокарда ЛП и ПП (Рис. 4.2 А) при ФП изменяется в сторону неоднородности характеристик сокращения на клеточном уровне организации но однородности пассивной жесткости ЛП и ПП на тканевом уровне организации миокарда (Рис. 4.2 Б). В свою очередь, механическая нагрузка может регулировать функцию кардиомиоцитов при ФП таким образом, что межпредсердные различия, наблюдаемые без механической нагрузки, нивелируются (Рис. 4.2 Б).

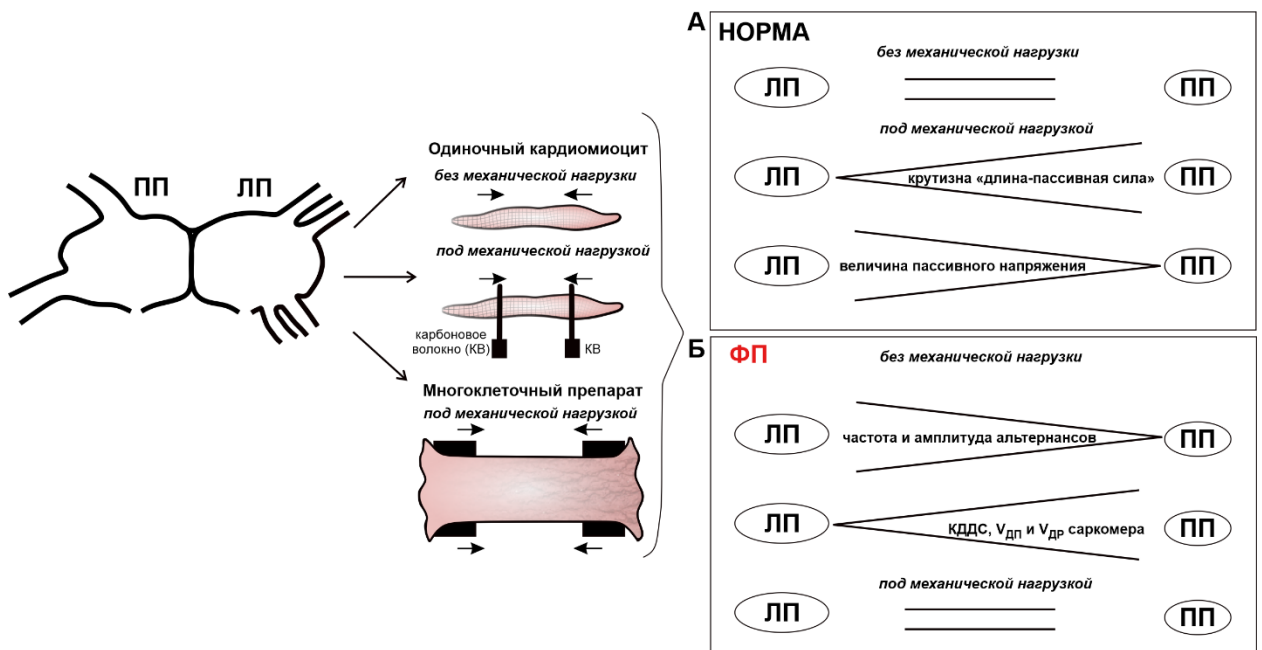


Рис. 4.2. Вклад механической нагрузки в формирование межпредсердных различий сократительной функции миокарда крыс в норме и при пароксизмальной ФП. А – Различия в характеристиках сократительной функции в норме. Б – Различия в характеристиках сократительной функции при пароксизмальной ФП.

Пароксизмальная ФП, вызывает сократительную дисфункцию ПП, тем самым создавая субстрат дискоординации предсердных камер в ходе сердечного цикла. Поскольку предсердия анатомически и функционально находятся в контакте с желудочками, то можно выдвинуть предположение о том, что дискоординация работы предсердий может создать субстрат для нарушения атриовентрикулярного взаимодействия, что повлечёт за собой нарушение насосной функции сердца (Кобалава и соавт., 2017; Hiram et al., 2019; Reddy et al., 2020).

4.4 Особенности и ограничения модели АЦХ-СаСl₂-индуцированной пароксизмальной ФП

В данной работе реализована модель 7-дневной ФП на крысах при внутривенном введении АЦХ и СаСl₂. Длительность модели обусловлена клиническими критериями диагностики пароксизмальной ФП (Hindricks et al., 2020). Регулярные инъекции раствора АЦХ-СаСl₂ в хвостовую вену 100% животных (N=38) вызывали появление устойчивых пароксизмов в виде появления f-волн, снижения амплитуды QRS комплекса и нерегулярности R-R зубцов после каждого введения (см. Рис. 2.1 Б, раздел 2.2). Число эпизодов нарушения ритма возрастало непосредственно в момент инъекции и, хотя и в меньшем количестве, сохранялось через 2 часа после введения раствора. Также следует отметить, что вызванные одновременным введением АЦХ и СаСl₂ изменения ЭКГ отмечались преимущественно в отведении I. У всех животных однократное введение раствора АЦХ-СаСl₂ вызывало кратковременную отдышку и выделение порфирина, а на седьмой день постановки модели отмечалось ухудшение физического состояния (вялость и низкая толерантность к стрессу и физическим нагрузкам). Были выявлены различия в индивидуальной чувствительности к внутривенному введению АЦХ-СаСl₂: у ряда животных (~11% случаев, N=4 из 38) отмечались выраженные и стойкие изменения на ЭКГ уже на первый день постановки модели, как отмечалось и резкое ухудшение сердечной функции (вплоть до асистолии) к третьему дню постановки модели.

Выбранная модель ФП выгодно отличается от других малой инвазивностью (в сравнении с прямой электрической стимуляцией сердца или модельной инициацией ишемии и/или сердечной недостаточности), а также позволяет воспроизвести вегетативный генез в нарушениях сердечного ритма. Согласно литературным данным, в данной модели ингибируется эффект синоатриального узла на очаги эктопического возбуждения, что имитирует проявления re-entry, наблюдаемые в клинической практике (Sharifov et al., 2004; Zou et al, 2016), а также, за счёт СаСl₂ обеспечивается внутриклеточная перегрузка ионами Са²⁺ (вследствие повышения их внеклеточной концентрации), что является одним из компонентов электрического и метаболического ремоделирования при ФП (Chen et al., 2014; Lv et al., 2019). Дополнительно инъекции СаСl₂ показаны как эффективные индукторы сердечных аритмий вследствие активации симпатического звена нервной системы и выпуска норадреналина из околосердечных ганглиев ВНС (Dianat et al., 2015; Malinow et al., 1953). С другой стороны, холинергическая перегрузка ВНС посредством внутривенного введения АЦХ способствует не только возникновению пароксизмальной активности предсердий (Sharifov et al, 2004) за счёт активации I_{K_{ACh}} при воздействии на M₂ рецепторы и провоцирования ранней постдеполяризации за счёт укорочения ПД (Sarmast et

al., 2003; Huang et al., 2006). Активация и перегрузка холинергического компонента ВНС способствует формированию пространственно-временного градиента эктопических очагов в предсердиях, что поддерживает нарушения ритма в течение долгого времени и провоцирует их рецидивы, способствуя развитию характерного патогенеза ФП (Chen et al., 2014; Linz et al., 2019). Предыдущие исследования демонстрируют, что АЦХ может оказывать влияние на параметры изменения $[Ca^{2+}]_i$ за счёт подавления $I_{Ca,L}$ и Ca^{2+} -индуцированного Ca^{2+} высвобождения из депо СР за счёт понижения уровня цАМФ. Кроме того, вызванное АЦХ понижение уровня цАМФ ведёт к снижению цАМФ-РКА-зависимого фосфорилирования фосфоламбана, понижающего вероятность открытия RyR для Ca^{2+} -индуцированного Ca^{2+} высвобождения и замедляющего обратное поглощение ионов Ca^{2+} через SERCA2a (van Borren et al., 2010; Sutanto et al., 2020). Эффект такой АЦХ зависимой регуляции на параметры изменения $[Ca^{2+}]_i$ были частично получены в остром эксперименте с АЦХ, но не были получены в самой модели АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной ФП.

Из эффектов модели, свидетельствующих об убедительном воспроизведении патогенеза ФП, сопоставимых с реальной клинической картиной развития наджелудочковых тахикардий, является наличие дилатационных изменений в миокарде предсердий (Schotten et al., 2003; Cangemi et al., 2019; Хорькова и соавт., 2020) и альтернансы сократительной функции саркомеров изолированных кардиомиоцитов (Narayan et al., 2011; Kanaporis et al., 2019; Fakuade et al., 2021). Дилатационные изменения обнаруживались как при визуальной оценке изолированного сердца крыс с группы ФП вегетативного генеза на аппарате ретроградной перфузии Лангендорфа по увеличению размера ЛП и ПП, так и косвенно подтвердились последующим морфометрическим анализом изолированных кардиомиоцитов. Было установлено достоверное увеличение длины кардиомиоцитов только ЛП, но не ПП при действии АЦХ- $CaCl_2$ -индуцированной пароксизмальной ФП. Согласно литературным данным, развивающийся фиброз предсердий и дилатационные изменения предсердных камер имеют двустороннюю корреляцию с риском возникновения ФП (Tieleman, 2003; Pellman et al., 2010; Tan and Zimetbaum, 2011; Nattel, 2017). Наличие альтернансов укорочения саркомеров совпадает с ранее опубликованными экспериментальными данными о возникновении альтернансов длительности амплитуды и длительности ПД, а также альтернансов амплитуды $[Ca^{2+}]_i$ при ФП (Narayan et al., 2011; Kanaporis et al., 2019; Fakuade et al., 2021), что лежит в основе формирования устойчивого субстрата для развития длительных форм ФП за счёт формирования неоднородного пространственно-временного градиента сокращения (Chang et al., 2014; Kulkarni et al., 2019).

Влияние медиатора парасимпатической нервной системы АЦХ на сократительную функцию кардиомиоцитов

В серии верификационных экспериментов был проанализирован вклад холинергического компонента модели – АЦХ на параметры сократительной функции кардиомиоцитов интактных животных.

Как и в модели АЦХ- CaCl_2 -индуцированной ФП инкубация суспензий механически ненагруженных кардиомиоцитов интактных животных с АЦХ приводила к возникновению гетерогенности между ними по ряду исследуемых параметров. Было обнаружено дозозависимое уменьшение времени достижения пика и сокращения саркомера (более выраженное в ЛП). Дополнительно, было выявлено дозозависимое снижение амплитуды $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в только в ПП и уменьшение времени достижения пика $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в ЛП. Полученные результаты согласуются с ранее полученными данными, демонстрирующими большую чувствительность ЛП к действию АЦХ в связи с большей плотностью канальных субъединиц Kir3.x , соответственно, большей плотностью I_{KACH} (Sarmast et al., 2003; Huang et al., 2006; Voigt et al., 2010). Предыдущие исследования показали, что АЦХ может оказывать влияние на параметры изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ за счёт подавления $I_{\text{Ca,L}}$ и вызванного ионами Ca^{2+} выброса из СР за счёт понижения уровня цАМФ. Кроме того, вызванное АЦХ понижение уровня цАМФ ведёт к понижению цАМФ-РКА-зависимому фосфорилированию фосфоламбана, ответственному за регуляцию скорости Ca^{2+} -индуцированного Ca^{2+} релиза и обратного поглощения ионов Ca^{2+} через SERCA2a (van Borren et al., 2010; Jiang et al., 2019; Sutanto et al., 2020). Однако, изменение параметров $[\text{Ca}^{2+}]_i$, вызванное инкубацией кардиомиоцитов с АЦХ, лишь частично согласуется с данной концепцией, предполагая дифференциацию данных механизмов для ЛП и ПП.

В модели АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП в ЛП отмечалось уменьшение скорости (но не времени) расслабления саркомера, что частично согласуется с реализацией градиента I_{KACH} . В ПП, напротив, происходило вызванное АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП увеличение скорости сокращения саркомера. Также в модели не наблюдалось достоверного изменения параметров кинетики цитозольного $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Любопытно, что данный результат, полученный в модели, не соответствует современным механизмам патогенеза ФП (Linz et al., 2019; Saljic et al., 2022; Fong et al., 2021), однако, может быть связан с проведением исследований на нефизиологической частоте электрической стимуляции (1 Гц). Сравнивая результаты острого эксперимента АЦХ с эффектами модели АЦХ- CaCl_2 -индуцированной пароксизмальной ФП, можно сделать вывод о том, что холинергический компонент модели оказывает меньшее влияние

на ремоделирование параметров сократительной функции кардиомиоцита чем адренергический компонент модели.

Ограничения модели пароксизмальной ФП

Важно отметить, что в оригинальном исследовании Zou и соавторов (Zou et al., 2016), а также последующих работах по исследованию ремоделирования миокарда при ФП на данной модели (Lv et al., 2019; Fu et al., 2021), пароксизмы ФП успешно провоцировались у мелких грызунов (крысы и мышей). Несмотря на то, что крысы и мыши являются удобным экспериментальным объектом с точки зрения изученности их физиологических особенностей, скорости размножения и дешевизны, их миокард исходно адаптирован к развитию более высоких частот сердечного сокращения (Nishida et al., 2010; Schüttler et al., 2020). Данная адаптация значительно затрудняет индукцию устойчивой предсердной аритмии без выраженных супрафизиологических нарушений (Schüttler et al., 2020). Однако сочетанный эффект 7-дневных инъекций АЦХ и CaCl_2 способствовал инициации устойчивой ФП, которая сохранялась как на 8–9 день эксперимента (как в текущем исследовании), так и в течение 3 недель (как показано в исследованиях Lv и соавторов (Lv et al., 2019) и Fu и соавторов (Fu et al., 2021)). Тем не менее, все эффекты модели следовало транслировать на человека с большой осторожностью, учитывая различия в межвидовой физиологии.

Таким образом, данное исследование было выполнено с использованием экспериментальной модели, убедительно воспроизводящей вегетативный генез и клиническую симптоматику пароксизмальной ФП. Результаты, полученные в данном исследовании, могут быть транслированы на человека с учётом различий в межвидовой физиологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании была проведена оценка характеристик сократительной функции предсердий крыс при пароксизмальной АЦХ- CaCl_2 индуцированной ФП, а также выявлены особенности сократительной дисфункции и механизмов её развития в ЛП и ПП. Заявленная в работе цель и поставленные для её реализации задачи подразумевали выполнение исследования в 3 смысловых блока:

1. Определение межпредсердных различий в характеристиках сократительной функции предсердий в норме;
2. Оценка камероспецифичного ремоделирования сократительной функции предсердий и определение паттерна различий в характеристиках жесткости и сократимости между ЛП и ПП, индуцированного пароксизмальной ФП;
3. Анализ возможных механизмов, участвующих в камероспецифичном изменении сократительной функции предсердий при пароксизмальной ФП.

На клеточном уровне организации миокарда была обнаружена однородность (близость величин) параметров сокращения ЛП и ПП в норме. В отличие от ранее полученных литературных данных о наличии электрического, метаболического и структурного различий между предсердиями в норме, гипотеза о наличии различий в параметрах сократимости одиночных кардиомиоцитов не подтвердилась. Только на тканевом уровне организации миокарда были определены характеристики пассивной жесткости, которые могут вносить вклад в различия сократительной способности между предсердиями – величина пассивного напряжения и крутизна зависимости «длина-пассивная сила». Были получены меньшие величины пассивного напряжения и большая крутизна роста силы в ответ на изменение длины в многоклеточных препаратах ПП в сравнении с ЛП.

При анализе камероспецифичного ремоделирования миокарда при пароксизмальной ФП было установлено, что функционально ПП подвергается большим изменениям, чем ЛП, что может указывать на его большую чувствительность. Пароксизмальная ФП в ПП приводит к уменьшению крутизны «длина-пассивная сила», а также снижению величин активного напряжения кардиомиоцита и многоклеточных препаратов миокарда при их механическом нагружении. Пароксизмальная ФП в механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП приводит к уменьшению амплитуды укорочения и скорости расслабления саркомеров, а также более выраженным альтернансам амплитуды укорочения саркомеров, но не оказывает влияния на процессы силогенерации в условиях механического нагружения кардиомиоцита.

Таким образом, в результате работы было установлено влияние механического нагружения на развитие сократительной дисфункции ЛП и ПП. В отсутствие механической нагрузки (при оценке сократимости миокарда *per se* на клеточном уровне организации миокарда) пароксизмальная ФП ведёт к более выраженной дисфункции саркомеров в ЛП. В условиях механического нагружения ПП становится наиболее уязвимой камерой к ФП.

На основании результатов исследования и литературных данных выдвинуты следующие предположения о камероспецифичных особенностях механизмов патологического ремоделирования предсердий при ФП. В результате увеличения продукции АФК в кардиомиоцитах ЛП при пароксизмальной ФП происходят посттрансляционные модификации белков кардиомиоцитов, что нарушает их функцию. Снижение числа саркомеров, гипофосфорилирование сМуВР-С и TnI в ЛП приводит к выраженным изменениям в динамике саркомеров: уменьшению амплитуды и максимальной скорости расслабления, а также к более выраженным альтернансам сокращения саркомеров в механически ненагруженных кардиомиоцитах. Сохранение величин активного напряжения механически нагруженных кардиомиоцитов и многоклеточных препаратов ЛП при пароксизмальной ФП может объясняться камероспецифичным влиянием механической нагрузки на сократительную функцию предсердий. Увеличение содержания коллагена в ЛП, несмотря на уменьшение числа саркомеров, обеспечивает сохранение значений пассивной жесткости при пароксизмальной ФП на уровне контрольных значений.

Напротив, в ПП при пароксизмальной ФП отмечается снижение коэффициента крутизны кривой «длина-пассивная сила», что говорит об увеличении податливости мышцы. В связи с тем, что содержание коллагена не изменилось, можно объяснить этот результат участием титина. В данном исследовании не оценивались уровни экспрессии и степень фосфорилирования титина, эффект его гиперфосфорилирования описан в литературе и, вероятнее всего, именно за счёт него отмечается снижение пассивного напряжения и увеличение чувствительности длинозависимой регуляции активной силы в ПП. Увеличение степени фосфорилирования RLC в ПП может способствовать поддержанию значений амплитуды укорочения саркомеров, сравнимыми со значениями контрольной группы кардиомиоцитов ПП. Уменьшение числа саркомеров и увеличение продукции АФК на фоне повышенной чувствительности к механической нагрузке может объяснять снижение силы при ФП на уровне одиночной клетки. В многоклеточном препарате, взаимодействие нескольких кардиомиоцитов в условиях их активации при механическом нагружении, позволяют сохранить величины активных напряжений вблизи контрольных значений.

Таким образом, пароксизмальная ФП приводит к нарушению исходного паттерна сократительной функции между предсердиями, характерного для здорового сердца, что может создавать дополнительный субстрат прогрессирования ФП в виде рассинхронизации работы предсердных камер в ходе сердечного цикла.

ВЫВОДЫ

Результаты проведённого исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Установлена однородность параметров сократительной активности одиночных кардиомиоцитов и многоклеточных препаратов миокарда и неоднородность пассивных свойств миокарда ЛП и ПП крыс в норме. В многоклеточных препаратах миокарда ПП величина жёсткости выше, чем в ЛП, что характеризуется большей крутизной зависимости «длина- пассивная сила».

2. Пароксизмальная ФП приводит к нарушению сократительной функции миокарда обоих предсердий и к появлению межпредсердных различий в характеристиках сократительной функции на клеточном уровне организации миокарда.

3. Выраженность и камероспецифичность нарушений при пароксизмальной ФП зависят от приложенной механической нагрузки:

3.1. В механически ненагруженных кардиомиоцитах ЛП пароксизмальная ФП сопровождается уменьшением амплитуды укорочения и скорости расслабления саркомеров, а также большим числом и амплитудой альтернансов укорочения саркомеров по сравнению с кардиомиоцитами ПП.

3.2. В механически нагруженных кардиомиоцитах пароксизмальная ФП приводит к снижению амплитуды механического напряжения и скорости расслабления в ПП, а амплитуда напряжения кардиомиоцитов ЛП не меняется.

3.3. Пароксизмальная ФП сопровождается увеличением наклона зависимости «длина-активная сила» в миокарде обоих предсердий. При этом в ПП происходит уменьшение коэффициента наклона кривой «длина-пассивное напряжение» и снижение амплитуды активного напряжения в диапазоне больших растяжений миокарда.

4. Механизмы развития дисфункции миокарда ЛП и ПП при пароксизмальной ФП являются камероспецифичными.

4.1. Дисфункция саркомеров в миокарде ЛП обусловлена увеличением продукции АФК, уменьшением числа саркомеров и снижением степени фосфорилирования сMyBP-C и TnI. Увеличение степени фосфорилирования RLC в миокарде ПП может вносить свой вклад в увеличение скорости сокращения саркомеров и поддержание их сократимости при пароксизмальной ФП. Снижение амплитуды напряжения одиночных кардиомиоцитов ПП при пароксизмальной ФП обусловлено увеличением продукции АФК и уменьшением числа саркомеров.

4.2. Увеличение содержания коллагена в ЛП, несмотря на уменьшение числа саркомеров, может вносить вклад в поддержание значений пассивной жесткости миокарда при ФП на уровне контрольных значений

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активные формы кислорода

[АФК]_i – внутриклеточная концентрация активных форм кислорода

АЦХ – ацетилхолин

АЦХСI – ацетилхолина хлорид

в/в – внутривенный

ВДП_c – время достижения пика укорочения саркомера

ВДП_{Ca} – время достижения пика концентрации цитозольного кальция

ВДП_F – время достижения пика силы сокращения кардиомиоцита/мышцы

ВДР₅₀ – время достижения 50% расслабления саркомера/мышцы

ВДС₅₀ – время достижения 50% спада концентрации цитозольного кальция

ВНС – вегетативная нервная система К – контрольная группа

КДДС – конечно-диастолическая длина саркомера

ЛП – левое предсердие

M₂ – мускариновые рецепторы 2 типа

ПД – потенциал действия

ПП – правое предсердие

СР – саркоплазматический ретикулум

СР [Ca²⁺]_i – концентрация ионов кальция в саркоплазматическом ретикулуме

ФП – фибрилляция предсердий

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

Ca²⁺ – ионы кальция

[Ca²⁺]_i – концентрация цитозольного кальция

CaCl_2 – хлорид кальция

CaMK II – кальций/кальмодулин зависимая протеинкиназа II

cMyBP-C – сердечный миозин-связывающий белок C

eNOS – эндотелиальная NO-синтаза

F/F_0 – флюоресцентный сигнал изменения концентрации цитозольного кальция

F_A – активная сила сокращения мышечного препарата

F_P – пассивная компонента силы сокращения мышечного препарата

I_{CaL} – входящий кальциевый ток через каналы L-типа

$I_{\text{Cl,swell}}$ – механо-чувствительный к сжатию кардиомиоцита ток ионов хлора

I_f – активируемый гиперполяризацией «забавный» («funny») ток

I_{K1} – диастолический выходящий K^+ -ток внутреннего выпрямления

I_{KAch} – ацетилхолин-зависимый калиевый ток внутреннего выпрямления

I_{KH} – конститутивная форма ацетилхолин-зависимого калиевого тока внутреннего выпрямления

I_{Kr} – быстрый («rapid») компонент K^+ -ток задержанного выпрямления

I_{Ks} – медленный («slow») компонент K^+ -ток задержанного выпрямления

I_{Kss} – стационарный («steady-state») ток ионов K^+

I_{Kur} – сверхбыстрый компонент K^+ -тока задержанного выпрямления

I_{Na} – деполяризующий натриевый ток

$I_{\text{NSC,stretch}}$ – механо-чувствительный к растяжению кардиомиоцита неселективный катионный ток

$I_{\text{NSC,swell}}$ – механо-чувствительный к сжатию кардиомиоцита неселективный катионный ток

I_{ti} – аритмогенный кратковременный входящий ток через Na^+ - Ca^{2+} -обменник

I_{to} – кратковременный реполяризующий выходящий ток ионов K^+

K^+ – ионы калия

L – длина мышечного препарата предсердий

L/L_{MAX} – коэффициент деформации мышечного препарата предсердий, определяющий величину диастолического растяжения

L_0 – длина мышцы, соответствующая минимальным значениям активной и пассивной сил при выбранных внешних условиях

L_{MAX} – длина мышцы, соответствующая максимальным значениям активной силы при выбранных внешних условиях

miR – микроРНК

NCX – Na^+ - Ca^{2+} -обменник

NO – оксид азота

$[\text{NO}]_i$ – внутриклеточная концентрация оксида азота

NOX2 – НАДФН-оксидаза 2 типа

nNOS – нейрональная NO-синтаза

PKA – протеинкиназа A

PKC – протеинкиназа C

PCG – протеинкиназа G

RLC – регуляторные лёгкие цепи миозина

SERCA2a – кальциевая АТФ-аза саркоплазматического ретикулума

T_a – активное напряжение сокращения мышечного препарата

T_p – пассивное напряжение (жесткость) мышечного препарата

TnI – тропонин I

TnT – тропонин T

Tpm – тропомиозин

$V_{\text{др}}$ – скорость достижения расслабления кардиомиоцита

$V_{\text{дп}}$ – скорость достижения пика укорочения саркомера / силы сокращения кардиомиоцита

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаева А.А., Арипова Н.Р., Злобина П.Д., Харлап М.С., Давтян К.В. Определение роли лабораторных маркеров в прогнозировании эффективности катетерного лечения фибрилляции предсердий: обзор литературы // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2024. – Т. 38, №. 4. – pp. 40–45.
2. Аракелян М.Г., Бокерия Л.А., Васильева Е.Ю., Голицын С.П., Голухова Е.З., Горев М.В., Давтян К.В., Драпкина О.М., Кропачева Е.С., Кучинская Е.А., Лайович Л.Ю., Миронов Н.Ю., Мишина И.Е., Панченко Е.П., Ревешвили А.Ш., Рзаев Ф.Г., Татарский Б.А., Уцумуева М.Д., Шахматова О.О., Шлевков Н.Б., Шпектор А.В., Андреев Д.А., Артюхина Е.А., Барбараш О.Л., Галявич А.С., Дупляков Д.В., Зенин С.А., Лебедев Д.С., Михайлов Е.Н., Новикова Н.А., Попов С.В., Филатов А.Г., Шляхто Е.В., Шубик Ю.В. Фибрилляция и трепетание предсердий. Клинические рекомендации 2020 // Российский кардиологический журнал. – 2021. – №. 7. – pp. 190–260.
3. Божко Я.Г., Архипов М.В., Молодых С.В. Особенности ведения пациентов с дисфункцией синусового узла неишемического генеза: в фокусе синдром тахи-брадикардии // Уральский медицинский журнал. – 2019. – Т. 172, № 4.
4. Германова О.А., Германов А.В., Степанов М.Ю., Германов В.А. Кардиоцеребральные осложнения: прогнозирование на основе дополнительных ЭКГ-признаков фибрилляции предсердий // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – №. 6. – pp. 152–152.
5. Кобалава Ж.Д., Кохан Е.В., Киякбаев Г.К., Шаваров А.А. Фибрилляция предсердий и артериальная гипертония: гендерные особенности желудочково-предсердного ремоделирования при сохраненной фракции выброса левого желудочка // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2017. – Т. 13, №. 4. – pp. 541–549.
6. Мареев Ю.В., Поляков Д.С., Виноградова Н.Г., Фомин И.В., Мареев В.Ю., Беленков Ю.Н., Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Артемьева Е.Г., Бадин Ю.В., Бакулина Е.В., Галявич А.С., Ионова Т.С., Камалов Г.М., Кечеджиева С.Г., Козиолова Н.А., Маленкова В.Ю., Мальчикова С.В., Смирнова Е.А., Тарловская Е.И., Щербинина Е.В., Якушин С.С. ЭПОХА: Эпидемиология фибрилляции предсердий в репрезентативной выборке Европейской части Российской Федерации // Кардиология. – 2022. – Т. 62, №. 4. – pp. 12–19.

7. Митрофанова Л.Б., Пацюк А.В., Коновалов П.В., Лебедев Д.С., Михайлов Е.Н. Половые различия в ремоделировании предсердий и их интрамуральной иннервации при структурных заболеваниях сердца // Российский кардиологический журнал. – 2017. – V. 12, №. 152. – pp. 79–83.
8. Попова Е.П., Богова О.Т., Пузин С.Н., Фисенко В.П. Значение вегетативной нервной системы в патогенезе фибрилляции предсердий // Российский кардиологический журнал. – 2020. – №. 7. – pp. 187–193.
9. Ревишвили А.Ш., Сулимов В.А. Фибрилляция и трепетание предсердий (практическое руководство) // Кардиология: Новости. Мнения. Обучение. – 2022. – Т. 10, №. 4 (31). – С. 62–79.
10. Соловьева О.Э., Кацнельсон Л.Б., Коновалов П.В., Мархасин В.С. Математическое моделирование электрических и механических явлений в миокарде // Современные проблемы биомеханики. – 2006. – V. 11. – pp. 131–151.
11. Татарский Б.А., Напалков Д.А. Фибрилляция предсердий: маркер или фактор риска развития инсульта // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2023. – Т. 19, №. 1. – С. 83–88.
12. Терещенко С.Н., Галявич А.С., Ускач Т.М., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Беграмбекова Ю.Л., Беленков Ю.Н., Бойцов С.А., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А., Гендлин Г.Е., Гиляревский С.Р., Глезер М.Г., Готье С.В., Гупало Е.М., Довженко Т.В., Драпкина О.М., Дупляков Д.В., Жиров И.В., Затейщиков Д.А., Кобалава Ж.Д., Козиолова Н.А., Коротеев А.В., Либис Р.А., Лопатин Ю.М., Мареев В.Ю., Мареев Ю.В., Мацкеплишвили С.Т., Насонова С.Н., Нарусов О.Ю., Недошивин А.О., Овчинников А.Г., Орлова Я.А., Перепеч Н.Б., Самко А.Н., Саидова М.А., Сафиуллина А.А., Ситникова М.Ю., Скворцов А.А., Скибицкий В.В., Стукалова О.В., Тарловская Е.И., Терещенко А.С., Чесникова А.И., Фомин И.В., Шевченко А.О., Шапошник И.И., Шария М.А., Шляхто Е.В., Явелов И.С. Якушин С.С. Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2020 // Российский кардиологический журнал. – 2020. – №. 11. – pp. 311–374.
13. Хорькова Н.Ю., Гизатулина Т.П., Белокурова А.В., Горбатенко Е.А., Криночкин Д.В. Дополнительные факторы тромбообразования ушка левого предсердия при неклапанной фибрилляции предсердий // Вестник аритмологии. – 2020. – Т. 27, №. 2. – pp. 26–32.

14. Шапкина М.Ю., Маздорова Е.В., Авдеева Е.М., Щербакова Л.В., Рябиков А.Н., Малютин С.К. Динамика частоты фибрилляции предсердий в российской популяционной выборке за 13 лет наблюдения // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2022. – Т. 21, №. 8. – pp. 23–33.
15. Шевченко Ю.Л., Башилов С.А., Свешников А.В., Воробьев А.С., Гудымович В.Г., Броннов О.Ю. Изоляция легочных вен с использованием радиочастотной (CLOSE-ПРОТОКОЛ) и криобаллонной абляции у пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. НИ Пирогова. – 2019. – Т. 14, №. 3. – pp. 13–21.
16. Яшин С.М., Шубик Ю.В. Атриопатия и фибрилляция предсердий. Часть I // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2022. – Т. 17, №. 4. – pp. 254–271.
17. Ackers-Johnson M., Li P.Y., Holmes A.P., O'Brien S.M., Pavlovic D., Foo R.S. A simplified, Langendorff-free method for concomitant isolation of viable cardiac myocytes and nonmyocytes from the adult mouse heart // Circulation research. – 2016. – V. 119, №. 8. – pp. 909–920.
18. Adam O., Löhlfelm B., Thum T., Gupta S.K., Puhl S.L., Schäfers H.J., Böhm M., Laufs U. Role of miR-21 in the pathogenesis of atrial fibrosis // Basic research in cardiology. – 2012. – V. 107. – pp. 1–12.
19. Ait-Mou Y., Hsu K., Farman G. P., Kumar M., Greaser M. L., Irving T. C., De Tombe P. P. Titin strain contributes to the Frank–Starling law of the heart by structural rearrangements of both thin-and thick-filament proteins // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2016. – V. 113, №. 8. – pp. 2306–2311.
20. Ambrosi D., Arioli G., Nobile F., Quarteroni A. Electromechanical coupling in cardiac dynamics: the active strain approach // SIAM Journal on Applied Mathematics. – 2011. – V. 71, №. 2. – pp. 605–621.
21. Anné W., Willems R., Holemans P., Beckers F., Roskams T., Lenaerts I., Ector H., Heidebüchel H. Self-terminating AF depends on electrical remodeling while persistent AF depends on additional structural changes in a rapid atrially paced sheep model // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2007. – V. 43, №. 2. – pp. 148–158.

22. Anwar A.M., Geleijnse M.L., Soliman O.I., Nemes A., ten Cate F.J. Left atrial Frank Starling law assessed by real-time three-dimensional echocardiographic left atrial volume changes // *Heart*. – 2007. – V. 93, №. 11. – pp. 1393–1397.
23. Arora R., Aistrup G. L., Supple S., Frank C., Singh J., Tai S., Zhao A., Chicos L., Marszalec W., Guo A., Song L.-S., Wasserstrom J. A. Regional distribution of T-tubule density in left and right atria in dogs // *Heart Rhythm*. – 2017. – V. 14, №. 2. – pp. 273–281.
24. Arora R., Verheule S., Scott L., Navarrete A., Katari V., Wilson E., Vaz. D, Olgin J.E. Arrhythmogenic substrate of the pulmonary veins assessed by high-resolution optical mapping // *Circulation*. – 2003. – V. 107, №. 13. – pp. 1816–1821.
25. Babu G.J., Bhupathy P., Carnes C.A., Billman G.E., Periasamy M. Differential expression of sarcolipin protein during muscle development and cardiac pathophysiology // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2007. – V. 43, №. 2. – pp. 215–222.
26. Bai X., Wang K., Boyett M.R., Hancox J.C., Zhang H. The functional role of hyperpolarization activated current (I_f) on cardiac pacemaking in human vs. in the rabbit sinoatrial node: A simulation and theoretical study // *Frontiers in Physiology*. – 2021. – V. 12. – pp. 582037.
27. Bayer J.D., Boukens B.J., Krul S.P., Roney C.H., Driessen A.H., Berger W.R., van den Berg N.W.E., Verkerk A.O., Vigmond E.J., Coronel R., De Groot J.R. Acetylcholine delays atrial activation to facilitate atrial fibrillation // *Frontiers in physiology*. – 2019. – V. 10. – pp. 1105.
28. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2011. – V. 50, №. 6. – pp. 940–950.
29. Bers D.M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes // *Annual review of physiology* – 2008. – V. 70. – pp. 23–49.
30. Bode F., Katchman A., Woosley R.L., Franz M.R. Gadolinium decreases stretch-induced vulnerability to atrial fibrillation // *Circulation*. – 2000. – V. 101., №. 18. – pp. 2200–2205.
31. Boknik P., Unkel C., Kirchhefer U., Kleideiter U., Klein-Wiele O., Knapp J., Linck B., Lüss H., Müller F. U., Schmitz W. Regional expression of phospholamban in the human heart // *Cardiovascular research*. – 1999. – V. 43, №. 1. – pp. 67–76.

32. Bond R.C., Choisy S.C., Bryant S.M., Hancox J.C., James A.F. Ion currents, action potentials, and noradrenergic responses in rat pulmonary vein and left atrial cardiomyocytes // *Physiological Reports*. – 2020. – V. 8, №. 9. – pp. e14432.
33. Bonilla I.M., Sridhar A., Gyorke S., Cardounel A.J., Carnes C.A. Nitric oxide synthases and atrial fibrillation // *Frontiers in physiology*. – 2012. – V. 3. – pp. 105.
34. Bredeloux P., Pasqualin C., Bordy R., Maupoil V., Findlay I. Automatic activity arising in cardiac muscle sleeves of the pulmonary vein // *Biomolecules*. – 2021. – V. 12, №. 1. – pp. 23.
35. Buhl R., Hesselkilde E.M., Carstensen H., Hopster-Iversen C., van Loon G., Decloedt A., Steenkiste G.V., Marr C.M., Reef V.B., Schwarzwald C.C., Mitchell K.J., Nostell K., Nogradi N., Nielsen S.S., Carlson J., Platonov P.G. Atrial fibrillatory rate as predictor of recurrence of atrial fibrillation in horses treated medically or with electrical cardioversion // *Equine Veterinary Journal*. – 2022. – V. 54., №. 6. – pp. 1013–1022.
36. Butova X.A., Myachina T.A., Khokhlova A.D. A combined Langendorff-injection technique for simultaneous isolation of single cardiomyocytes from atria and ventricles of the rat heart // *MethodsX*. – 2021. – V. 8. – pp. 101189.
37. Caballero R., de la Fuente M.G., Gómez R., Barana A., Amorós I., Dolz-Gaitón P., Osuna L., Almendral J., Atienza F., Fernández-Avilés F., Pita A., Rodríguez-Roda J., Pinto A., Tamargo J., Delpón E. In humans, chronic atrial fibrillation decreases the transient outward current and ultrarapid component of the delayed rectifier current differentially on each atria and increases the slow component of the delayed rectifier current in both // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2010. – V. 55, №. 21. – C. 2346-2354.
38. Cai H., Li Z., Goette A., Mera F., Honeycutt C., Feterik K., Wilcox J.N., Dudley Jr S.C., Harrison D. G., Langberg J. J. Downregulation of endocardial nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in atrial fibrillation: potential mechanisms for atrial thrombosis and stroke // *Circulation*. – 2002. – V. 106, №. 22. – pp. 2854–2858.
39. Campbell K.S., Janssen P.M.L., Campbell S.G. Force-dependent recruitment from the myosin off state contributes to length-dependent activation // *Biophysical journal*. – 2018. – V. 115, №. 3. – pp. 543–553.
40. Cangemi R., Calvieri C., Taliani G., Pignatelli P., Morelli S., Falcone M., Pastori D., Violi F., on behalf of the SIXTUS study group. Left atrium dilatation and left ventricular

hypertrophy predispose to atrial fibrillation in patients with community-acquired pneumonia // *The American Journal of Cardiology*. – 2019. – V. 124, №. 5. – pp. 723–728.

41. Carpenter A., Frontera A., Bond R., Duncan E., Thomas G. Vagal atrial fibrillation: What is it and should we treat it? // *International journal of cardiology*. – 2015. – V. 201. – pp. 415–421.

42. Cawley S.M., Kolodziej S., Ichinose F., Brouckaert P., Buys E.S., Bloch K.D. sGC α 1 mediates the negative inotropic effects of NO in cardiac myocytes independent of changes in calcium handling // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2011. – V. 301, №. 1. – pp. H157–H163.

43. Cha T.J., Ehrlich J.R., Zhang L., Chartier D., Leung T.K., Nattel S. Atrial tachycardia remodeling of pulmonary vein cardiomyocytes: comparison with left atrium and potential relation to arrhythmogenesis // *Circulation*. – 2005. – V. 111, №. 6. – pp. 728–735.

44. Chang S.L., Chen Y.C., Chen Y.J., Wangcharoen W., Lee S.H., Lin C.I., Chen S.A. Mechanoelectrical feedback regulates the arrhythmogenic activity of pulmonary veins // *Heart*. – 2007– V. 91, №. 1. – pp. 82–88.

45. Chen H., Zhang F., Zhang Y.L., Yang X.C. Relationship between circulating miRNA-21, atrial fibrosis, and atrial fibrillation in patients with atrial enlargement // *Annals of Palliative Medicine*. – 2021. – V. 10, №. 12. – pp. 127422749-127412749.

46. Chen P.S., Chen L.S., Fishbein M.C., Lin S.F., Nattel S. Role of the autonomic nervous system in atrial fibrillation: pathophysiology and therapy // *Circulation research*. – 2014. – V. 114, №. 9. – pp. 1500–1515.

47. Chen Y.J., Chen S.A., Chen Y.C., Yeh H.I., Chan P., Chang M.S., Lin C.I. Effects of rapid atrial pacing on the arrhythmogenic activity of single cardiomyocytes from pulmonary veins: implication in initiation of atrial fibrillation // *Circulation*. – 2001. – V. 104, №. 23. – pp. 2849–2854.

48. Choisy S.C.M., Arberry L.A., Hancox J.C., James A.F. Increased susceptibility to atrial tachyarrhythmia in spontaneously hypertensive rat hearts // *Hypertension*. – 2007. – V. 49, №. 3. – pp. 498–505.

49. Cingolani H.E., Pérez N.G., Cingolani O.H., Ennis I.L. The Anrep effect: 100 years later // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2013. – V. 304, №. 2. – pp. H175–H182.

50. Cizauskas H., Burnham H., Panni A., Pena A., Alvarez-Arce A., Davis M.T., Araujo K.N., Delligatti C., Edassery S., Kirk J.A., Arora R., Barefield D. Proteolytic degradation of atrial sarcomere proteins underlies contractile defects in atrial fibrillation // *bioRxiv*. – 2023. – pp. 2023.11. 05.565691.
51. Coisne A., Pilato R., Brigadeau F., Klug D., Marquie C., Souissi Z., Richardson M., Mouton S., Polge A.-S., Lancellotti P., Lacroix D., Montaigne D, Montaigne D. Percutaneous left atrial appendage closure improves left atrial mechanical function through Frank–Starling mechanism // *Heart Rhythm*. – 2017. – V. 14, №. 5. – pp. 710–716.
52. Cotton J.M., Kearney M.T., MacCarthy P.A., Grocott-Mason R.M., McClean D.R., Heymes C., Richardson P.J., Shah A.M. Effects of nitric oxide synthase inhibition on basal function and the force-frequency relationship in the normal and failing human heart in vivo // *Circulation*. – 2001. – V. 104, №. 19. – pp. 2318–2323.
53. Coutu P., Chartier D., Nattel S. Comparison of Ca²⁺-handling properties of canine pulmonary vein and left atrial cardiomyocytes // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2006. – V. 291, №. 5. – pp. H2290–H2300.
54. Cove C.L., Albert C.M., Andreotti F., Badimon L., Van Gelder I.C., Hylek E.M. Female sex as an independent risk factor for stroke in atrial fibrillation: possible mechanisms // *Thrombosis and haemostasis*. – 2014. – V. 112, №. 03. – pp. 385–391.
55. Cunha S.R., Hund T.J., Hashemi S., Voigt N., Li N., Wright P., Koval O., Li J., Gudmundsson H., Gumina R.J., Karck M., Schott J.-J., Probst V., Marec H.L., Anderson M.E., Dobrev D., Wehrens X.H.T., Mohler P.J. Defects in ankyrin-based membrane protein targeting pathways underlie atrial fibrillation // *Circulation*. – 2011. – V. 124, №. 11. – pp. 1212–1222.
56. D’Ascenzi F., Pelliccia A., Natali B. M., Zacà V., Cameli M., Alvino F., Malandrino A., Palmitesta P., Zorzi A., Corrado D., Bonifazi M, Mondillo S. Morphological and functional adaptation of left and right atria induced by training in highly trained female athletes // *Circulation: Cardiovascular Imaging*. – 2014. – V. 7, №. 2. – pp. 222–229.
57. Davis M.E., Cai H., Drummond G.R., Harrison D.G. Shear stress regulates endothelial nitric oxide synthase expression through c-Src by divergent signaling pathways // *Circulation research*. – 2001. – V. 89, №. 11. – pp. 1073–1080.
58. Davis M.E., Grumbach I.M., Fukai T., Cutchins A., Harrison D.G. Shear stress regulates endothelial nitric-oxide synthase promoter activity through nuclear factor κ B binding // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – V. 279, №. 1. – pp. 163–168.

59. de Tombe P.P., ter Keurs H.E.D.J. Cardiac muscle mechanics: sarcomere length matters // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2016. – V. 91. – pp. 148.
60. Davis 3rd C.A., Rembert J.C., Greenfield Jr J.C. Compliance of left atrium with and without left atrium appendage // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 1990. – V. 259, №. 4. – pp. H1006–H1008.
61. Dianat M., Amini N., Badavi M., Farbood Y. Ellagic acid improved arrhythmias induced by CaCl₂ in the rat stress model // *Avicenna Journal of Phytomedicine*. – 2015. – V. 5, №. 2. – pp. 120.
62. Dobrev D., Dudley Jr S.C. Oxidative stress: a bystander or a causal contributor to atrial remodelling and fibrillation? // *Cardiovascular Research*. – 2021. – V. 117, №. 11. – pp. 2291–2293.
63. Dobrev D., Friedrich A., Voigt N., Jost N., Wettwer E., Christ T., Knaut M., Ravens U. The G protein-gated potassium current I_{K, ACh} is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation // *Circulation*. – 2005. – V. 112, №. 24. – pp. 3697–3706.
64. Dudley Jr S.C., Hoch N.E., McCann L.A., Honeycutt C., Diamandopoulos L., Fukai T., Harrison D.G., Dikalov S.I., Langberg J. Atrial fibrillation increases production of superoxide by the left atrium and left atrial appendage: role of the NADPH and xanthine oxidases // *Circulation*. – 2005. – V. 112, №. 9. – pp. 1266–1273.
65. Ehrlich J.R., Cha T.J., Zhang L., Chartier D., Melnyk P., Hohnloser S.H., Nattel S. Cellular electrophysiology of canine pulmonary vein cardiomyocytes: action potential and ionic current properties // *The Journal of physiology*. – 2003. – V. 551, №. 3. – pp. 801–813.
66. Eijsbouts S.C.M., Majidi M., Zandvoort M.V., Allessie M.A. Effects of acute atrial dilation on heterogeneity in conduction in the isolated rabbit heart // *Journal of cardiovascular electrophysiology*. – 2003. – V. 14, №. 3. – pp. 269–278.
67. Egorov Y.V., Lang D., Tyan L., Turner D., Lim E., Piro Z.D., Hernandez J.J., Lodin R., Wang R., Schmuck E.G., Raval A.N., Ralphe C.J., Kamp T.J., Rosenshtraukh L.V., Glukhov A.V. Caveolae-Mediated Activation of Mechanosensitive Chloride Channels in Pulmonary Veins Triggers Atrial Arrhythmogenesis // *Journal of the American Heart Association*. – 2019. – V. 8, №. 20. – pp. e012748.
68. Egorov Y.V., Turner D.G., Schrauth T.A., Bamlett J.T., Medvedev R.Y., Glukhov A.V. Mechano-induced atrial conduction slowing is mediated by activation of caveolar I_{Cl}, swell

and augmented during chronic hypertension promoting atrial arrhythmogenesis // *Biophysical Journal*. – 2024. – V. 123, №. 3. – pp. 243a.

69. Elliott A.D., Middeldorp M.E., Van Gelder I.C., Albert C.M., Sanders P. Epidemiology and modifiable risk factors for atrial fibrillation // *Nature Reviews Cardiology*. – 2023. – pp. 1–14.

70. Fakuade F.E., Steckmeister V., Seibertz F., Gronwald J., Kestel S., Menzel J., Pronto J.R.D., Taha K., Haghighi F., Kensah G., Pearman C.M., Wiedmann F., Teske A.J., Schmidt C., Dibb K.M., El-Essawi A., Danner B.C., Baraki H., Schwappach B., Kutschka I., Mason F.E., Voigt N. Altered atrial cytosolic calcium handling contributes to the development of postoperative atrial fibrillation // *Cardiovascular research*. – 2021. – V. 117, №. 7. – pp. 1790–1801.

71. Filgueiras-Rama D., Price N.F., Martins R.P., Yamazaki M., Avula U.M.R., Kaur K., Kalifa J., Ennis S.R., Hwang E., Devabhaktuni V., Jalife J., Berenfeld O. Long-term frequency gradients during persistent atrial fibrillation in sheep are associated with stable sources in the left atrium // *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. – 2012. – V. 5, №. 6. – pp. 1160–1167.

72. Fong S.P.T., Agrawal S., Gong M., Zhao J. Modulated calcium homeostasis and release events under atrial fibrillation and its risk factors: a meta-analysis // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2021. – V. 8. – pp. 662914.

73. Fortuna R., Groeber M., Seiberl W., Power G. A., Herzog W. Shortening-induced force depression is modulated in a time-and speed-dependent manner following a stretch–shortening cycle // *Physiological reports*. – 2017. – V. 5, №. 12. – pp. e13279.

74. Frederiksen T.C., Dahm C.C., Preis S.R., Lin H., Trinquart L., Benjamin E.J., Kornej J. The bidirectional association between atrial fibrillation and myocardial infarction // *Nature Reviews Cardiology*. – 2023. – pp. 1–14.

75. Freedman J.E., Loscalzo J., Barnard M.R., Alpert C., Keaney J.F., Michelson A.D. Nitric oxide released from activated platelets inhibits platelet recruitment // *The Journal of clinical investigation*. – 1997. – V. 100, №. 2. – pp. 350–356.

76. Friedrichs K., Baldus S., Klinker A. Fibrosis in atrial fibrillation–role of reactive species and MPO // *Frontiers in physiology*. – 2012. – V. 3. – pp. 214.

77. Fu Y., Jiang T., Sun H., Li T., Gao F., Fan B., Li X., Qin X., Zheng Q. Necroptosis is required for atrial fibrillation and involved in aerobic exercise-conferred cardioprotection // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2021. – V. 25, №. 17. – pp. 8363–8375.
78. Gandoy-Fieiras N., Gonzalez-Juanatey J. R., Eiras S. Myocardium metabolism in physiological and pathophysiological states: implications of epicardial adipose tissue and potential therapeutic targets // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – V. 21, №. 7. – pp. 2641.
79. Gkaliagkousi E., Ferro A. Nitric oxide signalling in the regulation of cardiovascular and platelet function // *Front Biosci*. – 2011. – V. 16, №. 1. – pp. 1873–1897.
80. Gottlieb L.A., Coronel R., Dekker L.R.C. Reduction in atrial and pulmonary vein stretch as a therapeutic target for prevention of atrial fibrillation // *Heart rhythm*. – 2023. – V. 20, №. 2. – pp. 291–298.
81. Guerra J.M., Everett IV T.H., Lee K.W., Wilson E., Olgin J.E. Effects of the gap junction modifier rotigaptide (ZP123) on atrial conduction and vulnerability to atrial fibrillation // *Circulation*. – 2006. – V. 114, №. 2. – pp. 110–118.
82. Gutierrez D.A., Fernandez-Tenorio M., Ogrodnik J., Niggli E. NO-dependent CaMKII activation during β -adrenergic stimulation of cardiac muscle // *Cardiovascular research*. – 2013. – V. 100, №. 3. – pp. 392–401.
83. Haissaguerre M., Jaïs P., Shah D. C., Takahashi A., Hocini M., Quiniou G., Garrigue S., Le Mouroux A., Le Métayer P., Clémenty J. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins // *New England Journal of Medicine*. – 1998. – V. 339, №. 10. – pp. 659–666.
84. Hamlin R.L., Smith C.R. Effects of vagal stimulation on SA and AV nodes // *American Journal of Physiology-Legacy Content*. – 1968. – V. 215, №. 3. – pp. 560–568.
85. Haugan K., Lam H.R., Knudsen C.B., Petersen J.S. Atrial fibrillation in rats induced by rapid transesophageal atrial pacing during brief episodes of asphyxia: a new in vivo model // *Journal of cardiovascular pharmacology*. – 2004. – V. 44, №. 1. – pp. 125–135.
86. Hazarika S., Farber C.R., Dokun A.O., Pitsillides A.N., Wang T., Lye R.J., Annex B.H. MicroRNA-93 controls perfusion recovery after hindlimb ischemia by modulating expression of multiple genes in the cell cycle pathway // *Circulation*. – 2013. – V. 127. – pp. 1818–1828.

87. Henry A.D., MacQuaide N., Burton F.L., Rankin A.C., Rowan E.G., Drummond R. M. Spontaneous Ca^{2+} transients in rat pulmonary vein cardiomyocytes are increased in frequency and become more synchronous following electrical stimulation // *Cell Calcium*. – 2018. – V. 76. – pp. 36–47.
88. Herum K.M., Lunde I.G., McCulloch A.D., Christensen G. The soft-and hard-heartedness of cardiac fibroblasts: mechanotransduction signaling pathways in fibrosis of the heart // *Journal of clinical medicine*. – 2017. – V. 6, №. 5. – pp. 53.
89. Hindricks G., Potpara T., Dagres N., Arbelo E., Bax J.J., Blomstro C., Touyz R.M. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) // *European heart journal*. – 2020. – V. 00. – pp.1–126.
90. Hiram R., Naud P., Xiong F., Al-u'datt D.A., Algalarrondo V., Sirois M.G., Tanguay J.-F., Tardif J.-C., Nattel S. Right atrial mechanisms of atrial fibrillation in a rat model of right heart disease // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – V. 74., №. 10. – pp. 1332–1347.
91. Hirose M., Leatmanoratr Z., Laurita K.R., Carlson M.D. Partial vagal denervation increases vulnerability to vagally induced atrial fibrillation // *Journal of cardiovascular electrophysiology*. – 2002. – V. 13, №. 12. – pp. 1272–1279.
92. Huang C.X., Zhao Q.Y., Liang J.J., Chen H., Yang B., Jiang H., Li G.S. Differential densities of muscarinic acetylcholine receptor and $\text{I}_{\text{K, ACh}}$ in canine supraventricular tissues and the effect of amiodarone on cholinergic atrial fibrillation and $\text{I}_{\text{K, ACh}}$ // *Cardiology*. – 2006. – V. 106, №. 1. – pp. 36–43.
93. Huang K., Trinder M., Roston T.M., Laksman Z.W., Brunham L. R. The interplay between titin, polygenic risk, and modifiable cardiovascular risk factors in atrial fibrillation // *Canadian Journal of Cardiology*. – 2021. – V. 37, №. 6. – pp. 848–856.
94. Hudson B., Hidalgo C., Saripalli C., Granzier H. Hyperphosphorylation of mouse cardiac titin contributes to transverse aortic constriction-induced diastolic dysfunction // *Circulation research*. – 2011. – V. 109, №. 8. – pp. 858–866.
95. Iribe G., Kaneko T., Yamaguchi Y., Naruse K. Load dependency in force–length relations in isolated single cardiomyocytes // *Progress in biophysics and molecular biology*. – 2014. – V. 115, №. 2–3. – pp. 103–114.

96. Ishikawa K., Watanabe S., Lee P., Akar F. G., Lee A., Bikou O., Fish K., Kho C., Hajjar R. J. Acute left ventricular unloading reduces atrial stretch and inhibits atrial arrhythmias // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – V. 72, №. 7. – pp. 738–750.
97. Janssen P.M.L. Myocardial contraction-relaxation coupling // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2010. – V. 299, №. 6. – pp. H1741–H1749.
98. Jayachandran J.V., Sih H.J., Winkle W., Zipes D.P., Hutchins G.D., Olgin J.E. Atrial fibrillation produced by prolonged rapid atrial pacing is associated with heterogeneous changes in atrial sympathetic innervation // *Circulation*. – 2000. – V. 101, №. 10. – pp. 1185–1191.
99. Jiang L.E., Li L., Ruan Y., Zuo S., Wu X., Zhao Q., Xing Y., Zhao X., Xia S., Bai R., Du X., Liu N., Ma C.S. Ibrutinib promotes atrial fibrillation by inducing structural remodeling and calcium dysregulation in the atrium // *Heart Rhythm*. – 2019. – V. 16., №. 9. – pp. 1374–1382.
100. Kahr P.C., Piccini I., Fabritz L., Greber B., Schöler H., Scheld H.H., Hoffmeier A., Brown N.A., Kirchhof P. Systematic analysis of gene expression differences between left and right atria in different mouse strains and in human atrial tissue // *PLoS One*. – 2011. – V. 6, №. 10. – pp. e26389.
101. Kampourakis T., Irving M. The regulatory light chain mediates inactivation of myosin motors during active shortening of cardiac muscle // *Nature Communications*. – 2021. – V. 12, №. 1. – pp. 5272.
102. Kanaporis G., Kalik Z.M., Blatter L.A. Action potential shortening rescues atrial calcium alternans // *The Journal of Physiology*. – 2019. – V. 597, №. 3. – pp. 723–740.
103. Kerrick W.G.L., Xu Y., Percival J.M. nNOS splice variants differentially regulate myofilament function but are dispensable for intracellular calcium and force transients in cardiac papillary muscles // *PloS one*. – 2018. – V. 13, №. 7. – pp. e0200834.
104. Kharbanda R.K., van der Does W.F., van Staveren L.N., Taverne Y.J., Bogers A.J., de Groot N.M. Vagus nerve stimulation and atrial fibrillation: Revealing the paradox // *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*. – 2022. – V. 25, №. 3. – pp. 356–365.
105. Kirchhof P., Kahr P.C., Kaese S., Piccini I., Vokshi I., Scheld H.H., Rotering H., Fortmueller L., Laakmann S., Verheule S., Schotten U., Fabritz L., Brown N. A. PITX2c is expressed in the adult left atrium, and reducing Pitx2c expression promotes atrial fibrillation

inducibility and complex changes in gene expression // *Circulation: Cardiovascular Genetics*. – 2011. – V. 4, №. 2. – pp. 123–133.

106. Kistler P.M., Sanders P., Dodic M., Spence S.J., Samuel C.S., Zhao C., Charles J.A., Edwards G.A., Kalman J.M. Atrial electrical and structural abnormalities in an ovine model of chronic blood pressure elevation after prenatal corticosteroid exposure: implications for development of atrial fibrillation // *European heart journal*. – 2006. – V. 27, №. 24. – pp. 3045–3056.

107. Kjeldsen S.T., Nissen S.D., Buhl R., Hopster-Iversen C. Paroxysmal atrial fibrillation in horses: pathophysiology, diagnostics and clinical aspects // *Animals*. – 2022. – V. 12, №. 6. – pp. 698.

108. Ko D., Rahman F., Martins M.A., Hylek E.M., Ellinor P.T., Schnabel R.B., Benjamin E. J., Christophersen I.E. Atrial fibrillation in women: treatment // *Nature reviews Cardiology*. – 2017. – V. 14, №. 2. – pp. 113–124.

109. Kobirumaki-Shimozawa F., Inoue T., Shintani S. A., Oyama K., Terui T., Minamisawa S., Ishiwata S., Fukuda N. Cardiac thin filament regulation and the Frank–Starling mechanism // *The journal of physiological sciences*. – 2014. – V. 64. – pp. 221–232.

110. Komal S., Yin J.J., Wang S.H., Huang C.Z., Tao H.L., Dong J.Z., S.-N. Han, Zhang L.R. MicroRNAs: Emerging biomarkers for atrial fibrillation // *Journal of Cardiology*. – 2019. – V. 74, №. 6. – pp. 475–482.

111. Kovacs R.J., Bailey J.C. Effects of acetylcholine on action potential characteristics of atrial and ventricular myocardium after bilateral cervical vagotomy in the cat // *Circulation research*. – 1985. – V. 56, №. 4. – pp. 613–620.

112. Krishnan A., Chilton E., Raman J., Saxena P., McFarlane C., Trollope A.F., Kinobe R., Chilton L. Are interactions between epicardial adipose tissue, cardiac fibroblasts and cardiac myocytes instrumental in atrial fibrosis and atrial fibrillation? // *Cells*. – 2021. – V. 10, №. 9. – pp. 2501.

113. Krysiak J., Unger A., Beckendorf L., Hamdani N., von Frieling-Salewsky M., Redfield M. M., dos Remedios C.G., Sheikh F., Gergs U., Boknik P., Linke W.A. Protein phosphatase 5 regulates titin phosphorylation and function at a sarcomere-associated mechanosensor complex in cardiomyocytes // *Nature communications*. – 2018. – V. 9, №. 1. – pp. 262.

114. Kulkarni K., Merchant F. M., Kassab M. B., Sana F., Moazzami K., Sayadi O., Singh J.P., Heist E.K., Armoundas A.A. Cardiac alternans: mechanisms and clinical utility in arrhythmia prevention // *Journal of the American Heart Association*. – 2019. – V. 8, №. 21. – pp. e013750.
115. Kumar M., Haghghi K., Kranias E. G., Sadayappan S. Phosphorylation of cardiac myosin-binding protein-C contributes to calcium homeostasis // *Journal of Biological Chemistry*. – 2020. – V. 295, №. 32. – pp. 11275–11291.
116. Kuzmin V.S., Ivanova A.D., Potekhina V.M., Samoiloa D.V., Ushenin K.S., Shvetsova A.A., Petrov A.M. The susceptibility of the rat pulmonary and caval vein myocardium to the catecholamine-induced ectopy changes oppositely in postnatal development // *The Journal of Physiology*. – 2021. – V. 599, №. 11. – pp. 2803–2821.
117. Lau D.H., Schotten U., Mahajan R., Antic N.A., Hatem S.N., Pathak R.K., Hendriks J.M.L., Kalman J.M., Sanders P. Novel mechanisms in the pathogenesis of atrial fibrillation: practical applications // *European heart journal*. – 2016. – V. 37, №. 20. – pp. 1573–1581.
118. Lau D.H., Shipp N.J., Kelly D.J., Thanigaimani S., Neo M., Kuklik P., Lim H.S., Zhang Y., Drury K., Wong C.X., Chia N.H., Brooks A.G., Dimitri H., Saint D.A., Brown L., Sanders P. Atrial arrhythmia in ageing spontaneously hypertensive rats: unraveling the substrate in hypertension and ageing // *PloS one*. – 2013. – V. 8, №. 8. – pp. e72416.
119. Ladwig K.H., Goette A., Atasoy S., Johar H. Psychological aspects of atrial fibrillation: A systematic narrative review // *Current Cardiology Reports*. – 2020. – V. 22, №. 11. – pp. 1–11.
120. Lampert R., Burg M.M., Jamner L.D., Dziura J., Brandt C., Li F., Donovan T., Soufer R. Effect of β -blockers on triggering of symptomatic atrial fibrillation by anger or stress // *Heart Rhythm*. – 2019. – V. 16, №. 8. – pp. 1167–1173.
121. Lamy J., Taoutel R., Chamoun R., Akar J., Niederer S., Mojibian H., Huber S., Baldassarre L.A., Meadows J., Peters D.S., FSCMR. Atrial Fibrosis by cardiac MRI is a correlate for atrial stiffness in patients with atrial fibrillation // *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. – 2024. – V. 40., №. 1. – pp. 107–117.
122. Lang R.M., Cameli M., Sade L.E., Faletra F.F., Fortuni F., Rossi A., Soulat-Dufour L. Imaging assessment of the right atrium: anatomy and function // *European Heart Journal-Cardiovascular Imaging*. – 2022. – V. 23., №. 7. – pp. 867–884.

123. Le Q.A., Kim, J.C., Kim, K.H., Van Vu A.T., Woo S.H. Distinct shear-induced Ca^{2+} signaling in the left and right atrial myocytes: Role of P2 receptor context // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2020. – V. 143. – pp. 38–50.
124. Lee E.J., Peng J., Radke M., Gotthardt M., Granzier H.L. Calcium sensitivity and the Frank–Starling mechanism of the heart are increased in titin N2B region-deficient mice // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2010. – V. 49, №. 3. – pp. 449–458.
125. Lee S., Khrestian C., Laurita D., Juzbasich D., Wallick D., Waldo A. Validation of a new species for studying postoperative atrial fibrillation: Swine sterile pericarditis model // *Pacing and Clinical Electrophysiology*. – 2023. – V. 46, №. 8. – pp. 1003–1009.
126. Lenaerts I., Driesen R. B., Blanco N.H., Holemans P., Heidebüchel H., Janssens S., Balligand J.-L., Sipido K.R., Willems R. Role of nitric oxide and oxidative stress in a sheep model of persistent atrial fibrillation // *Europace*. – 2013. – V. 15, №. 5. – pp. 754–760.
127. Li D., Fareh S., Leung T.K., Nattel S. Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs: atrial remodeling of a different sort // *Circulation*. – 1999. – V. 100, №. 1. – pp. 87–95.
128. Li D., Nie J., Han Y., Ni L. Epigenetic mechanism and therapeutic implications of atrial fibrillation // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – V. 8. – pp. 2035.
129. Li J., Sundnes J., Hou Y., Laasmaa M., Ruud M., Unger A., Kolstad T.R., Frisk M., Norseng P. A., Yang L., Setterberg I.E., Alves E.S., Kalakoutis M., Sejersted O.M., Lanner J.T., Linke W.A., Lunde I.G., de Tombe P.P., Louch W.E. Stretch harmonizes sarcomere strain across the cardiomyocyte // *Circulation Research*. – 2023. – V. 133, №. 3. – pp. 255–270.
130. Li Z., Wang Z., Yin Z., Zhang Y., Xue X., Han J., Zhu Y., Zhang J., Emmert M.Y., Wang H. Gender differences in fibrosis remodeling in patients with long-standing persistent atrial fibrillation // *Oncotarget*. – 2017. – V. 8, №. 32. – pp. 53714.
131. Linz D., Ukena C., Mahfoud F., Neuberger H.R., Böhm M. Atrial autonomic innervation: a target for interventional antiarrhythmic therapy? // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2014. – V. 63, №. 3. – pp. 215–224.
132. Linz D., Elliott A.D., Hohl M., Malik V., Schotten U., Dobrev D., Nattel S., Böhm M., Floras J., Lau D.H., Sanders P. Role of autonomic nervous system in atrial fibrillation // *International journal of cardiology*. – 2019. – T. 287. – C. 181-188.
133. Liu F., Deng Y., Zhao Y., Li Z., Gao J., Zhang Y., Yang X., Liu Y., Xia Y. Time series RNA-seq analysis identifies MAPK10 as a critical gene in diabetes mellitus-induced atrial

fibrillation in mice // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2022. – V. 168. – pp. 70–82.

134. Liu L., Nattel S. Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: role of refractoriness heterogeneity // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 1997. – V. 273, №. 2. – pp. H805–H816.

135. Logantha S. J. R., Cruickshank S. F., Rowan E. G., Drummond R. M. Spontaneous and electrically evoked Ca^{2+} transients in cardiomyocytes of the rat pulmonary vein // *Cell calcium*. – 2010. – V. 48, №. 2–3. – pp. 150–160.

136. Lookin O., Balakin A., Protsenko Y. Differences in Effects of Length-Dependent Regulation of Force and Ca^{2+} Transient in the Myocardial Trabeculae of the Rat Right Atrium and Ventricle // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – V. 24, №. 10. – pp. 8960.

137. Lookin O., Butova X., Protsenko Y. The role of pacing rate in the modulation of mechano-induced immediate and delayed changes in the force and Ca-transient of cardiac muscle // *Progress in biophysics and molecular biology*. – 2021. – V. 159. – pp. 34–45.

138. Louch W.E., Sheehan K.A., Wolska B.M. Methods in cardiomyocyte isolation, culture, and gene transfer // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2011. – V. 51, №. 3. – pp. 288–298.

139. Lugenbiel P., Wenz F., Govorov K., Syren P., Katus H.A., Thomas D. Atrial myofibroblast activation and connective tissue formation in a porcine model of atrial fibrillation and reduced left ventricular function // *Life sciences*. – 2017. – T. 181. – C. 1-8.

140. Lv W., Zhang L., Cheng X., Wang H., Qin W., Zhou X., Tang B. Apelin inhibits angiotensin ii-induced atrial fibrosis and atrial fibrillation via TGF- β 1/Smad2/ α -SMA pathway // *Frontiers in Physiology*. – 2020. – V. 11. – pp. 583570.

141. Lv X., Li J., Hu Y., Wang S., Yang C., Li C., Zhong G. Overexpression of miR-27b-3p targeting Wnt3a regulates the signaling pathway of Wnt/ β -catenin and attenuates atrial fibrosis in rats with atrial fibrillation // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – V. 2019. – pp. 1–13.

142. Malik V., Mishima R., Elliott A. D., Lau D. H., Sanders P. The “road” to atrial fibrillation: The role of the cardiac autonomic nervous system // *Journal of Atrial Fibrillation*. – 2020. – V. 13. – №. 1.

143. Malinow M.R., Batlle F.F., Malamud B. Nervous mechanisms in ventricular arrhythmias induced by calcium chloride in rats // *Circulation research*. – 1953. – V. 1, №. 6. – pp. 554-559.
144. Mamidi R., Gresham K.S., Verma S., Stelzer J.E. Cardiac myosin binding protein-C phosphorylation modulates myofilament length-dependent activation // *Frontiers in physiology*. – 2016. – V. 7. – pp. 38.
145. Markhasin V.S., Balakin A.A., Katsnelson L.B., Konovalov P., Lookin O.N., Protsenko Y., Solovyova O. Slow force response and auto-regulation of contractility in heterogeneous myocardium // *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. – 2012. – V. 110, №. 2-3. – pp. 305–318.
146. Mase M., Grasso M., Avogaro L., Nicolussi Giacomaz M., D'Amato E., Tessarolo F., Graffigna A., Denti M.A., Ravelli F. Upregulation of miR-133b and miR-328 in patients with atrial dilatation: implications for stretch-induced atrial fibrillation // *Frontiers in Physiology*. – 2019. – V. 10. – pp. 1133.
147. Mateja R.D., de Tombe P.P. Miofilament length-dependent activation develops within 5 ms in Guinea-Pig Myocardium // *Biophysical Journal*. – 2012. – V. 103, № 1. – P. L13–L15.
148. Matsuo K., Uno K., Khrestian C.M., Waldo A.L. Conduction left-to-right and right-to-left across the crista terminalis // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2001. – V. 280, №. 4. – pp. H1683–H1691.
149. Mekkaoui C., Chen I.Y., Chen H.H., Kostis W.J., Pereira F., Jackowski M.P., Sosnovik D.E. Differential response of the left and right ventricles to pressure overload revealed with diffusion tensor MRI tractography of the heart in vivo // *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*. – 2015. – V. 17. – pp. 1–2.
150. Mikhryakova P.P., Butova X.A., Myachina T.A., Simonova R.A., Khokhlova A.D. A Study of Mechanical Alternans in Single Rat Cardiomyocytes in Acetylcholine-CaCl₂ Induced Atrial Fibrillation // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. – 2022. – V. 58, №. Suppl 1. – pp. S13–S21.
151. Modesti P.A., Vanni S., Bertolozzi I., Cecioni I., Lumachi C., Perna A. M., Boddi M., Gensini G.F. Different growth factor activation in the right and left ventricles in experimental volume overload // *Hypertension*. – 2004. – V. 43, №. 1. – pp. 101–108.

152. Moris D., Spartalis M., Spartalis E., Karachaliou G. S., Karaolani G. I., Tsourouflis G., Tsilimigras D.I., Tzatzaki E., Theocharis S. The role of reactive oxygen species in the pathophysiology of cardiovascular diseases and the clinical significance of myocardial redox // *Annals of translational medicine.* – 2017. – V. 5, №. 16.
153. Mueller-Hoecker J., Beitinger F., Fernandez B., Bahlmann O., Assmann G., Troidl C., Dimomeletis I., Käab S., Deindl E. Of rodents and humans: a light microscopic and ultrastructural study on cardiomyocytes in pulmonary veins // *International Journal of Medical Sciences.* – 2008. – V. 5, №. 3. – pp. 152.
154. Myachina T.A., Butova X.A., Khohlova A.D. A Modified Langendorff-Free Method for Isolation of Cardiomyocytes from Adult Rat Heart // *AIP Conference Proceedings.* – 2019. – V. 2174. – 020140.
155. Myachina T.A., Butova K.A., Lookin O.N. Development and Program Implementation of an Algorithm to Estimate the Mean Sarcomere Length of a Cardiomyocyte // *Biophysics.* – 2019. – V. 64, №. 5. – pp. 732–737.
156. Namekata I., Tanaka Y., Ohmori T., Tsuneoka Y., Hamaguchi S., Tanaka H. Cell morphology and early-phase Ca^{2+} transients of guinea-pig pulmonary vein cardiomyocytes compared with atrial and ventricular cardiomyocytes // *bioimages.* – 2019. – V. 27. – pp. 1–12.
157. Narayan S.M., Franz M.R., Clopton P., Pruvot E.J., Krummen D.E. Repolarization alternans reveals vulnerability to human atrial fibrillation // *Circulation.* – 2011. – V. 123, №. 25. – pp. 2922–2930.
158. Nattel S. Molecular and cellular mechanisms of atrial fibrosis in atrial fibrillation // *JACC: Clinical Electrophysiology.* – 2017. – V. 3, №. 5. – pp. 425–435.
159. Niederer S.A., ter Keurs H., Smith N.P. Modelling and measuring electromechanical coupling in the rat heart // *Experimental physiology.* – 2009. – V. 94, №. 5. – pp. 529–540.
160. Nishida K., Michael G., Dobrev D., Nattel S. Animal models for atrial fibrillation: clinical insights and scientific opportunities // *Europace.* – 2010. – V. 12, №. 2. – pp. 160–172.
161. Ohtani H., Katoh H., Tanaka T., Saotome M., Urushida T., Satoh H., Hayashi H. Effects of nitric oxide on mitochondrial permeability transition pore and thiol-mediated responses in cardiac myocytes // *Nitric Oxide.* – 2012. – V. 26, №. 2. – pp. 95–101.

162. Okamoto Y., Aung N. Y., Tanaka M., Takeda Y., Takagi D., Igarashi W., Ishii K., Yamakawa M., Ono K. Preferential Expression of Ca²⁺-Stimulable Adenylyl Cyclase III in the Supraventricular Area, including Arrhythmogenic Pulmonary Vein of the Rat Heart // *Biomolecules*. – 2022. – V. 12, №. 5. – pp. 724.

163. Ono N., Hayashi H., Kawase A., Lin S. F., Li H., Weiss J. N., Chen P.-S., Karagueuzian H.S. Spontaneous atrial fibrillation initiated by triggered activity near the pulmonary veins in aged rats subjected to glycolytic inhibition // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2007. – V. 292, №. 1. – pp. H639–H648.

164. Parahuleva M.S., Kockskämper J., Heger J., Grimm W., Scherer A., Bühler S., Kreutz J., Schulz R., Euler G. Structural, Pro-Inflammatory and calcium handling remodeling underlies spontaneous onset of paroxysmal atrial fibrillation in JDP2-overexpressing mice // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – V. 21, №. 23. – pp. 9095.

165. Parikh A., Patel D., McTiernan C.F., Xiang W., Haney J., Yang L., Lin B., Kaplan A.D., Bett G.C.L., Rasmusson R.L., Shroff S.G., Schwartzman D., Salama G. Relaxin suppresses atrial fibrillation by reversing fibrosis and myocyte hypertrophy and increasing conduction velocity and sodium current in spontaneously hypertensive rat hearts // *Circulation research*. – 2013. – V. 113, №. 3. – pp. 313–321.

166. Park-Holohan S.J., Brunello E., Kampourakis T., Rees M., Irving M., Fusi L. Stress-dependent activation of myosin in the heart requires thin filament activation and thick filament mechanosensing // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2021. – V. 118, №. 16. – pp. e2023706118.

167. Pellman J., Lyon R.C., Sheikh F. Extracellular matrix remodeling in atrial fibrosis: mechanisms and implications in atrial fibrillation // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2010. – V. 48, №. 3. – pp. 461–467.

168. Peyronnet R., Nerbonne J.M., Kohl P. Cardiac mechano-gated ion channels and arrhythmias // *Circulation research*. – 2016. – V. 118, №. 2. – pp. 311–329.

169. Pezel T., Ambale-Venkatesh B., Quinaglia T., Heckbert S.R., Kato Y., de Vasconcellos H.D., Wu C.O., Post W.S., Henry P., Bluemke D.A., Lima J.A. Change in left atrioventricular coupling index to predict incident atrial fibrillation: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA) // *Radiology*. – 2022. – V. 303, №. 2. – pp. 317–326.

170. Pfeiffer E.R., Tangney J.R., Omens J.H., McCulloch A.D. Biomechanics of cardiac electromechanical coupling and mechanoelectric feedback // *Journal of biomechanical engineering*. – 2014. – V. 136, №. 2. – pp. 021007.
171. Ponnampalani S., Sevrieva I., Sun Y.B., Irving M., Kampourakis T. Site-specific phosphorylation of myosin binding protein-C coordinates thin and thick filament activation in cardiac muscle // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2019. – V. 116, №. 31. – pp. 15485–15494.
172. Potekhina V.M., Averina O.A., Razumov A.A., Kuzmin V.S., Rozenshtaukh L.V. The local repolarization heterogeneity in the murine pulmonary veins myocardium contributes to the spatial distribution of the adrenergically induced ectopic foci // *The journal of physiological sciences*. – 2019. – V. 69. – pp. 1041–1055.
173. Purohit A., Rokita A.G., Guan X., Chen B., Koval O.M., Voigt N., Neef S., Sowa T., Gao Z., Luczak E.D., Stefansdottir H., Behunin A.C., Li N., El-Accaoui R.N., Yang B., Swaminathan P.D., Weiss R.M., Wehrens X.H.T., Song L.-S., Dobrev D., Maier L.S., Anderson, M.E. Oxidized Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II triggers atrial fibrillation // *Circulation*. – 2013. – V. 128, №. 16. – pp. 1748–1757.
174. Pytkowski M., Jankowska A., Maciag A., Kowalik I., Sterlinski M., Szwed H., Saumarez R. C. Paroxysmal atrial fibrillation is associated with increased intra-atrial conduction delay // *Europace*. – 2008. – V. 10, №. 12. – pp. 1415–1420.
175. Rastaldo R., Pagliaro P., Cappello S., Penna C., Mancardi D., Westerhof N., Losano G. Nitric oxide and cardiac function // *Life sciences*. – 2007. – V. 81., №. 10. – pp. 779–793.
176. Ravelli F., Masè M., Del Greco M., Marini M., Disertori M. Acute atrial dilatation slows conduction and increases AF vulnerability in the human atrium // *Journal of cardiovascular electrophysiology*. – 2011. – V. 22, №. 4. – pp. 394–401.
177. Reddy V.Y., Doshi S.K., Kar S., Gibson D.N., Price M.J., Huber K., Horton R.P., Buchbinder M., Neuzil P., Gordon N.T., Holmes D.R., PREVAIL and PROTECT AF Investigators. 5-year outcomes after left atrial appendage closure: from the PREVAIL and PROTECT AF trials // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2017. – V. 70, №. 24. – pp. 2964–2975.
178. Reddy Y.N.V., Obokata M., Verbrugge F.H., Lin G., Borlaug B.A. Atrial dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction and atrial fibrillation // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2020. – V. 76, №. 9. – pp. 1051–1064.

179. Reilly S.N., Jayaram R., Nahar K., Antoniadis C., Verheule S., Channon K.M., Alp N.J., Schotten U., Casadei B. Atrial sources of reactive oxygen species vary with the duration and substrate of atrial fibrillation: implications for the antiarrhythmic effect of statins // *Circulation*. – 2011. – V. 124, №. 10. – pp. 1107–1117.
180. Ren X., Wang X., Yuan M., Tian C., Li H., Yang X., Li X., Li Y., Yang Y., Liu N., Shang H., Gao Y., Xing Y. Mechanisms and treatments of oxidative stress in atrial fibrillation // *Current Pharmaceutical Design*. – 2018. – V. 24, №. 26. – pp. 3062–3071.
181. Roux N., Havet E., Mertl P. The myocardial sleeves of the pulmonary veins: potential implications for atrial fibrillation // *Surgical and Radiologic Anatomy*. – 2004. – V. 26. – pp. 285–289.
182. Rucker-Martin C., Milliez P., Tan S., Decrouy X., Recouvreur M., Vranckx R., Delcayre C., Renaud J.-F., Dunia I., Segretain D., Hatem S.N. Chronic hemodynamic overload of the atria is an important factor for gap junction remodeling in human and rat hearts // *Cardiovascular research*. – 2006. – V. 72., №. 1. – pp. 69–79.
183. Saks V., Dzeja P., Schlattner U., Vendelin M., Terzic A., Wallimann T. Cardiac system bioenergetics: metabolic basis of the Frank-Starling law // *The Journal of physiology*. – 2006. – V. 571, №. 2. – pp. 253–273.
184. Salhi H.E., Shettigar V., Salyer L., Sturgill S., Brundage E.A., Robinett J., Biesiadecki B.J. The lack of Troponin I Ser-23/24 phosphorylation is detrimental to in vivo cardiac function and exacerbates cardiac disease // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2023. – M. 176. – pp. 84–96.
185. Saljic A., Heijman J., Dobrev D. Emerging antiarrhythmic drugs for atrial fibrillation // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – V. 23, №. 8. – pp. 4096.
186. Sarmast F., Kolli A., Zaitsev A., Parisian K., Dhamoon A.S., Guha P.K., Warren M., Anumonwo J.M., Taffet S. M., Berenfeld O. Cholinergic atrial fibrillation: $I_{K, ACh}$ gradients determine unequal left/right atrial frequencies and rotor dynamics // *Cardiovascular research*. – 2003. – V. 59., №. 4. – pp. 863–873.
187. Saygili E., Rana O.R., Saygili E., Reuter H., Frank K., Schwinger R.H., Müller-Ehmsen J., Zobel C. Losartan prevents stretch-induced electrical remodeling in cultured atrial neonatal myocytes // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2007. – V. 292, №. 6. – pp. H2898–H2905.

188. Scanavacca M., Pisani C. F., Hachul D., Lara S., Hardy C., Darrieux F., Trombetta I., Negrão C.E., Sosa E. Selective atrial vagal denervation guided by evoked vagal reflex to treat patients with paroxysmal atrial fibrillation // *Circulation*. – 2006. – V. 114, №. 9. – pp. 876–885.
189. Schram G., Pourrier M., Melnyk P., Nattel S. Differential distribution of cardiac ion channel expression as a basis for regional specialization in electrical function // *Circulation research*. – 2002. – V. 90, №. 9. – pp. 939–950.
190. Schillinger K.J., Patel V.V. Atrial fibrillation in the elderly: the potential contribution of reactive oxygen species // *Journal of geriatric cardiology: JGC*. – 2012. – V. 9, №. 4. – pp. 379.
191. Schotten U., Neuberger H.R., Allessie M.A. The role of atrial dilatation in the domestication of atrial fibrillation // *Progress in biophysics and molecular biology*. – 2003. – V. 82., №. 1–3. – pp. 151–162.
192. Schmidt C., Wiedmann F., Kallenberger S.M., Ratte A., Schulte J.S., Scholz B., Müller F.U., Voigt N., Zafeiriou M.P., Ehrlich J.R., Tochtermann U., Veres G., Ruhparwar A., Karck M., Katus H.A., Thomas D. Stretch-activated two-pore-domain (K2P) potassium channels in the heart: Focus on atrial fibrillation and heart failure // *Progress in biophysics and molecular biology*. – 2017. – V. 130. – pp. 233–243.
193. Schüttler D., Bapat A., Käab S., Lee K., Tomsits P., Clauss S., Hucker W.J. Animal models of atrial fibrillation // *Circulation Research*. – 2020. – V. 127, №. 1. – pp. 91–110.
194. Sharifov O.F., Fedorov V.V., Beloshapko G.G., Glukhov A.V., Yushmanova A.V., Rosenshtraukh L.V. Roles of adrenergic and cholinergic stimulation in spontaneous atrial fibrillation in dogs // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2004. – V. 43, №. 3. – pp. 483–490.
195. Shiels H.A., White E. The Frank–Starling mechanism in vertebrate cardiac myocytes // *Journal of Experimental Biology*. – 2008. – V. 211, №. 13. – pp. 2005–2013.
196. Shinagawa K., Li D., Leung T.K., Nattel S. Consequences of atrial tachycardia-induced remodeling depend on the preexisting atrial substrate // *Circulation*. – 2002. – V. 105, №. 2. – pp. 251–257.
197. Sikkil M.B., Francis D.P., Howard J., Gordon F., Rowlands C., Peters N.S., Lyon A.R., Harding S.E., MacLeod K.T. Hierarchical statistical techniques are necessary to draw

reliable conclusions from analysis of isolated cardiomyocyte studies // *Cardiovascular research*. – 2017. – V. 113, №. 14. – pp. 1743–1752.

198. Slagsvold K.H., Johnsen A.B., Rognmo Ø., Høydal M., Wisløff U., Wahba A. Comparison of left versus right atrial myocardium in patients with sinus rhythm or atrial fibrillation—an assessment of mitochondrial function and microRNA expression // *Physiological reports*. – 2014. – V. 2, №. 8. – pp. e12124.

199. Smith L., Tainter C., Regnier M., Martyn D.A. Cooperative cross-bridge activation of thin filaments contributes to the Frank-Starling mechanism in cardiac muscle // *Biophysical journal*. – 2009. – V. 96, №. 9. – pp. 3692–3702.

200. Smorodinova N., Lantová L., Bláha M., Melenovský V., Hanzelka J., Pirk J., Kautzer J., Kučera T. Bioptic study of left and right atrial interstitium in cardiac patients with and without atrial fibrillation: interatrial but not rhythm-based differences // *PLoS One*. – 2015. – V. 10., №. 6. – pp. e0129124.

201. Sobota V., Gatta G., Van Hunnik A., Van Tuijn I., Kuiper M., Milnes J., Jespersen T., Schotten U., Verheule S. The acetylcholine-activated potassium current inhibitor XAF-1407 terminates persistent atrial fibrillation in goats // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – V. 11. – pp. 608410.

202. Solovyova O., Katsnelson L.B., Kohl P., Panfilov A.V., Tsaturyan A.K., Tsyvian P.B. Mechano-electric heterogeneity of the myocardium as a paradigm of its function // *Progress in biophysics and molecular biology*. – 2016. – V. 120, №. 1–3. – pp. 249–254.

203. Sovari A.A., Dudley Jr S.C. Reactive oxygen species-targeted therapeutic interventions for atrial fibrillation // *Frontiers in physiology*. – 2012. – V. 3. – pp. 311.

204. Stavrakis S., Stoner J.A., Humphrey M.B., Morris L., Filiberti A., Reynolds J.C., Elkholey K., Javed I., Twidale N., Riha P., Varahan S., Scherlag B.J., Jackman W.M., Dasari T.W., Po S.S. TREAT AF (Transcutaneous Electrical Vagus Nerve Stimulation to Suppress Atrial Fibrillation) a randomized clinical trial // *Clinical Electrophysiology*. – 2020. – V. 6, №. 3. – pp. 282–291.

205. Steinberg S.F. Oxidative stress and sarcomeric proteins // *Circulation research*. – 2013. – V. 112, №. 2. – pp. 393–405.

206. Stewart L., Turner N.A. Channelling the force to reprogram the matrix: Mechanosensitive ion channels in cardiac fibroblasts // *Cells*. – 2021. – V. 10, №. 5. – pp. 990.

207. Sutanto H., Lyon A., Lumens J., Schotten U., Dobrev D., Heijman J. Cardiomyocyte calcium handling in health and disease: Insights from in vitro and in silico studies // *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. – 2020. – V. 157. – pp. 54–75.
208. Syeda F., Kirchhof P., Fabritz L. PITX2-dependent gene regulation in atrial fibrillation and rhythm control // *The Journal of Physiology*. – 2017. – V. 595, №. 12. – pp. 4019–4026.
209. Sygitowicz G., Maciejak-Jastrzębska A., Sitkiewicz D. A review of the molecular mechanisms underlying cardiac fibrosis and atrial fibrillation // *Journal of Clinical Medicine*. – 2021. – V. 10, №. 19. – pp. 4430.
210. Tan A.Y., Li H., Wachsmann-Hogiu S., Chen L.S., Chen P.S., Fishbein M.C. Autonomic innervation and segmental muscular disconnections at the human pulmonary vein-atrial junction: implications for catheter ablation of atrial-pulmonary vein junction // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2006. – V. 48, №. 1. – pp. 132–143.
211. Tan A.Y., Zimetbaum P. Atrial fibrillation and atrial fibrosis // *Journal of cardiovascular pharmacology*. – 2011. – V. 57, №. 6. – pp. 625–629.
212. ter Keurs H.E.D.J. Electromechanical coupling in the cardiac myocyte; stretch-arrhythmia feedback // *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. – 2011. – V. 462. – pp. 165–175.
213. Tieleman R.G. The pathophysiology of maintenance of atrial fibrillation // *Pacing and clinical electrophysiology*. – 2003. – V. 26., №. 7p2. – pp. 1569–1571.
214. Toepfer C., Caorsi V., Kampourakis T., Sikkel M. B., West T., Leung J.C., Al-Saud S.A., Macleod K., Lyon A.R., Marston S.B., Sellers J., Ferenczi M.A. Myosin regulatory light chain (RLC) phosphorylation change as a modulator of cardiac muscle contraction in disease // *Biophysical Journal*. – 2013. – V. 104, №. 2. – pp. 309a–310a.
215. Tsutsumi T., Ide T., Yamato M., Kudou W., Andou M., Hirooka Y., Utsumi H., Tsutsui H., Sunagawa K. Modulation of the myocardial redox state by vagal nerve stimulation after experimental myocardial infarction // *Cardiovascular research*. – 2008. – V. 77, №. 4. – pp. 713–721.
216. Vaitkevicius R., Saburkina I., Rysevaite K., Vaitkeviciene I., Pauziene N., Zaliunas R., Schauerte P., Jalife J., Pauza D. H. Nerve supply of the human pulmonary veins: an anatomical study // *Heart Rhythm*. – 2009. – V. 6, №. 2. – pp. 221–228.

217. van Borren M.M., Verkerk A.O., Wilders R., Hajji N., Zegers J.G., Bourier J., Tan H.L., Verheijck E.E., Peters S.L., Alewijnse A.E. Effects of muscarinic receptor stimulation on Ca^{2+} transient, cAMP production and pacemaker frequency of rabbit sinoatrial node cells // *Basic research in cardiology*. – 2010. – V. 105. – pp. 73–87.
218. Voigt N., Heijman J., Wang Q., Chiang D.Y., Li N., Karck M., Wehrens X.H.T., Nattel S., Dobrev D. Cellular and molecular mechanisms of atrial arrhythmogenesis in patients with paroxysmal atrial fibrillation // *Circulation*. – 2014. – V. 129, №. 2. – C. 145–156.
219. Voigt N., Maguy A., Yeh Y.H., Qi X., Ravens U., Dobrev D., Nattel S. Changes in IK, ACh single-channel activity with atrial tachycardia remodelling in canine atrial cardiomyocytes // *Cardiovascular research*. – 2008. – V. 77, №. 1. – pp. 35–43.
220. Voigt N., Trausch A., Knaut M., Matschke K., Varró A., Van Wagoner D.R., Nattel S., Ravens U., Dobrev D. Left-to-right atrial inward rectifier potassium current gradients in patients with paroxysmal versus chronic atrial fibrillation // *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. – 2010. – V. 3, №. 5. – pp. 472–480.
221. Volzhaninov D., Khokhlova A. Biomechanical tests for studying contractility and viscoelastic properties of single cardiac muscle cells // *AIP Conference Proceedings*. – AIP Publishing LLC, 2020. – V. 2313, №. 1. – pp. 080033.
222. Wakili R., Yeh Y.H., Yan Qi X., Greiser M., Chartier D., Nishida K., Maguy A., Villeneuve L.R., Boknik P., Voigt N., Krysiak J., Kääh S., Ravens U., Linke W.A., Stienen G.J.M., Shi Y., Tardif J.C., Schotten U., Dobrev D., Nattel S. Multiple potential molecular contributors to atrial hypocontractility caused by atrial tachycardia remodeling in dogs // *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. – 2010. – V. 3, №. 5. – pp. 530–541.
223. Walters T.E., Lee G., Spence S., Larobina M., Atkinson V., Antippa P., Goldblatt J., O’Keefe M., Sanders P., Kistler P.M., Kalman J.M. Acute atrial stretch results in conduction slowing and complex signals at the pulmonary vein to left atrial junction: insights into the mechanism of pulmonary vein arrhythmogenesis // *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. – 2014. – V. 7, №. 6. – pp. 1189–1197.
224. Wang J., Klysiak E., Sood S., Johnson R.L., Wehrens X.H., Martin J.F. Pitx2 prevents susceptibility to atrial arrhythmias by inhibiting left-sided pacemaker specification // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – V. 107, №. 21. – pp. 9753–9758.

225. Ward J., Ware W., Viall A. Association between atrial fibrillation and right-sided manifestations of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease or dilated cardiomyopathy // *Journal of Veterinary Cardiology*. – 2019. – V. 21. – pp. 18–27.
226. Whiteman S., Saker E., Courant V., Salandy S., Gielecki J., Zurada A., Loukas M. An anatomical review of the left atrium // *Translational Research in Anatomy*. – 2019. – V. 17. – pp. 100052.
227. Wijesurendra R.S., Casadei B. Mechanisms of atrial fibrillation // *Heart*. – 2019. – V. 105, №. 24. – pp. 1860–1867.
228. Williams C.D., Salcedo M.K., Irving T.C., Regnier M., Daniel T.L. The length-tension curve in muscle depends on lattice spacing // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2013. – V. 280, №. 1766. – pp. 20130697.
229. Wilson A.J., Schoenauer R., Ehler E., Agarkova I., Bennett P.M. Cardiomyocyte growth and sarcomerogenesis at the intercalated disc // *Cellular and molecular life sciences*. – 2014. – V. 71. – pp. 165–181.
230. Yamano M., Yamano T., Iwamura Y., Nakamura T., Shiraishi H., Shirayama T., Matoba S. Impact of left ventricular diastolic property on left atrial function from simultaneous left atrial and ventricular three-dimensional echocardiographic volume measurement // *The American Journal of Cardiology*. – 2017. – V. 119, №. 10. – pp. 1687–1693.
231. Yang S., Kwak S., Kwon S., Lee H.J., Lee H., Park J.B., Lee S.-P., Kim H., Han K., Kim Y.-J., Kim H.K. Association of total reproductive years with incident atrial fibrillation, and subsequent ischemic stroke in women with natural menopause // *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. – 2019. – V. 12, №. 11. – pp. e007428.
232. Yeh Y.H., Wakili R., Qi X.Y., Chartier D., Boknik P., Käab S., Ravens U., Coutu P., Dobrev D., Nattel S. Calcium-handling abnormalities underlying atrial arrhythmogenesis and contractile dysfunction in dogs with congestive heart failure // *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. – 2008. – V. 1, №. 2. – pp. 93–102.
233. Yoo S., Pfenniger A., Hoffman J., Zhang W., Ng J., Burrell A., Johnson D.A., Gussak G., Waugh T., Bull S., Benefield B., Knight B., Passman R., Wasserstrom J.A., Aistrup G.L., Arora, R. Attenuation of oxidative injury with targeted expression of NADPH oxidase 2 short hairpin RNA prevents onset and maintenance of electrical remodeling in the canine atrium: a novel gene therapy approach to atrial fibrillation // *Circulation*. – 2020. – V. 142, №. 13. – pp. 1261–1278.

234. Yu L., Scherlag B.J., Li S., Fan Y., Dyer J., Male S., Varma V., Sha Y., Stavrakis S., Po S.S. Low-level transcutaneous electrical stimulation of the auricular branch of the vagus nerve: a noninvasive approach to treat the initial phase of atrial fibrillation // *Heart rhythm.* – 2013. – V. 10, №. 3. – pp. 428–435.
235. Zhan Y., Joza J., Al Rawahi M., Barbosa R.S., Samuel M., Bernier M., Essebag V. Assessment and management of the left atrial appendage thrombus in patients with nonvalvular atrial fibrillation // *Canadian Journal of Cardiology.* – 2018. – V. 34, №. 3. – pp. 252–261.
236. Zhang X., Kampourakis T., Yan Z., Sevrieva I., Irving M., Sun Y.B. Distinct contributions of the thin and thick filaments to length-dependent activation in heart muscle // *elife.* – 2017. – V. 6. – pp. e24081.
237. Zhang Y., Wang Y.T., Shan Z.L., Guo H. Y., Guan Y., Yuan H.T. Role of inflammation in the initiation and maintenance of atrial fibrillation and the protective effect of atorvastatin in a goat model of aseptic pericarditis // *Molecular medicine reports.* – 2015. – V. 11, №. 4. – pp. 2615–2623.
238. Zhou W.P., Li F., Wu J.J., Lu Y.N., Qian Y.J. Calcium-handling abnormalities underlying atrial arrhythmogenesis in a Fontan operation canine model // *World Journal of Pediatrics.* – 2018. – V. 14. – pp. 576–584.
239. Zimmerman L.I., Liberman A., Castro R.R.T., Ribeiro J.P., Nóbrega A.C.L. Acute electrophysiologic consequences of pyridostigmine inhibition of cholinesterase in humans // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* – 2010. – V. 43. – pp. 211–216.
240. Zou D., Geng N., Chen Y., Ren L., Liu X., Wan J., Guo S., Wang S. Ranolazine improves oxidative stress and mitochondrial function in the atrium of acetylcholine-CaCl₂ induced atrial fibrillation rats // *Life sciences.* – 2016. – V. 156. – pp. 7–14.