

**В.В. Алабовский, А.А. Винокуров, О.В. Маслов,  
А.А. Арустамян, О.В. Земченкова, Л.И. Попова**

## **Роль ионов натрия в этиологии фибрилляции желудочков сердца**

*ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России*

**Резюме.** Предложен способ моделирования фибрилляции желудочков сердца путем снижения концентрации хлорида натрия в перфузионном растворе. Выявлено, что снижение концентрации NaCl до 30 ммоль/л сопровождалось возникновением фибрилляции. Развитию фибрилляции предшествовало повышение амплитуды сокращений сердца, появление предсистолы, что свидетельствует о перегрузке миокарда ионами  $Ca_2^+$  путем активирования кальциевого потока внутрь кардиомиоцитов с помощью  $Na^+-Ca_2^+$  обмена. Ингибиторы медленных кальциевых каналов не препятствовали возникновению фибрилляции. Показано, что снижение уровня  $K^+$  и увеличение концентрации  $Ca_2^+$  в перфузионном растворе способствовало ускорению развития аритмии и, наоборот, повышение концентрации  $K^+$  или снижение концентрации  $Ca_2^+$  замедляло ее развитие или полностью предупреждало.

**Ключевые слова:**  $Na^+-Ca_2^+$  обмен, медленные кальциевые каналы, фибрилляция желудочков сердца, ингибиторы кальциевых каналов.

**Актуальность.** Внезапная смерть при инфаркте миокарда, чаще всего, возникает от фибрилляции желудочков сердца. Патогенез ее развития сложен и поэтому возникло множество предположений о механизме внезапного появления аритмии [1, 3]. Известно, что повышение концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в цитоплазме кардиомиоцитов является ведущей причиной развития фибрилляции желудочков. Причины повышения концентрации  $Ca^{2+}$  изучены не в полном объеме [2, 6, 12]. Ключевую роль в формировании данного состояния отводят медленным кальциевым каналам. Они способны создавать осцилляции мембранного потенциала при ишемии сердечных клеток. Участие  $Na^+-Ca^{2+}$  обмена, который поддерживает физиологическую концентрацию ионов  $Ca^{2+}$ , в переполнении внутриклеточного  $Ca^{2+}$  пока что не доказано [4, 5, 11]. Работ в этом направлении совершенно недостаточно и они мало доказательны.

В ряде исследований авторы проводили измерение ионных концентраций  $Na^+$  с внутренней и наружной сторон сарколеммы при нарушении кровотока в венечных артериях, результаты свидетельствуют о значительном падении трансмембранной разности концентраций ионов натрия [7-10].

Следовательно, перед возникновением фибрилляции реально создаются условия для запуска  $Na^+-Ca^{2+}$  обмена, для которого необходимо, прежде всего, снижение трансмембранной разности концентраций ионов натрия в зоне инфаркта.

**Материал и методы исследования.** В работе были использованы белые крысы линии Wistar обоего пола массой 200-230 г. каждая серия экспериментов включала 7-10 животных. Опыты осуществляли в строгом соответствии с требованиями правил лабораторной практики по экспериментальному (доклиническому) исследованию в Российской Федерации.

Под эфирным наркозом у животных и кроликов производили торакотомию, извлекали сердце, которое помещали в охлажденный перфузионный раствор. Перфузию сердца осуществляли по методу Лангендорфа под постоянным давлением 60 мм рт. ст., с постоянной скоростью 8 мл/мин на 1 грамм ткани. Для исключения внешнего температурного воздействия, сердце перфузировали в термостатированной камере при  $t = 37^{\circ}\text{C}$ .

Исходный, стандартный раствор имел следующий состав (в ммоль/л): NaCl - 140, NaHCO<sub>3</sub> - 2, KCl - 5, трис-ОН - 2, (рН 7,4), CaCl<sub>2</sub> - 2, глюкоза - 11.

Раствор насыщали 100% кислородом. Электрическую активность сердца сохраняли в естественном состоянии.

Главная особенность экспериментов состояла в том, что снижение концентрации хлорида натрия в перфузионном растворе до 30 ммоль/л использовалось при полном сохранении всех остальных его компонентов. Для поддержания прежнего осмотического давления в раствор добавляли сахарозу до 220 ммоль/л.

Опыты проводили в следующей последовательности. Сердца перфузировали в течение 15 минут исходным раствором с концентрацией хлорида натрия 140 ммоль/л. Электрическую активность в изолированном сердце регистрировали с помощью биполярных серебряных электродов, толщиной 0,2 мм, которые вводились на глубину 2 мм в толщу левого желудочка.

Запись электрической активности производили на одном из двух каналов электрокардиографа «ЭЛКАР-2» при скорости движения ленты 25-50 мм/с.

Одновременно, на этом же приборе, на втором канале, синхронно осуществляли регистрацию амплитуды сокращений миокарда с помощью тензодатчика или фотодатчика, измеряя изменения длины сердца от его основания до верхушки.

В отдельной серии экспериментов регистрацию сокращений осуществляли на локальном участке левого желудочка сердца крысы с помощью специально сконструированного для этой цели тензодатчика. Датчик позволял регистрировать изменения длины фрагмента мышцы левого желудочка длиной 5 - 6 мм.

Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики. В работе обсуждаются результаты, в которых показатель  $p < 0,05$ .

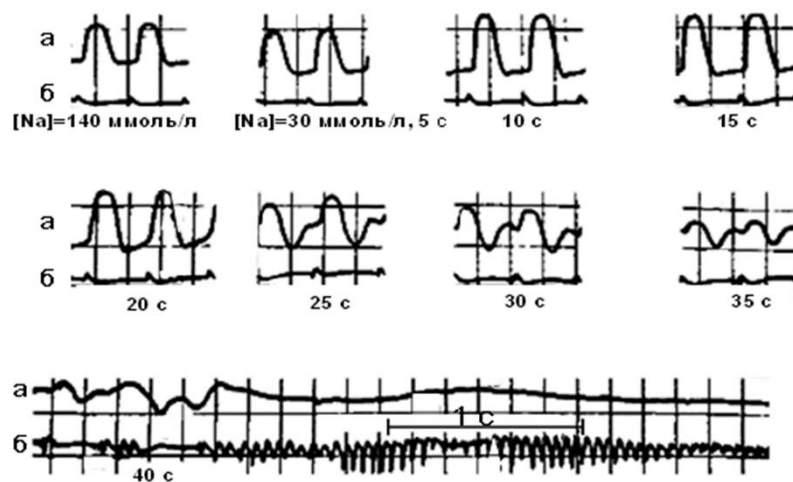
**Полученные результаты и их обсуждение.** Опыты показали, что снижение концентрации NaCl до 60 ммоль/л не вызывало нарушения сердечного ритма у крыс. Однако уменьшение уровня NaCl до 30 ммоль/л сопровождалось, примерно через 40 секунд, возникновением фибрилляции желудочков сердца (рис. 1).

Развитию фибрилляции предшествовало повышение амплитуды сокращений сердца. Затем появлялись предсistolы, которые сливались с началом сокращений сердца. Данные наблюдения отчетливо свидетельствовали о перегрузке миокарда ионами Ca<sup>2+</sup>. После чего появлялись групповые экстрасistolы, переходящие в потенциалы высокой частоты, соответствующие фибрилляции желудочков сердца. Фибрилляция, вызываемая уменьшением уровня ионов натрия в перфузионном растворе,

самопроизвольно прекращалась после включения раствора, содержащего исходную концентрацию натрия - 140 ммоль/л. При этом частота электрических импульсов снижалась, а затем появлялся синусовый ритм.

Таким образом, проведенные опыты продемонстрировали возможность воспроизведения фибрилляции желудочков сердца у крыс, обладающих высокой стабильностью сердечного ритма. Обнаруженный способ моделирования фибрилляции имеет ряд существенных преимуществ, которые выгодно отличают его от всех других известных моделей вызывания аритмий.

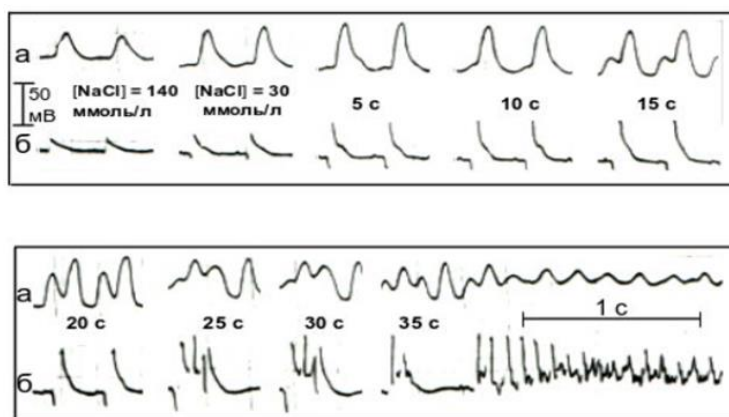
Это, прежде всего, простота и высокая воспроизводимость фибрилляции желудочков сердца. В нашей модели аритмия возникала в 100% случаев. Появилась возможность параллельно изучать биохимические и электрофизиологические процессы непосредственно до и после возникновения аритмии. Фибрилляция легко возникала без использования токсических веществ или грубых повреждающих воздействий, которые, сами по себе, могут исказить метаболизм и физиологию сердца. Метод экономичен, так как дает возможность использовать для экспериментов мелких лабораторных животных, что позволяет проводить большие серийные исследования.



**Рис. 1. Регистрация сократительной (а) и электрической (б) активности сердца крысы при снижении концентрации натрия в перфузионном растворе до 30 ммоль/л.**

На рисунке 2 представлена одна из записей одновременной регистрации электрической и сократительной активности сердечной мышцы крысы. До периода снижения внеклеточной концентрации натрия регистрировались электрические сигналы, похожие на потенциалы действия клеток миокарда. После снижения внеклеточного уровня натрия наблюдалось увеличение амплитуды потенциалов действия. Спустя 20 – 30 секунд появлялись всплески потенциалов высокой частоты небольшой длительностью. На фоне этих изменений внезапно появлялись потенциалы действия с частотой 10 – 15 Гц и возникала фибрилляция желудочков сердца.

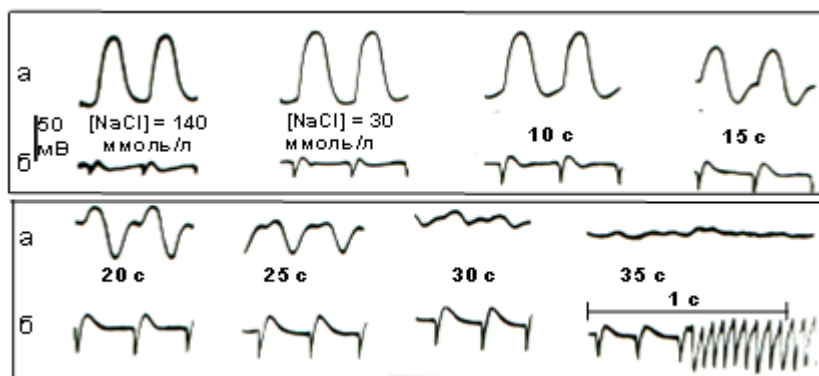
В экспериментах было отмечено явление, которое показывает довольно сложные нарушения внутриклеточной регуляции  $Ca^{2+}$ , вызываемое падением трансмембранной разности концентрации  $Na^{+}$ .



**Рис. 2. Регистрация электрической, с помощью электрода-присоски (а) и сократительной (б) активности сердца крысы при снижении концентрации NaCl в перфузионном растворе до 30 ммоль/л. Интервалы между записями 5 с, скорость записи 100 мм/с, калибровка 50 мВ.**

Записи, сделанные с большой скоростью, позволили отметить дополнительные сокращения в сердце крыс в промежутках между электрическими возбуждениями миокарда (рис. 1, 2). Анализ этих сокращений свидетельствует о входе ионов  $Ca^{2+}$  внутрь кардиомиоцитов с помощью  $Na^+-Ca^{2+}$  обмена в виде кратковременных импульсов, предшествующих систолическим.

Поскольку сердца крыс фиксировались за аорту, сокращения мышцы могли искажаться из-за необычного положения изолированного сердца на канюле перфузионного прибора. Поэтому были проведены записи сокращений локального участка левого желудочка сердца крысы, с помощью специально сконструированного для этой цели тензодатчика. Датчик позволял регистрировать изменения отрезка мышцы длиной 5 - 6 мм. Полученные этим способом записи оказались полностью идентичны записям, регистрируемых на целом сердце (рис. 3).



**Рис. 3. Изменения сократительной активности локального участка левого желудочка сердца крысы, при снижении концентрации NaCl в перфузионном растворе от 140 до 30 ммоль/л.**

Обозначения: а- механограмма отрезка миокарда длиной 5 мм; б - униполярное отведение электрической активности сердца. Цифры - фрагменты записи с интервалом 5 с. Калибровка 50 мВ.

Установлено, что результаты показывают, что для возникновения фибрилляции желудочков сердца необходимым условием является снижение или удаление только внеклеточного уровня натрия. Ионы магния, аммония, лития и молекулы мочевины или маннитола не играют существенной роли в возникновении аритмии.

Полученные данные служат весомым доказательством важной роли  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ обменного процесса в возникновении фибрилляции желудочков сердца. Медленные кальциевые каналы, в проведенных нами опытах, играли второстепенную роль, поскольку селективное их ингибирование не предотвращает развитие аритмии.

Таким образом, полученный экспериментальный материал наглядно демонстрирует важность изменения внутри и внеклеточного уровня натрия при формировании электрической нестабильности сердца, в основе которой лежит процесс  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ обмена.

**Выводы.** Фибрилляция желудочков сердца, возникающая при перегрузке кальцием, обладает высокой чувствительностью к внеклеточному уровню калия и  $\text{Ca}^{2+}$ , что сближает патогенез ее развития с клиническими наблюдениями в кардиологической практике.

Скорость снижения трансмембранной разности концентрации влияет на время возникновения фибрилляции. Это свидетельствует о вовлечении в процесс интенсивности появления электрофизиологической неоднородности, которая является основой развития электрического хаоса в миокарде.

#### *Литература / References.*

1. Eckart R. E.; Shry E. A.; Burke A. P.; McNear J. A.; Appel D. A.; Castillo-Rojas L. M.; Avedissian L; Pearse L. A.; Potter R N. Sudden Death in Young Adults. Journal of the American College of Cardiology. 2011. 58 (12): 1254–1261
2. Chockalingam P. Idiopathic Ventricular Fibrillation: Preventable Cause of Sudden Cardiac Death in Need of Global Collaboration. JACC Clin Electrophysiol. 2023 Aug;9(8 Pt 1):1307-1309. doi: 10.1016/j.jacep.2023.04.019. Epub 2023 Jun 21. PMID: 37354180.
3. Мильман А., Белхассен Б., Ноф Э., Барбаш И., Сегев А., Бейнарт Р. Идиопатическая фибрилляция желудочков или ишемическая фибрилляция желудочков? Isr Med Assoc J. 2023 ноябрь; 25(11):763-765. PMID: 37980624.
4. Райскина М.Е., Онищенко Н.А. Шарогородский Б.М., Халимова К.М., Фельд Б.Н., Расторгуев Б.П. Методы прижизненного исследования метаболизма сердца., «Медицина». Москва. 1970, 264 с.
5. Гоффман Б., Крейнфилд П. Электрофизиология сердца. М. Медицина. 1962, 390 с.
6. Krstic AM, Power AS, Ward ML. Visualization of Dynamic Mitochondrial Calcium Fluxes in Isolated Cardiomyocytes. Front Physiol. 2022 Jan 24;12:808798. doi: 10.3389/fphys.2021.808798. PMID: 35140632; PMCID: PMC8818789.
7. Keefe, J.A.; Moore, O.M.; Ho, K.S.; Wehrens, X.H.T. Role of  $\text{Ca}^{2+}$  in healthy and pathologic cardiac function: From normal excitation-contraction coupling to mutations that cause inherited arrhythmia. Arch. Toxicol. 2023, 97, 73–92.
8. Medeiros T, Bui V, Almekdash MH, Keesari R, Lee YR. Rate control with intravenous diltiazem, verapamil, and metoprolol in acute atrial fibrillation with rapid ventricular rate. SAGE Open Med. 2021 May 25;9:20503121211017756. doi: 10.1177/20503121211017756. PMID: 34104435; PMCID: PMC8155749.
9. Benz AP, Hohnloser SH. Is there a role for verapamil beyond rate control in paroxysmal atrial fibrillation? Europace. 2022 Mar 2;24(3):355-356. doi: 10.1093/europace/euab225. PMID: 34499716.

10. Xynogalos P, Rahm AK, Fried S, Chasan S, Scherer D, Seyler C, Katus HA, Frey N, Zitron E. Verapamil inhibits Kir2.3 channels by binding to the pore and interfering with PIP2 binding. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2023 Apr;396(4):659-667. doi: 10.1007/s00210-022-02342-z. Epub 2022 Nov 29. PMID: 36445385; PMCID: PMC10042922.

11. Shen R, Zuo D, Chen K, Yin Y, Tang K, Hou S, Han B, Xu Y, Liu Z, Chen H. K2P1 leak cation channels contribute to ventricular ectopic beats and sudden death under hypokalemia. *FASEB J.* 2022 Aug;36(8):e22455. doi: 10.1096/fj.202200707R. PMID: 35899468.

12. Shattock, M.J.; Ottolia, M.; Bers, D.M.; Blaustein, M.P.; Boguslavskyi, A.; Bossuyt, J.; Bridge, J.H.; Chen-Izu, Y.; Clancy, C.E.; Edwards, A.; et al. Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in the heart. *J. Physiol.* 2015, 593, 1361–1382.

#### **Abstract.**

**V.V. Alabovsky, A.A. Vinokurov, O.V. Maslov, A.A. Arustamyan, O.V. Zemchenkova, L.I. Popova**

#### **Role of sodium ions in the appearance of ventricular fibrillation of the heart**

*Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Dep. of Clinical Laboratory Diagnostics*

A method has been proposed for simulating ventricular fibrillation of the heart by reducing the concentration of sodium chloride in the perfusion solution. It was revealed that a decrease in NaCl concentration to 30 mmol/l was accompanied by the occurrence of fibrillation. The development of fibrillation was preceded by an increase in the amplitude of cardiac contractions and the appearance of presystole, which indicates an overload of the myocardium with Ca<sup>2+</sup> ions by activating the calcium flow into cardiomyocytes using Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchange. Slow calcium channel inhibitors did not prevent fibrillation. It was shown that a decrease in the level of K<sup>+</sup> and an increase in the concentration of Ca<sup>2+</sup> in the perfusion solution contributed to the acceleration of the development of arrhythmia and, conversely, an increase in the concentration of K<sup>+</sup> or a decrease in the concentration of Ca<sup>2+</sup> slowed down its development or completely prevented it.

The use of this technique on other animals: rabbits, guinea pigs, dogs was also accompanied by the occurrence of fibrillation.

Thus, according to the results obtained, we can conclude that the Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> metabolic mechanism is directly involved in the occurrence of ventricular fibrillation of the heart.

**Keywords:** Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchange, slow calcium channels, ventricular fibrillation, calcium channel inhibitors.

**Сведения об авторах:** Алабовский Владимир Владимирович – д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, v.alabovsky@yandex.ru; Винокуров Алексей Анатольевич – к.м.н., ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, alwin66@rambler.ru; Маслов Олег Владимирович – к.б.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, maslov-oleg1205@mail.ru; Арустамян Анжелика Аркадьевна – студентка ВГМУ им. Н.Н. Бурденко arustamyan\_lika@mail.ru; Земченкова Ольга Владимировна - к.б.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, zov-bio@mail.ru; Попова Людмила Ивановна - к.б.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, popova\_li\_bh@mail.ru.