

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Джуманиязова Ирина Хамрабековна

**Механизмы токсического воздействия трициклических полиароматических
углеводородов на электрическую активность сердца**

Специальность 1.5.5. Физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 2026

Диссертация подготовлена на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель: Абрамочкин Денис Валерьевич

доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент РАН

**Официальные
оппоненты:**

Азаров Ян Эрнестович – доктор биологических наук, доцент, Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Институт физиологии, лаборатория физиологии сердца, главный научный сотрудник

Нигматуллина Разина Рамазановна – доктор биологических наук, профессор, «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра нормальной физиологии, профессор

Фролова Шейда Рауф кызы – кандидат биологических наук, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, лаборатория молекулярно-клеточной диагностики, старший научный сотрудник

Защита состоится «18» мая 2026 года в 15 часов 30 минут на заседании диссертационного совета МГУ.015.7 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет МГУ, аудитория ББА.

E-mail: belka.umarova.msu@gmail.com

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3832>

Автореферат разослан « _____ » апреля 2026 года.

Ученый секретарь диссертационного совета МГУ.015.7

доктор биологических наук

Умарова Б.А.

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) — широко распространённый класс органических соединений, присутствующих в природных и антропогенных выбросах, а также в сырой нефти. В водной среде ПАУ обнаруживаются как при хроническом техногенном загрязнении, так и при аварийных разливах; при этом в водной фазе преимущественно присутствуют «лёгкие» ПАУ, включая трициклические структуры. ПАУ известны множественностью эффектов на различные органы и системы, включая сердечно-сосудистую систему рыб. Однако для понимания физиологических последствий воздействия принципиально важна идентификация непосредственных электрофизиологических мишеней, через которые ПАУ изменяют свойства возбудимых тканей, в частности миокарда.

В литературе обсуждаются кардиотоксические эффекты трициклических ПАУ, включая фенантрен, реализуемые через подавление I_{Kr} и влияние на деполяризующие токи. Данные были получены преимущественно на тропических видах рыб и радужной форели, тогда как сведения о действии ПАУ на сердечно-сосудистую систему арктических рыб до начала настоящего исследования отсутствовали. Между тем развитие перевозок по Северному морскому пути и перспективы нефтегазодобычи в Арктике делают увеличение нефтяного загрязнения неизбежным. Потепление климата представляет дополнительную угрозу для stenotherмных видов — полярной тресочки и северной наваги, являющихся ключевыми звеньями арктических пищевых цепей. Эта задача была решена в первой части исследования на примере северной наваги.

Угроза ПАУ не исчерпывается воздействием на экологию океана — опасно и непосредственное их действие на человека при употреблении водных организмов с накопленными ПАУ и вдыхании пылевых частиц. Для млекопитающих данные о влиянии ПАУ на кардиомиоциты ограничивались исследованием на овцах; для грызунов и человека подобные сведения отсутствовали. Поэтому во второй части работы раскрыты механизмы действия фенантрена и 3-метилфенантрена на желудочковые миоциты мыши, а также оценено действие 3-метилфенантрена на ионные каналы сердца человека с использованием линии клеток CHO-K1.

Важно учитывать, что выраженность эффектов ПАУ может зависеть от: (i) сложного состава нефтяных смесей; (ii) видовой специфики паттерна экспрессии

ионных каналов; (iii) физиологического состояния организма, включая температурную акклиматизацию.

Цель исследования. В настоящей работе нами была поставлена следующая цель: изучить механизмы токсического воздействия трициклических ПАУ на примере фенантрена и 3-метилфенантрена, а также смеси ПАУ, содержащихся в сырой нефти, на электрическую активность сердца рыб и млекопитающих.

Задачи исследования. Для достижения цели мы поставили перед собой следующие задачи:

1. Изучить влияние водорастворимой фракции нефти марки Urals на конфигурацию электрической активности, а также параметры быстрого натриевого тока I_{Na} , кальциевого тока L-типа I_{CaL} , быстрого калиевого тока задержанного выпрямления I_{Kr} и калиевого тока входящего выпрямления I_{K1} в изолированных желудочковых миоцитах наваги.
2. Изучить влияние фенантрена и 3-метилфенантрена на конфигурацию электрической активности, а также параметры I_{Na} , I_{CaL} , I_{Kr} и I_{K1} в изолированных желудочковых миоцитах наваги.
3. Выявить изменения конфигурации электрической активности, а также параметров I_{Na} , I_{CaL} , I_{Kr} и I_{K1} в желудочковых миоцитах при развитии зимней акклиматизации наваги.
4. Сравнить чувствительность основных параметров электрической активности, а также токов I_{Na} , I_{CaL} , I_{Kr} и I_{K1} к 3-метилфенантрону, в желудочковых миоцитах наваги, акклиматизированной к летним и зимним условиям среды обитания.
5. Изучить влияние фенантрена и 3-метилфенантрена на конфигурацию электрической активности, а также параметры быстрого натриевого тока I_{Na} , кальциевого тока L-типа I_{CaL} , ультрабыстрого калиевого тока задержанного выпрямления I_{Kur} , транзитного калиевого тока I_{to} и калиевого тока входящего выпрямления I_{K1} в изолированных желудочковых миоцитах мыши.
6. Изучить действие 3-метилфенантрена на наиболее чувствительные к ПАУ токи I_{Kr} и I_{Na} , переносимые человеческими изоформами порообразующих субъединиц каналов $K_v11.1$ и $Na_v1.5$, соответственно, в гетерологической экспрессионной системе – клетках линии CHO-K1.

Научная новизна исследования. определяется объединением сравнительного

электрофизиологического анализа действия водорастворимой нефтяной фракции (ВРФ) и трициклических ПАУ на уровне нативных кардиомиоцитов двух групп позвоночных и отдельных порообразующих субъединиц ионных каналов сердца человека, что позволяет разграничить эффекты смеси и индивидуальных соединений, а также выявить роль сезонной акклиматизации в изменении чувствительности.

Во-первых, раскрыт механизм негативного воздействия фенантрена, 3-метилфенантрена и ВРФ на электрическую активность кардиомиоцитов наваги. Показано, что наиболее чувствительным является I_{Kr} , что замедляет реполяризацию миоцитов.

Во-вторых, впервые показана зависимость токсического действия ПАУ от сезонной акклиматизации: зимняя акклиматизация наваги повышает чувствительность I_{Kr} к 3-метилфенантрону, отмечены сезонные различия в чувствительности I_{Na} . Это связывает эффекты загрязнителя с естественным ремоделированием миокарда у эктотермных животных.

В-третьих, показано, что в кардиомиоцитах мыши фенантрен и 3-метилфенантрен подавляют реполяризующие токи I_{to} и I_{Kur} , причём 3-метилфенантрен проявляет большую эффективность.

Наконец, описано влияние 3-метилфенантрена на токи человеческих изоформ $K_v11.1$ и $Na_v1.5$: I_{HERG} чувствителен к соединению, тогда как I_{hSCN5A} — нет, несмотря на подавление I_{Na} в нативных кардиомиоцитах мыши. Это указывает на модификацию свойств каналов вспомогательными белками и клеточным окружением.

Научно-практическая значимость. ПАУ — главные загрязнители водной среды и наиболее токсичные компоненты нефти. Исследование выяснило механизм их токсического воздействия на сердце рыб российской Арктики. Результаты могут использоваться для экологического мониторинга северных морей, оценки воздействия загрязнения на популяции промысловых рыб и потенциальных рисков промышленных проектов в арктической зоне.

Методология. Электрическую активность одиночных клеток регистрировали методом пэтч-кламп (whole-cell) в режимах фиксации тока и потенциала. Для разных токов энзиматически выделенных кардиомиоцитов использовали различные протоколы и селективные блокаторы. Токи человеческих изоформ каналов исследовали на клетках CHO-K1, трансфицированных соответствующими

плазмидами.

Положения, выносимые на защиту.

1. В остром эксперименте на желудочковых миоцитах наваги фенантрен, 3-метилфенантрен и ВРФ нефти оказывают ингибирующее действие на ток I_{Kr} уже в наномолярных концентрациях, в то время как I_{Na} и $I_{Ca,L}$ чувствительны к фенантрону и его производному в микромолярных концентрациях, а I_{K1} нечувствителен к ПАУ. Следствием такого воздействия на ионные токи является изменение конфигурации ПД - замедление реполяризации и деполяризации, снижение амплитуды ПД без каких-либо изменений потенциала покоя.

2. Зимняя акклиматизация вызывает адаптивные изменения ионных токов, а именно увеличение I_{Kr} , I_{K1} и облегчение активации I_{Na} , направленные на обеспечение нормальной электрической активности при сниженных температурах. При этом чувствительность I_{Kr} , I_{Na} и электрической активности в целом к воздействию 3-метилфенантрена возрастает.

3. В изолированных желудочковых миоцитах мыши фенантрен и 3-метилфенантрен ингибируют калиевые токи (транзиторный I_{to} и ультрабыстрый I_{Kur}), а также I_{Na} в концентрациях от 10 мкМ, что приводит к замедлению реполяризации и деполяризации ПД без изменений потенциала покоя. Токи, переносимые человеческими изоформами порообразующих субъединиц каналов $Kv11.1$ и $Nav1.5$, слабо чувствительны к воздействию 3-метилфенантрена. Таким образом, электрическая активность в кардиомиоцитах млекопитающих многократно устойчивее к воздействию трициклических ПАУ, чем у рыб.

Степень достоверности данных. Полученные в ходе работы данные достоверны, воспроизводимы и получены с использованием целесообразных современных экспериментальных методик. Обзор литературы и обсуждение подготовлены с использованием актуальных научных источников.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликованы 6 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и отрасли науки.

Апробация результатов. Результаты настоящей диссертационной работы в виде устных докладов были представлены на всероссийских и международных конференциях: «Ионные каналы сердечно-сосудистой системы в норме и патологии»

(РНИМУ им. Н.И.Пирогова, Москва, 19-20 сентября, 2024), «VIII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ» (Сочи, 23-28 апреля, 2025), «II Самойловские чтения. Современные проблемы физиологии» к 150-летию кафедры физиологии человека и животных» (Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 30 января – 1 февраля, 2026).

Диссертационная работа апробирована на заседании кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова 19 февраля 2026 года.

Личный вклад автора. Личный вклад соискателя, Джуманиязовой Ирины Хамрабековны, присутствует на всех этапах работы. Она планировала и проводила электрофизиологические эксперименты, ухаживала за животными и вела клеточную культуру, трансфицировала клетки целевыми плазмидами, обрабатывала полученные результаты и проводила статистический анализ, выступала на конференциях, готовила тексты статей к публикации и участвовала в публикационном процессе, в т.ч. в ответах рецензентам и редакции текста статей в соответствии с замечаниями.

Структура и объем диссертации. Материалы диссертационного исследования изложены на 147 страницах. Работа имеет классическую структуру и включает введение, обзор литературы по теме исследования, описание методов исследования, описание результатов и их обсуждение, заключение, выводы, а также список цитируемой литературы (всего 275 источников). Работа содержит 13 таблиц и 47 рисунков.

II. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Во введении обозначены актуальность исследования и степень разработанности научной темы, сформулированы цели и задачи, аргументирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, описана методология и методы исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы. В обзоре литературы представлены современные данные о круговороте полициклических ароматических углеводов в биосфере, их источниках и способах разложения. Описано их влияние на физиологические процессы, особенно на развитие новообразований и функционирование сердечно-сосудистой системы рыб. Кроме того, представлена информация об основных ионных

токах, лежащих в основе электрической активности кардиомиоцитов рыб, мыши и человека.

Материалы и методы

Модельные организмы и культуры клеток. Для оценки влияния водорастворимой фракции нефти (ВРФ) и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) на электрическую активность сердца использовали северную навагу (*Eleginus nawaga*, N=32, масса $123,2 \pm 10,4$ г). Работы проводили на Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова в зимних (февраль-март) или летних (июль-август) условиях и были одобрены Комиссией по биоэтике МГУ (Заявка №164-ж). Для оценки эффектов ПАУ на сердце млекопитающих использовали мышь домовую (*Mus musculus*, N=23, масса $27,6 \pm 1,3$ г). Работу с животными проводили согласно Директиве 2010/63/EU и ГОСТ 33215-2014, 33216-2014, 33219-2014. Для оценки влияния ПАУ на ионные каналы человека использовали гетерологическую экспрессионную систему СНО-К1.

Регистрация ионных токов в кардиомиоцитах наваги. Суспензию кардиомиоцитов получали ретроградной перфузией раствором с коллагеназой IA (0,35 мг/мл), трипсином IX (0,15 мг/мл) и БСА (0,35 мг/мл). Токи и потенциалы действия регистрировали методом пэтч-кламп (whole-cell) при $12 \pm 0,5^\circ\text{C}$ или $7 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (сезонная акклиматизация). Для потенциалов действия и калиевых токов использовали внешний раствор (ммоль/л): 150 NaCl, 3 KCl, 1,2 MgCl₂, 5 HEPES, 1 CaCl₂, pH 7,4; пипеточный: 140 KCl, 1 MgCl₂, 5 ЭДТА, 4 MgATP, 0,3 Na₂GTP, 10 HEPES, pH 7,2. I_{Kr} идентифицировали по чувствительности к E-4031 (2 μM), I_{K1} — к Ba²⁺ (2 mM). Для I_{Na}: внешний раствор — 20 NaCl, 120 CsCl, 1 MgCl₂, 0,5 CaCl₂, 10 HEPES, нифедипин 20 μM, pH 7,7; пипеточный — 5 NaCl, 130 CsCl, 1 MgCl₂, 5 ЭДТА, 5 Mg₂ATP, 5 HEPES, pH 7,2. Для I_{Ca,L}: внешний — 150 NaCl, 3 CsCl, 1,2 MgCl₂, 5 HEPES, 2 CaCl₂, pH 7,4; пипеточный — 130 CsCl, 1 MgCl₂, 5 ЭДТА, 15 хлорид тетраэтиламмония, 4 MgATP, 0,3 Na₂GTP, pH 7,2. Протоколы изменения мембранных потенциалов указаны на рисунках.

Регистрация ионных токов в кардиомиоцитах мыши. Кардиомиоциты получали перфузией по Лангендорфу с коллагеназой II (0,5 мг/мл). Регистрацию проводили при 24°C. Составы растворов для потенциалов действия и калиевых токов аналогичны наваге. I_{Kur} идентифицировали по чувствительности к 4-аминопиридину

(100 μM), I_{to} — к 3 мМ 4-аминопиридина, I_{K1} — к Ba^{2+} (2 мМ). Для I_{Na} : внешний — 120 Трис-Cl, 20 NaCl, 5,4 CsCl, 1,2 MgCl_2 , 1,8 CaCl_2 , 5 HEPES, нифедипин 20 μM , pH 7,4; пипеточный — 10 NaCl, 130 CsCl, 1 MgCl_2 , 5 ЭДТА, 5 Mg_2ATP , 5 HEPES, pH 7,2. Составы для $I_{\text{Ca,L}}$ аналогичны наваге. Протоколы изменения мембранных потенциалов указаны на рисунках.

Регистрация токов I_{hERG} и I_{hSCN5A} в системе *CHO-K1*. Клетки культивировали в DMEM-F12 (37°C, 5% CO_2) и трансфицировали липофектаминоом 3000 векторами pSI-KCNH2 ($\text{K}_v11.1/\text{hERG}$) или pcDNA3.1-SCN5A ($\text{Na}_v1.5$) совместно с pMAX-GFP. Токи регистрировали через 48 ч после трансфекции при 24°C. Для I_{hERG} : внешний раствор — 150 NaCl, 5,4 KCl, 1,2 MgCl_2 , 5 HEPES, 1 CaCl_2 , pH 7,3; пипеточный — 140 KCl, 1 MgCl_2 , 5 ЭДТА, 10 HEPES, 4 MgATP , 0,03 Na_2GTP , pH 7,2. Для I_{hSCN5A} : внешний раствор — 20 NaCl, 120 CsCl, 1 MgCl_2 , 0,5 CaCl_2 , 10 HEPES, pH 7,4; пипеточный — 5 NaCl, 130 CsCl, 1 MgCl_2 , 5 ЭДТА, 5 MgATP , 5 HEPES, pH 7,2. Протоколы изменения мембранных потенциалов указаны на рисунках.

Апликация соединений. Записи проводили через 5–10 мин перфузии раствором с исследуемым соединением. Содержание ДМСО не превышало 1:1000.

Статистическая обработка. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Использовали t-тест Стьюдента, тесты Краскела-Уоллиса и Фридмана с апостериорным тестом Данна, RM-ANOVA с тестом Сидака, точный тест Фишера. Анализ проводили в GraphPad Prism v.8.

Результаты исследования

Влияние водорастворимой фракции нефти на электрическую активность желудочковых кардиомиоцитов наваги. ВРФ в концентрации 0,1% не вызвала значимых изменений параметров ПД. Концентрации 1% и 10% статистически значимо увеличивали ДПД50 с $353,9 \pm 37,8$ мс до $425,2 \pm 56,4$ мс и $417,4 \pm 54,5$ мс, а ДПД90 — с $521,7 \pm 54,1$ мс до $584,8 \pm 67,1$ мс и $559,2 \pm 68,2$ мс соответственно ($n=7$, см. рис.1). Амплитуда, максимальная скорость деполяризации и потенциал покоя не изменялись. Наиболее чувствительным к ВРФ оказался I_{Kr} ($\text{IC}_{50} = 3,15 \pm 0,48\%$). I_{K1} и I_{Na} были нечувствительны к 10% ВРФ. $I_{\text{Ca,L}}$ снижался при 1% и 10% ВРФ с $-0,35 \pm 0,04$ пА/пФ до $-0,25 \pm 0,05$ пА/пФ и $-0,21 \pm 0,03$ пА/пФ соответственно (см.рис.2).

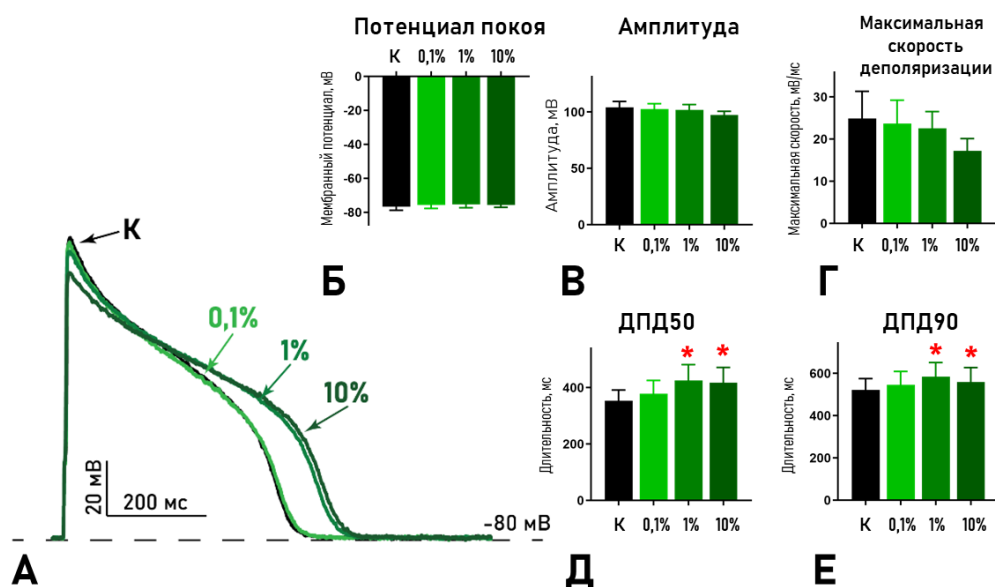


Рисунок 1. Влияние ВРФ на параметры потенциала действия (ПД) желудочковых миоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*). А. Репрезентативные записи ПД при 0,1%, 1% и 10% ВРФ. Б–Е. Изменения потенциала покоя (Б), амплитуды ПД (В), максимальной скорости деполаризации (Г), ДПД50 (Д) и ДПД90 (Е). $n=7$ ($N=3$). * — $p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с тестом Данна.

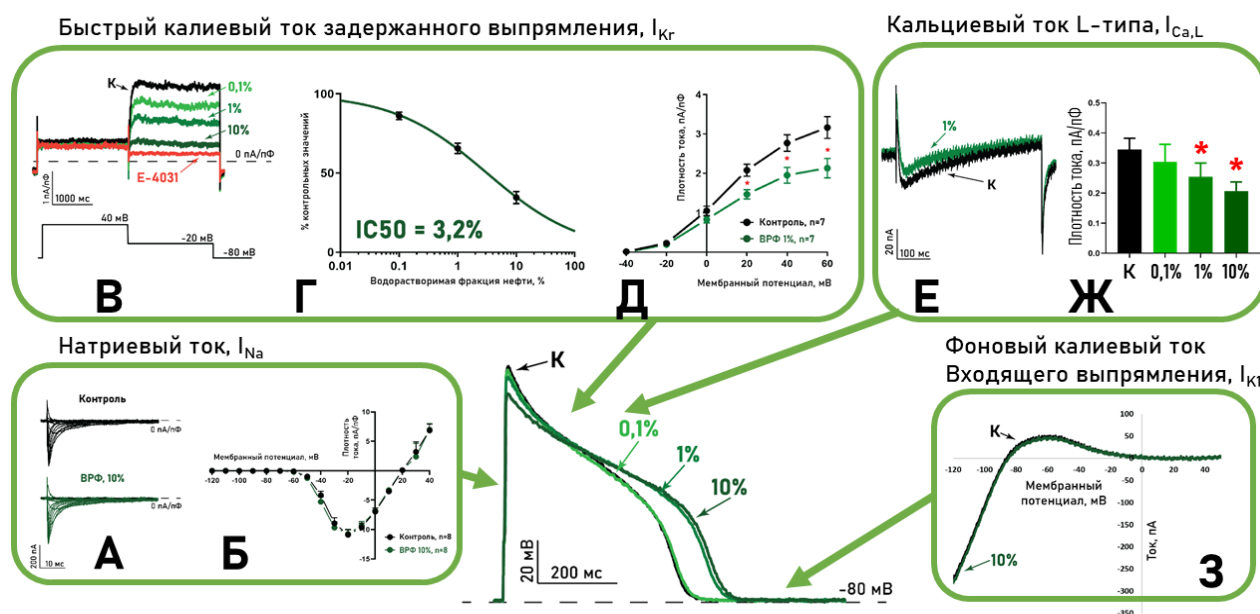


Рисунок 2. Влияние ВРФ на параметры основных ионных токов желудочковых миоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*). А, Б. Репрезентативная запись и вольт-амперная характеристика I_{Na} (контроль и 10% ВРФ). В–Д. Записи I_{Kr} при разных концентрациях ВРФ и E-4031 (В), нормализованная амплитуда хвостового тока (Г, $n=7$, $N=5$), вольт-амперная характеристика (Д, контроль и 1% ВРФ). Е, Ж. Запись и плотность $I_{Ca,L}$ (контроль и ВРФ, $n=7-8$, $N=4$). З. Запись I_{K1} (контроль и 10% ВРФ). * — $p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с тестом Данна.

Среди исследованных ионных токов желудочковых кардиомиоцитов наваги наиболее чувствительным к ВРФ оказался I_{Kr} ($IC_{50}=3,2\%$), что соответствует увеличению длительности потенциала действия под влиянием 1% и 10% ВРФ. Кальциевый ток $I_{Ca,L}$ обладал меньшей чувствительностью, тогда как I_{Na} и I_{K1} оказались устойчивы к ВРФ. Отсутствие влияния ВРФ на I_{Na} объясняется тем, что концентрация отдельных ПАУ в смеси достаточна для блокады высокочувствительного I_{Kr} , но ниже порога чувствительности I_{Na} .

Влияние фенантрена и 3-метилфенантрена на электрическую активность желудочковых кардиомиоцитов наваги. Фенантрен (10 μ М) увеличивал ДПД50 с $522,9\pm 10,0$ мс до $917,2\pm 99,7$ мс и ДПД90 с $599,7\pm 3,69$ мс до $1034\pm 59,9$ мс. Прочие параметры ПД оставались неизменными (см.рис.3).

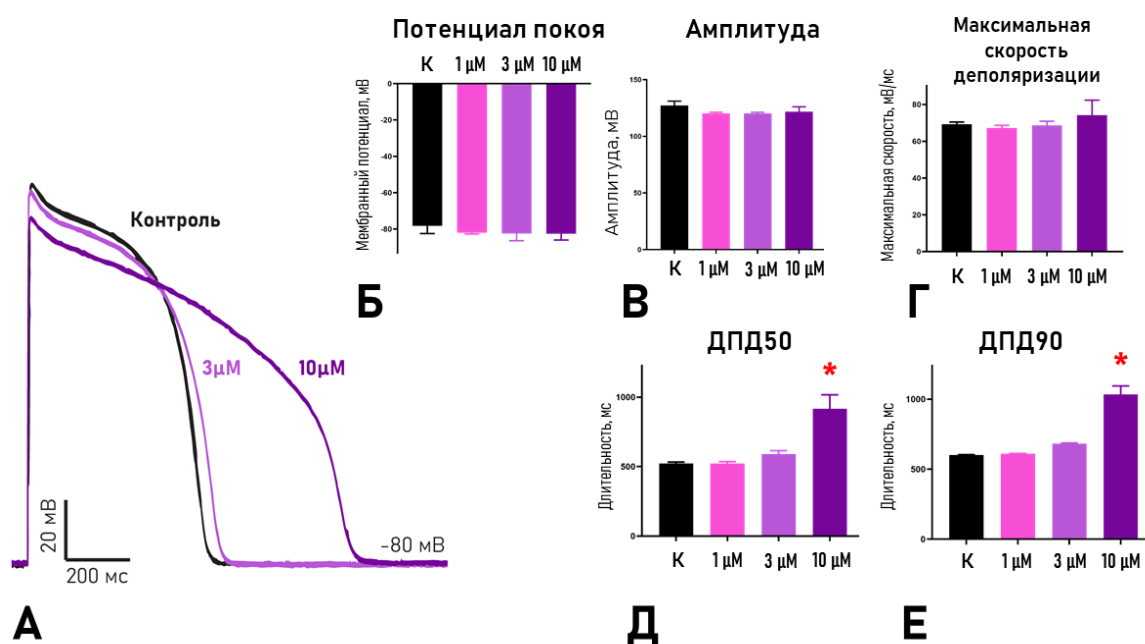


Рисунок 3. Влияние фенантрена (Φ) на параметры потенциала действия (ПД) желудочковых миоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*). А. Репрезентативные записи ПД при 3 и 10 μ М Φ . Б–Е. Изменения потенциала покоя (Б), амплитуды ПД (В), максимальной скорости деполяризации (Г), длительности ПД на уровне 50% реполяризации, ДПД50 (Д) и длительности ПД на уровне 90% реполяризации, ДПД90 (Е). $n=13$ ($N=5$). * — $p<0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с тестом Данна.

IC_{50} для I_{Kr} составила $1,95\pm 0,27$ μ М. Только 10 μ М фенантрена снижали I_{Na} на $16,8\pm 1,81\%$. $I_{Ca,L}$ уменьшался на $14,5\pm 2,95\%$ и $28,3\pm 4,55\%$ при 10 μ М и 30 μ М соответственно. I_{K1} был нечувствителен к фенантрена (см.рис.4).

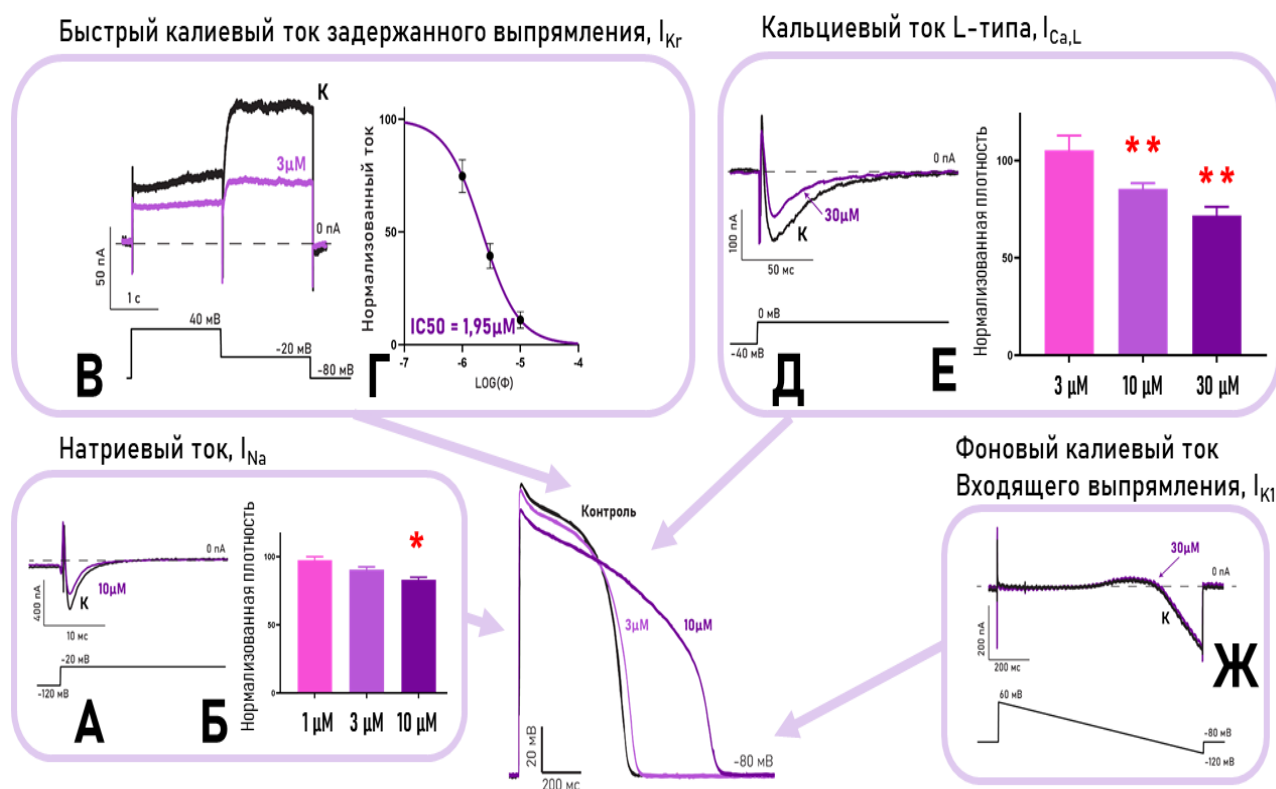


Рисунок 4. Влияние фенантрена (Φ) на параметры основных ионных токов желудочковых миоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*). А, Б. Репрезентативная запись и нормализованная плотность I_{Na} (контроль и Φ). В, Г. Записи I_{Kr} и нормализованная амплитуда хвостового тока при разных концентрациях Φ. Д, Е. Репрезентативная запись и нормализованная $I_{Ca,L}$ (контроль и Φ). Ж. Репрезентативная запись I_{K1} (контроль и 30 μM Φ). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, однофакторный дисперсионный анализ с тестом Данна.

3-МФ (1 μM и 3 μM) увеличивал ДПД50 с $541,6 \pm 34,4$ мс до $656,7 \pm 42,0$ мс и $780,6 \pm 80,4$ мс, ДПД90 — с $636,6 \pm 37,7$ мс до $736,4 \pm 42,1$ мс и $873,9 \pm 86,5$ мс. Максимальная скорость деполяризации снижалась с $18,4 \pm 2,67$ мВ/мс до $14,7 \pm 1,74$ мВ/мс и $12,9 \pm 2,01$ мВ/мс, амплитуда ПД — с $100,7 \pm 2,89$ мВ до $91,9 \pm 3,91$ мВ и $88,9 \pm 4,78$ мВ. Потенциал покоя не изменялся (см.рис.5). IC_{50} для I_{Kr} составила $503,7 \pm 0,57$ нМ, для I_{Na} — $7,86 \pm 0,98$ μM. 3-МФ вызывал сдвиг кривых активации и инактивации I_{Na} влево. При 3 μM 3-МФ ускорялась инактивация $I_{Ca,L}$ (τ снижалась с $53,5 \pm 2,25$ мс до $46,5 \pm 3,23$ мс) без изменения амплитуды. I_{K1} был нечувствителен к 3-МФ (см.рис.6).

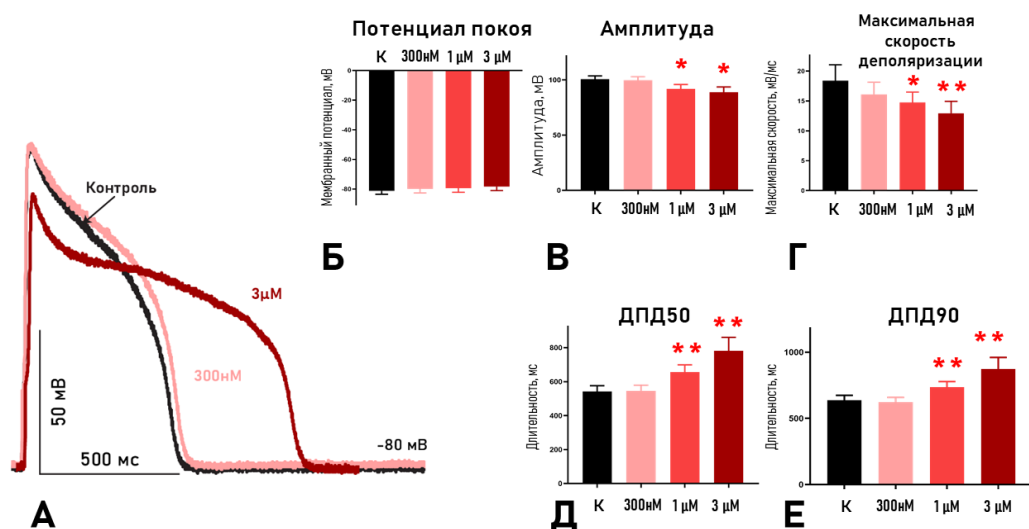


Рисунок 5. Влияние 3-метилфенантрена (3-МФ) на параметры потенциала действия (ПД) желудочковых миоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*). А. Репрезентативные записи ПД при 300 нМ и 3 мМ 3-МФ. Б–Е. Изменения потенциала покоя (Б), амплитуды ПД (В), максимальной скорости деполяризации (Г), длительности ПД на уровне 50% реполяризации, ДПД50 (Д) и длительности ПД на уровне 90% реполяризации, ДПД90 (Е). $n=13-16$ ($N=7$). * $p<0,05$, ** $p<0,01$, однофакторный дисперсионный анализ с тестом Данна.

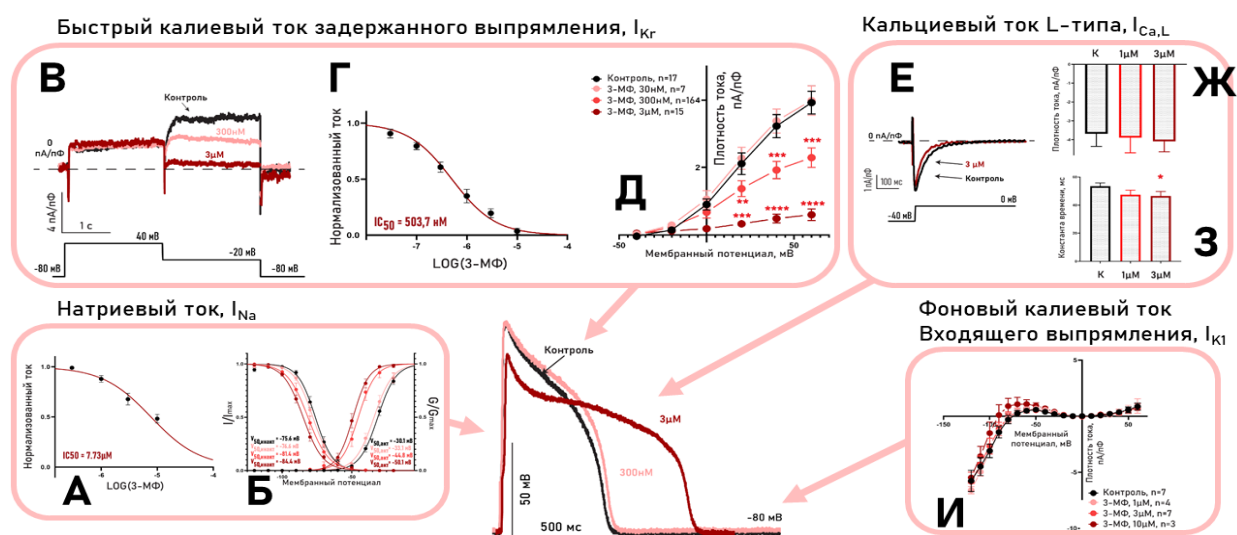


Рисунок 6. Влияние 3-метилфенантрена (3-МФ) на параметры основных ионных токов желудочковых миоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*). А, Б. Нормализованная амплитуда I_{Na} ($n=7-12$, $N=6$) и кривые активации/инактивации при разных концентрациях 3-МФ. В–Д. Репрезентативные записи I_{Kr} , нормализованная амплитуда хвостового тока и вольт-амперная характеристика (контроль и 3-МФ). Е–З. Запись, плотность ($n=8-15$, $N=3$) и константа времени $I_{Ca,L}$. И. Вольт-амперная характеристика I_{K1} при разных концентрациях 3-МФ. ***, **** $p<0,001$; $p<0,0001$, двухфакторный анализ с тестом Сидака; * $p<0,05$, однофакторный анализ с тестом Данна.

Фенантрен и 3-метилфенантрен ингибировали I_{Kr} , причём 3-МФ оказался на порядок более эффективным ($IC_{50} \sim 500$ нМ против ~ 2 μ М). Оба соединения блокировали I_{Na} , но 3-метилфенантрен вызывал более выраженное подавление и сдвиг кривых активации и инактивации влево. Фенантрен снижал амплитуду $I_{Ca,L}$, тогда как 3-МФ ускорял его инактивацию без изменения амплитуды. Повышенная эффективность 3-МФ объясняется наличием метильной группы, облегчающей взаимодействие с поровыми участками каналов.

Влияние сезонной акклиматизации наваги на чувствительность желудочковых кардиомиоцитов к 3-метилфенантрину

Влияние акклиматизации на параметры электрической активности. У животных, акклиматизированных к летним условиям, ДПД50 и ДПД90 ($773,8 \pm 49,2$ мс и $909,4 \pm 53,8$ мс) были значимо больше, чем у акклиматизированных к зимним условиям ($424,0 \pm 24,8$ мс и $507,9 \pm 28,6$ мс). (см. рис.7).

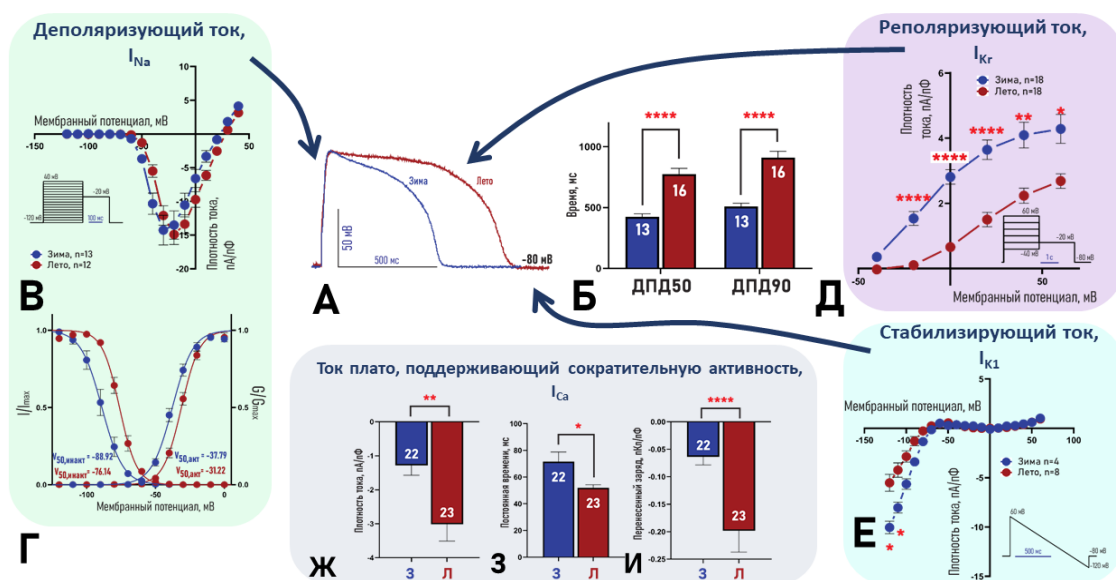


Рисунок 7. Влияние сезонной акклиматизации на параметры потенциала действия (ПД) и основные ионные токи желудочковых миоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*). А, Б. Записи ПД и изменения длительности ПД на уровне 50% реполяризации (ДПД50)/ изменения длительности ПД на уровне 90% реполяризации (ДПД90) при зимней и летней акклиматизации (**** $p < 0,0001$, t-тест). В, Г. Вольт-амперная характеристика и кривые активации/инактивации I_{Na} . Д, Е. Вольт-амперные характеристики I_{Kr} и I_{K1} . Ж–И. Плотность, кинетика инактивации и перенесённый заряд $I_{Ca,L}$. *, **, **** $p < 0,05$; 0,01; 0,0001, двухфакторный анализ с тестом Сидака (Д, Е) или t-тест (Ж–И).

Прочие параметры ПД не отличались. При зимней акклиматизации увеличивалась плотность I_{Kr} , кривые активации и инактивации I_{Na} сдвигались влево. Амплитуда $I_{Ca,L}$ снижалась с $-2,44 \pm 0,33$ пА/пФ до $-1,28 \pm 0,29$ пА/пФ, τ увеличивалась с $52,0 \pm 2,22$ мс до $66,1 \pm 5,02$ мс. I_{K1} не изменялся.

Чувствительность к 3-метилфенантрону при разных условиях акклиматизации. 300 нМ 3-МФ вызывали значимое увеличение ДПД50 и ДПД90 только у животных, акклиматизированных к зимним условиям (см.рис.8). IC50 для I_{Kr} составила $49,7 \pm 0,53$ нМ (зима) и $527,1 \pm 5,28$ нМ (лето). IC50 для I_{Na} составила $2,39 \pm 0,30$ мкМ (зима) и $7,73 \pm 0,96$ мкМ (лето). 3-МФ вызывал сдвиг кривых активации и инактивации I_{Na} влево и ускорение инактивации $I_{Ca,L}$ в обоих условиях. I_{K1} был нечувствителен к 3-МФ (см.рис.9).

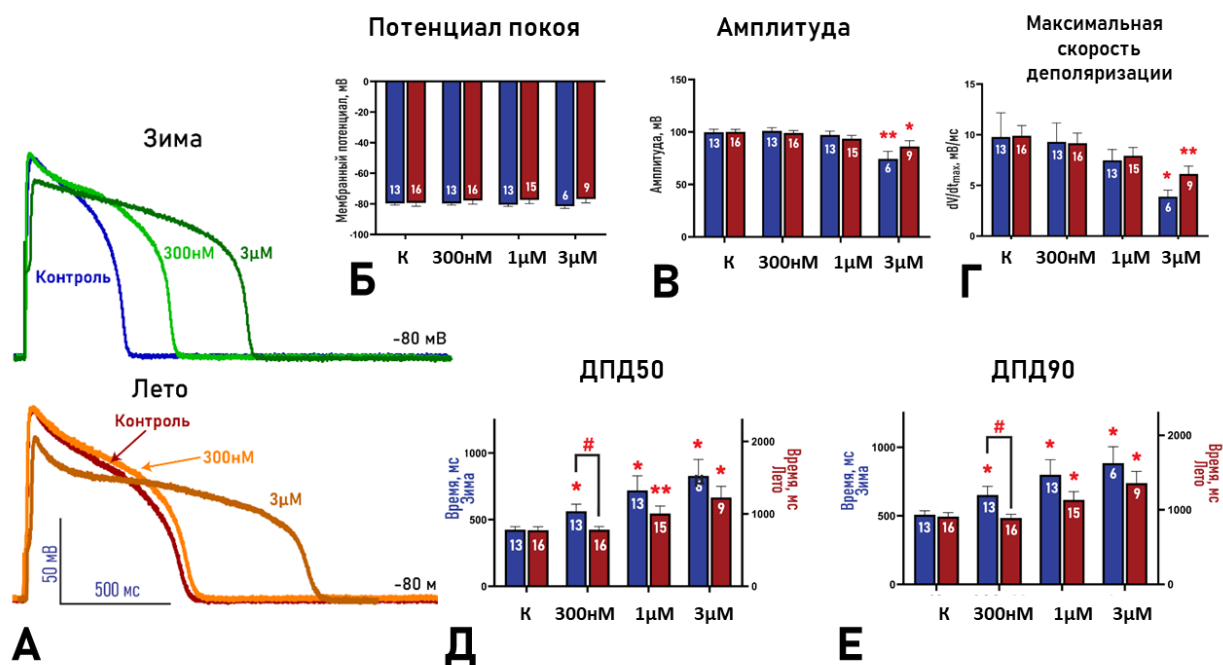


Рисунок 8. Влияние 3-метилфенантрена (3-МФ) на параметры потенциала действия (ПД) желудочковых кардиомиоцитов северной наваги (*Eleginus nawaga*), акклиматизированной к зимним или летним условиям. А. Записи ПД при зимней и летней акклиматизации (контроль и 3-МФ). Б–Е. Влияние 3-МФ на потенциал покоя (Б), амплитуду ПД (В), dV/dt_{max} (Г), длительности ПД на уровне 50% реполяризации, ДПД50 (Д) и длительности ПД на уровне 90% реполяризации, ДПД90 (Е). $n=13$ ($N=7$, зима), $n=16$ ($N=8$, лето). *, **, **** $p < 0,05$; 0,01; 0,0001; # $p < 0,05$ (сравнение зима/лето) — двухфакторный анализ со смешанными эффектами, тест Данна.

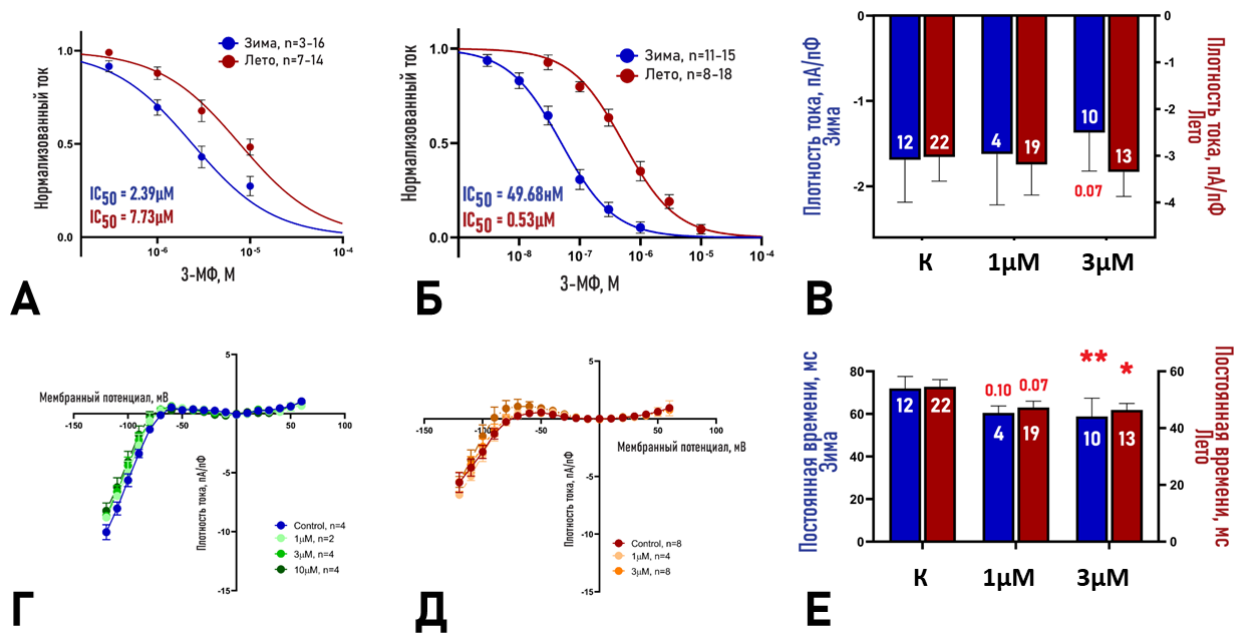


Рисунок 9. Влияние сезонной акклиматизации на чувствительность основных ионных токов к 3-метилфенантрону (3-МФ). А–В. Нормализованная амплитуда I_{Na} (А), хвостового тока I_{Kr} (Б) и плотность $I_{Ca,L}$ (В) при разных концентрациях 3-МФ. Г, Д. Вольт-амперная характеристика I_{K1} при зимней (Г) и летней (Д) акклиматизации. Е. Константа времени $I_{Ca,L}$ при разных концентрациях 3-МФ. *, ** $p < 0,05$; 0,01, mixed-effects ANOVA с тестом Данна.

Чувствительность I_{Kr} к 3-метилфенантрону у зимней наваги была на порядок выше ($IC_{50} \sim 50$ нМ против ~ 500 нМ), чувствительность I_{Na} также возрастала. Сезонные изменения могут быть связаны с изменениями субъединичного состава каналов, что демонстрирует вариабельность уязвимости рыб к загрязнению в течение года.

Влияние фенантрена и 3-метилфенантрена на электрическую активность желудочковых кардиомиоцитов мышцы. Только 30 μ M фенантрена снижали амплитуду ПД с $125,2 \pm 3,05$ мВ до $120,3 \pm 4,07$ мВ, максимальную скорость деполяризации с $235,4 \pm 25,7$ мВ/мс до $218,1 \pm 25,9$ мВ/мс, увеличивали ДПД50 с $4,2 \pm 0,45$ мс до $5,06 \pm 0,62$ мс и ДПД80 с $12,7 \pm 2,18$ мс до $17,2 \pm 2,54$ мс (см.рис.10). IC_{50} составила: для I_{to} — $14,4 \pm 3,00$ μ M, для I_{Kur} — $86,2 \pm 2,97$ μ M, для I_{Na} — $64,3 \pm 19,3$ μ M, для $I_{Ca,L}$ — $27,6 \pm 3,93$ μ M. I_{K1} оставался нечувствительным к влиянию Ф (см.рис.11).

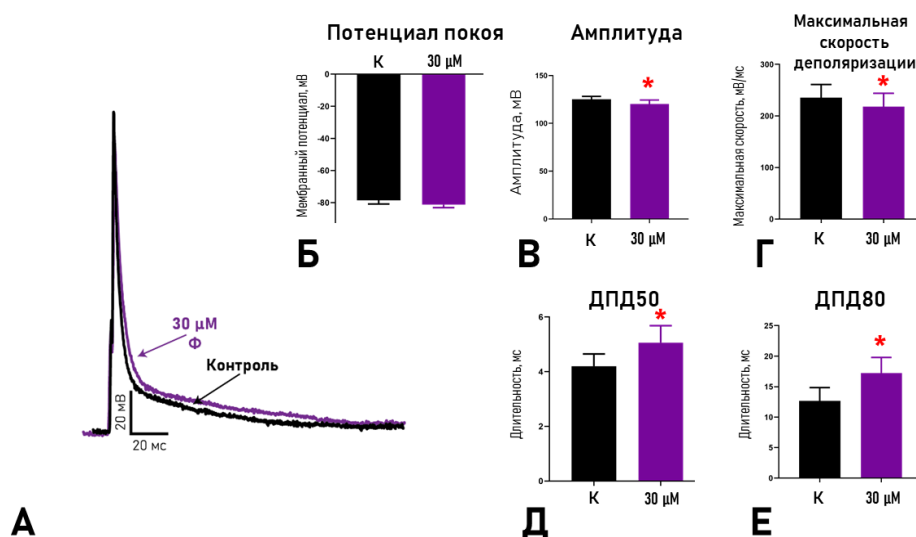


Рисунок 10. Влияние фенантрена (Ф) на параметры потенциала действия (ПД) желудочковых миоцитов мыши (*Mus musculus*). А. Репрезентативные записи ПД в присутствии 30μМ Ф. Б. Изменения потенциала покоя в присутствии Ф. В. Изменения амплитуды ПД в присутствии Ф. Г. Изменения максимальной скорости деполяризации в присутствии Ф. Д-Е. Изменения длительности потенциала действия на уровне 50% реполяризации (ДПД50, Д) или 90% реполяризации (ДПД90, Е) в присутствии Ф. n=9 (N=4) миоцитов. * - $p < 0,05$ при проведении парного t-теста

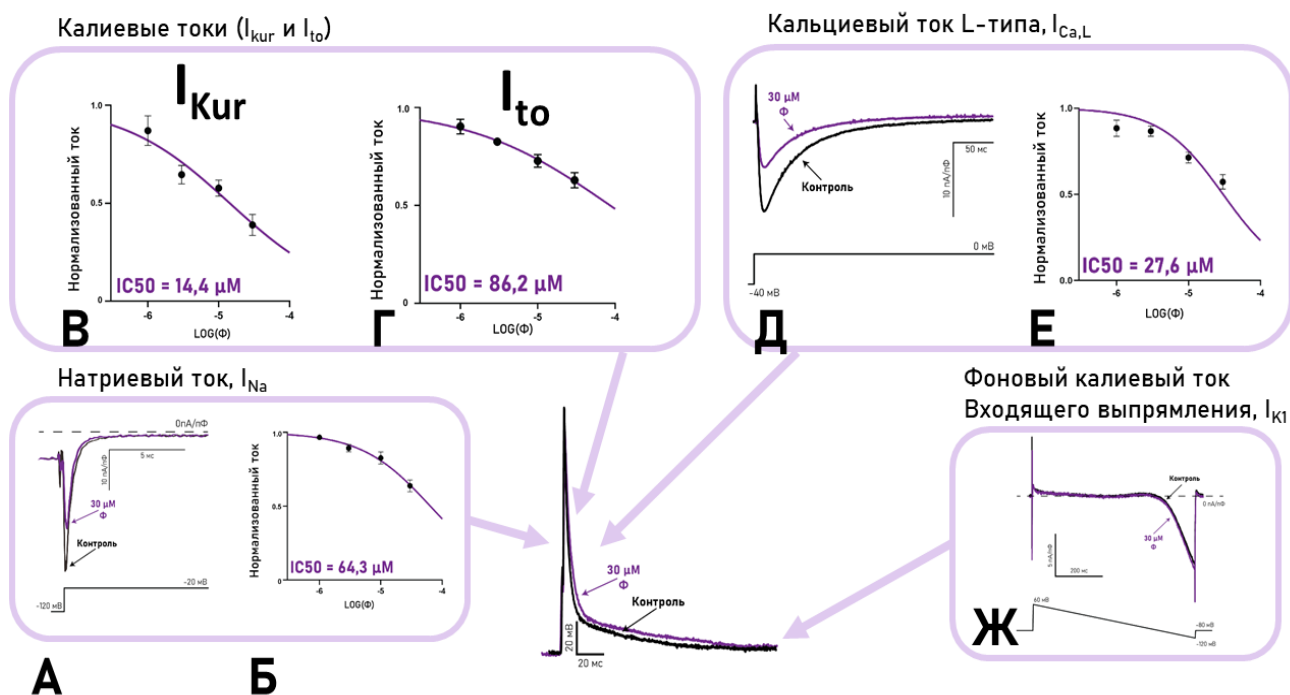


Рисунок 11. Влияние фенантрена (Ф) на параметры основных ионных токов желудочковых миоцитов мыши (*Mus musculus*). А, Б. Репрезентативная запись и нормализованная плотность I_{Na} (контроль и Ф). В, Г. Нормализованная плотность I_{Kur} и I_{to}

при разных концентрациях Ф. Д, Е. Репрезентативная запись и нормализованная плотность $I_{Ca,L}$ (контроль и Ф). Ж. Репрезентативная запись I_{K1} (контроль и 30 μM Ф). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, однофакторный дисперсионный анализ с тестом Данна.

30 μM 3-МФ увеличивали ДПД80 с $7,42 \pm 1,60$ мс до $8,68 \pm 2,00$ мс. 10 μM и 30 μM снижали максимальную скорость деполяризации с $237 \pm 11,1$ мВ/мс до $216 \pm 13,8$ мВ/мс и $216 \pm 11,8$ мВ/мс. ДПД50, амплитуда и потенциал покоя не изменялись (см.рис.12). IC_{50} составила: для I_{to} — $12,1 \pm 1,91$ μM , для I_{Kur} — $6,50 \pm 0,90$ μM , для I_{Na} — $35,0 \pm 5,27$ μM . 3-МФ вызывал сдвиг кривых активации и инактивации I_{Na} влево. $I_{Ca,L}$ не изменялся по амплитуде, но 30 μM 3-МФ ускоряли инактивацию (медленная τ снижалась с $103 \pm 19,5$ мс до $52,3 \pm 3,11$ мс, быстрая — с $21,2 \pm 2,53$ мс до $14,4 \pm 1,20$ мс). I_{K1} оставался нечувствительным к влиянию 3-МФ (см.рис.13).

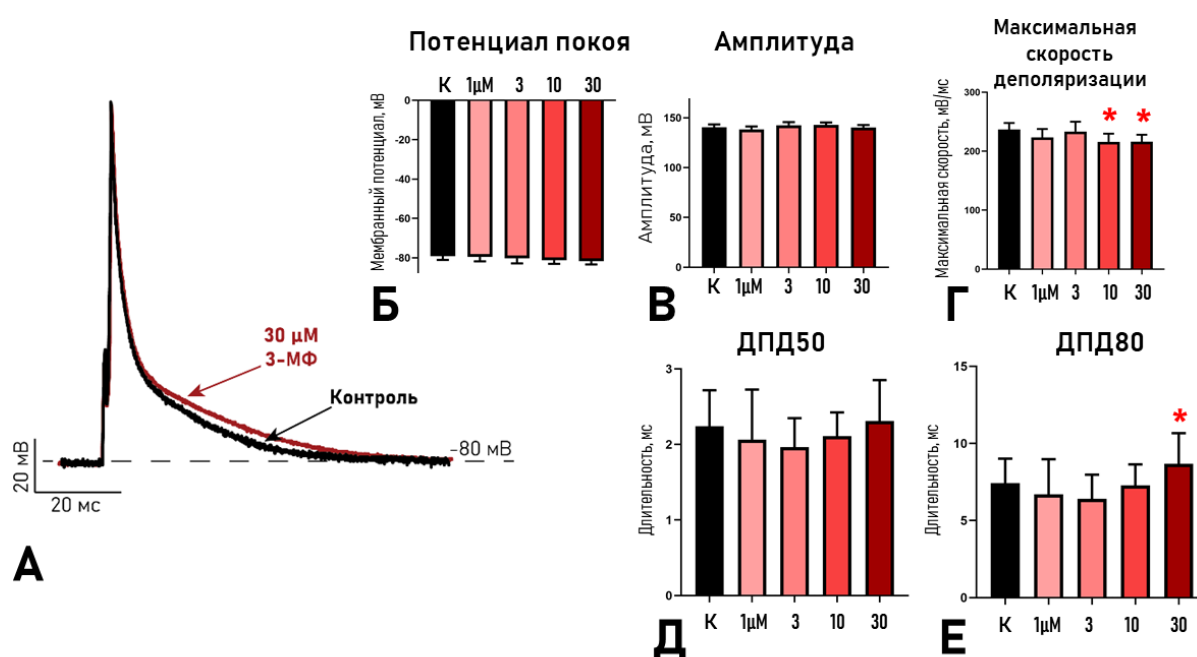


Рисунок 12. Влияние 3-метилфенантрена (3-МФ) на параметры потенциала действия (ПД) желудочковых миоцитов мыши (*Mus musculus*). А. Репрезентативные записи ПД в присутствии 30 μM 3-МФ. Б. Изменения потенциала покоя в присутствии 3-МФ. В. Изменения амплитуды ПД в присутствии 3-МФ. Г. Изменения максимальной скорости деполяризации в присутствии 3-МФ. Д-Е. Изменения длительности потенциала действия на уровне 50% реполяризации (ДПД50, Д) или 90 % реполяризации (ДПД90, Е) в присутствии 3-МФ. $n=6-10$ ($N=6$) миоцитов. * - $p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с апостериорным тестом Данна.

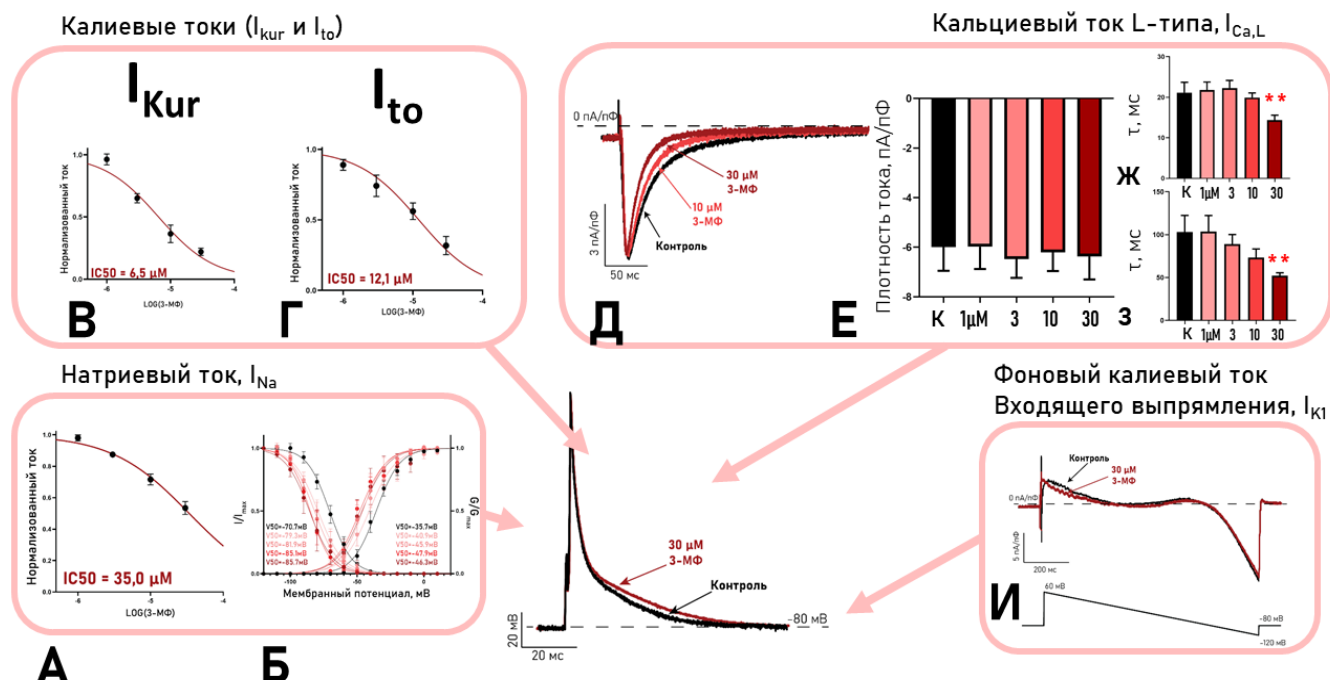


Рисунок 13. Влияние 3-метилфенантрена (3-МФ) на параметры основных ионных токов желудочковых миоцитов мыши (*Mus musculus*). А, Б. Репрезентативная запись и нормализованная плотность I_{Na} (контроль и 3-МФ). В, Г. Нормализованная плотность I_{Kur} и I_{to} при разных концентрациях Ф. Д, Е, Ж, З. Репрезентативная запись, нормализованная плотность, быстрая константа времени и медленная константа времени инактивации $I_{Ca,L}$ (контроль и 3-МФ). Ж. Репрезентативная запись I_{K1} (контроль и 30 μ М Ф). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, однофакторный дисперсионный анализ с тестом Данна.

В целом ионные токи кардиомиоцитов мыши оказались более устойчивы к ПАУ, чем токи кардиомиоцитов наваги, однако 3-МФ является более эффективным ингибитором по сравнению со своим родительским соединением.

Влияние 3-метилфенантрена на токи I_{hERG} и I_{hSCN5A} в системе СНО-К1. I_{hERG} был чувствителен к 3-МФ ($IC_{50} = 38,2 \mu$ М). I_{hSCN5A} был нечувствителен к 3-МФ — даже 10 μ М не вызывали изменений параметров тока (см.рис.14).

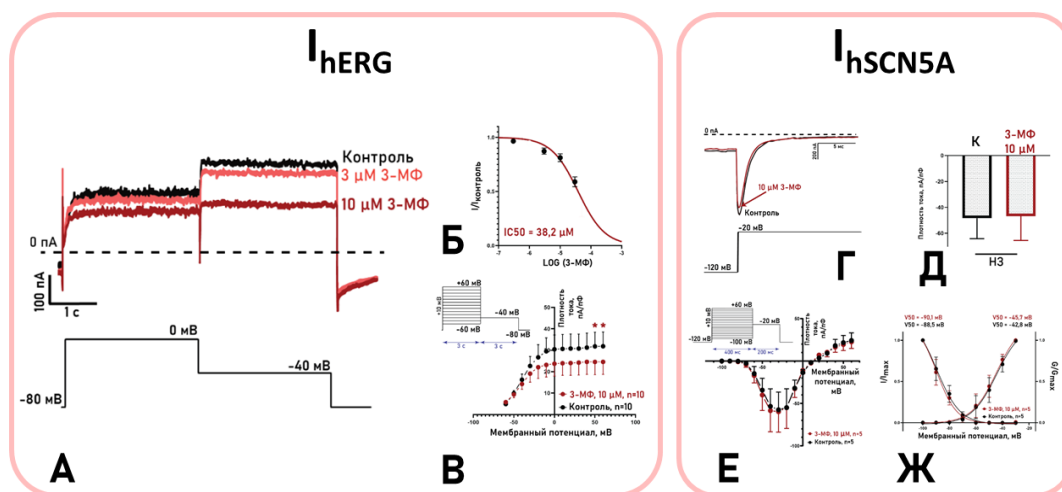


Рисунок 14. Влияние 3-метилфенантрена (3-МФ) на токи, переносимые человеческими изоформами порообразующих каналов $K_v11.1$ (I_{hERG}) и $Na_v1.5$ (I_{hSCN5A}). А, Б, В. Репрезентативная запись, нормализованная плотность и вольт-амперная характеристика I_{hERG} (контроль и 3-МФ). Г, Д, Е, Ж. Репрезентативная запись, плотность тока при -20 мВ, вольт-амперная характеристика и кривые стационарной активации и инактивации I_{hSCN5A} (контроль и $10 \mu\text{M}$ 3-МФ).

Вопреки ожиданиям, 3-МФ не влиял на I_{hSCN5A} , хотя в нативных кардиомиоцитах эффективно блокировал натриевый ток. Чувствительность натриевого тока в нативных клетках, вероятно, обусловлена наличием вспомогательных регуляторных субъединиц, отсутствующих в гетерологической системе.

III. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе исследованы электрофизиологические механизмы токсического воздействия водорастворимой фракции нефти (ВРФ) и отдельных трициклических полиароматических углеводородов (фенантрена и 3-метилфенантрена) на электрическую активность сердца на уровне изолированных желудочковых кардиомиоцитов, а также на уровне токов, переносимых отдельными порообразующими субъединицами ионных каналов человека в гетерологической экспрессионной системе.

На модели северной наваги показано, что водорастворимая фракция нефти способна существенно модифицировать электрическую активность желудочковых

кардиомиоцитов. Наиболее чувствительным к воздействию ВРФ оказался быстрый калиевый ток задержанного выпрямления I_{Kr} ; изменения этого тока согласуются с зарегистрированным удлинением потенциала действия (ПД) при воздействии ВРФ. При этом быстрый натриевый ток I_{Na} и стабилизирующий ток I_{K1} были относительно устойчивы к острому воздействию ВРФ, что отражалось в отсутствии выраженных изменений параметров, связанных с деполяризацией и потенциалом покоя в зарегистрированных ПД

Отдельное исследование фенантрена и 3-метилфенантрена на кардиомиоцитах наваги продемонстрировало, что оба соединения ингибируют I_{Kr} , однако выраженность эффекта различается, и 3-метилфенантрен проявляет более сильное воздействие на реполяризационный компонент по сравнению с фенантrenom. Наряду с влиянием на I_{Kr} установлено воздействие этих соединений на деполяризующие токи: фенантрен и 3-метилфенантрен в различной степени подавляли I_{Na} , причём 3-метилфенантрен характеризовался более выраженным эффектом, сопровождавшимся также изменениями параметров стационарной активации и инактивации. По совокупности наблюдений 3-метилфенантрен в энзиматически выделенных желудочковых кардиомиоцитах рыбы демонстрирует сочетанное влияние на реполяризацию и деполяризацию, что приводит к более выраженному изменению конфигурации ПД по сравнению с родительским соединением, фенантrenom, или сложной смеси углеводов (ВРФ).

Важным результатом является демонстрация зависимости чувствительности кардиомиоцитов к 3-метилфенантреному от сезонной температурной акклиматизации у северной наваги. Показано, что при зимней акклиматизации изменяются параметры электрической активности желудочковых кардиомиоцитов, и одновременно повышается чувствительность I_{Kr} к 3-метилфенантреному по сравнению с летним состоянием; сезонные различия затрагивают также I_{Na} , хотя в меньшей степени. Следовательно, уязвимость миокарда к действию трициклических ПАУ у данного эктотермного вида определяется физиологическим состоянием, связанным с акклиматизацией.

Для сопоставления с млекопитающими в работе исследовано влияние фенантрена и 3-метилфенантрена на электрическую активность желудочковых кардиомиоцитов мыши. Показано, что оба соединения подавляют основные

реполяризующие токи, характерные для желудочковых кардиомиоцитов мыши (I_{to} и I_{Kur}), что сопровождается увеличением длительности потенциала действия; при этом 3-метилфенантрен демонстрирует более выраженное ингибирование исследованных токов. Также установлено подавление быстрого натриевого тока, включая сдвиги параметров стационарной активации и инактивации. 3-метилфенантрен показал себя более эффективным блокатором этого тока. Дополнительно показано, что 3-метилфенантрен не уменьшает пиковую амплитуду кальциевого тока, но ускоряет его потенциал-зависимую инактивацию, что было подтверждено в экспериментах с заменой Ca^{2+} на Ba^{2+} и при блокаде рианодиновых рецепторов саркоплазматического ретикулума.

Наконец, на уровне отдельных человеческих порообразующих субъединиц, переносящих основные деполяризующий и реполяризующий токи, в гетерологической экспрессионной системе установлено, что ток I_{hERG} (переносится субъединицами $K_v11.1$) чувствителен к 3-метилфенантрону и при его воздействии изменяются параметры стационарной активации и инактивации, а также кинетика деактивации. В то же время 3-метилфенантрен не изменял параметры тока I_{hSCN5A} (переносится субъединицей $Na_v1.5$) в этих условиях, несмотря на выраженное подавление I_{Na} в нативных кардиомиоцитах исследованного млекопитающего - мыши. Данное несоответствие подчёркивает, что свойства натриевого тока могут существенно модифицироваться клеточным окружением и ассоциированными белками.

ВЫВОДЫ

1. Водорастворимая фракция (ВРФ) нефти марки Urals увеличивает длительность потенциала действия (ПД) желудочковых кардиомиоцитов северной наваги. Среди исследованных ионных токов наиболее чувствительным к ВРФ оказался I_{Kr} . ВРФ нефти также подавляла $I_{Ca,L}$, тогда как I_{Na} и I_{K1} были нечувствительны к ее воздействию.
2. Компонент ВРФ, 3-метилфенантрен (3-МФ) проявляет более выраженную кардиотоксичность для желудочковых кардиомиоцитов наваги по сравнению с родительским соединением, фенантреном (Ф): 3-МФ увеличивает длительность ПД, снижает его амплитуду и скорость деполяризации в концентрации 1 μM , тогда как фенантрен влияет на ПД только в концентрации 10 μM . 3-МФ эффективнее Ф

ингибирует I_{Kr} и I_{Na} , Φ снижает амплитуду $I_{Ca,L}$, тогда как 3-МФ ускоряет его инактивацию без изменения амплитуды. I_{K1} нечувствителен к обоим соединениям.

3. При зимней акклиматизации у наваги происходит уменьшение длительности ПД желудочковых кардиомиоцитов вследствие возрастания амплитуды I_{Kr} . Также зимняя акклиматизация приводит к изменению параметров активации и инактивации деполяризующих токов (I_{Na} , $I_{Ca,L}$) и снижению амплитуды $I_{Ca,L}$.
4. Зимняя акклиматизация усиливает кардиотоксические эффекты 3-МФ – в наибольшей степени за счет подавления I_{Kr} .
5. В желудочковых кардиомиоцитах мыши Φ и 3-МФ проявляют свои кардиотоксические эффекты в меньшей степени. Как и у наваги, 3-МФ эффективнее ингибирует реполяризующие (I_{Kur} , I_{to}) и основной деполяризующий (I_{Na}) токи, а стабилизирующий ток (I_{K1}) нечувствителен к обоим соединениям. Φ снижает амплитуду $I_{Ca,L}$, тогда как 3-МФ ускоряет его потенциал-зависимую инактивацию без изменения амплитуды.
6. Влияние 3-МФ на ток, переносимый человеческой изоформой $K_v11.1$ (I_{hERG}) в экспрессионной системе CHO-K1, существенно отличается от влияния на ток I_{Kr} у рыб. 3-МФ слабо подавляет амплитуду тока I_{hERG} , но изменяет параметры активации и деактивации этих каналов. Ток I_{hSCN5A} , переносимый человеческой изоформой $Na_v1.5$, нечувствителен к 3-МФ.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности 1.5.5.

Физиология человека и животных (биологические науки):

1. Джуманиязова И.Х., Пустовит О.Б., Абрамочкин Д.В. Влияние 3-метилфенантрена на ионные токи, переносимые каналами $K_v11.1$ и $Na_v1.5$ в гетерологической экспрессионной системе CHO-K1 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2024. – Т. 178. – № 12. – С. 774–780. EDN: MMFGTX. Импакт-фактор 0,478 (РИНЦ). (0,8085/0,6468)*
2. Филатова Т. С., Бородков А.С., Кархов А.М., Джуманиязова И.Х., Пустовит О.Б., Абрамочкин Д.В. Механизмы воздействия полиароматических углеводов

- нефти на электрическую активность сердца северной наваги (*Eleginus nawaga*) // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. — 2024. — Т. 79. — № 2S. — С. 89–97. EDN: GHYZSM. Импакт-фактор 0,318 (РИНЦ). (1,0395/0,2079)*
3. Абрамочкин Д.В., **Джуманиязова И.Х.**, Пустовит О.Б., Филатова Т.С. Адаптивные изменения электрической активности сердца эктотермных позвоночных при смене времен года // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. — 2025. — Т. 80. — №2. — С. 53-64. EDN: WVEJPP. Импакт-фактор 0,318 (РИНЦ). (1,386/0,2772).
 4. **Dzhumaniazova I.**, Filatova T.S., Shamshura A., Abramochkin D.V., Shiels H.A. Seasonal remodeling of the fish heart alters sensitivity to petrochemical pollutant, 3-methylphenanthrene // *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. — 2024. — vol. 288. — P. 110082. EDN: NYOJFW. Импакт-фактор 4,3 (JIF). (1,5015/0,9009)*
 5. Filatova T. S., Kuzmin V.S., **Dzhumaniazova I.**, Pustovit O.B., Abramochkin D.V., Shiels H.A. 3-Methyl-phenanthrene (3-MP) disrupts the electrical and contractile activity of the heart of the polar fish, navaga cod (*Eleginus nawaga*) // *Chemosphere*. — 2024. — vol. 357. — P. 142089. EDN: EBRJXW. Импакт-фактор 1,896 (SJR). (1,386/0,2772)*
 6. Abramochkin D.V., Shamshura A., **Dzhumaniazova I.**, Pustovit O.B., Mishchenko A.A. High temperature and hyperkalemia increase vulnerability of navaga cod (*Eleginus nawaga*) cardiomyocytes to the ecotoxicant 3-methyl-phenanthrene // *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*. — 2025. — vol. 299. — P. 111761. EDN: FVPPPJ. Импакт-фактор 2,2 (JIF). (0,693/0,1386)*

* Объём в условных печатных листах/вклад автора в условных печатных листах