

## ЭФФЕКТЫ ИНГИБИТОРОВ ИОННЫХ КАНАЛОВ НА ГЕНЕРАЦИЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ИМПУЛЬСОВ У КЛЕТОК ВОДИТЕЛЯ РИТМА ПРАВОГО ПРЕДСЕРДИЯ ДЕСЯТИСУТОЧНОГО КУРИНОГО ЭМБРИОНА

© 2020 г. Е.А. Лебедева, В.А. Головки

\*Институт физиологии – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Коми научный центр УрО РАН», 167982, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Первомайская, 50

E-mail: lebedeva.physiol.komisc@ya.ru

Поступила в редакцию 27.11.2019 г.

После доработки 29.04.2020 г.

Принята к публикации 05.05.2020 г.

Клеточные механизмы автоматизма и вклад различных ионных каналов сердца эмбрионов мало исследованы. В данной работе представлены результаты изучения эффектов специфических ингибиторов ионных каналов на генерацию потенциалов действия клеток водителя ритма правого предсердия куриного эмбриона. Выявлено, что исключение ионов кальция из внеклеточного раствора или экспозиция блокатора  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа нифедипина (10 мкМ) не вызывало ингибирование генерации потенциалов действия и приводило к повышению частоты инициации электрических импульсов на 45%. Рианодин, агонист  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов саркоплазматического ретикулула, также оказывал положительный хронотропный эффект. Апликация лидокаина приводила к отрицательному хронотропному эффекту и вызывала ингибирование генерации электрических импульсов. Заключение, что роль чувствительных к рианодину  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов саркоплазматического ретикулула и  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа не является определяющей для поддержания автоматизма клеток правого предсердия десятисуточных куриных эмбрионов, сердце которых уже имеет четыре камеры, но синоатриальный узел не сформирован полностью и морфофункциональное созревание центральной нервной системы еще не завершено. Тот факт, что лидокаин подавлял, а нифедипин не подавлял генерацию потенциалов действия, свидетельствует о существенном вкладе  $\text{Na}^+$ -тока в формирование автоматизма.

*Ключевые слова:* ионные каналы, автоматизм, рианодин, нифедипин, лидокаин, сердце, эмбрион, курица.

DOI: 10.31857/S0006302920040134

Синоатриальный узел, расположенный в области впадения верхней полой вены в правое предсердие, в норме задает ритм работы сердца. Нарушение функции синоатриального узла сопряжено с риском развития аритмий, сердечной недостаточности, фибрилляции предсердий и угрожающих жизни состояний, в том числе синдрома внезапной смерти [1]. В последнее десятилетие ведутся интенсивные исследования в области клеточной терапии, изучения эмбриональных стволовых клеток или других типов клеток, способных дифференцироваться в кардиомиоциты, которые могут способствовать разработке биологических водителей ритма как альтернативы или дополнения к методу электростимуляции сердца [2]. В связи с этим необходимо глубже понимать

процессы функционирования сердца, включая эмбрионов [3]. Изучение механизмов автоматизма эмбрионального сердца может позволить выявить причины врожденных сердечных патологий.

Считают, что высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  через кальциевые рианодин-чувствительные каналы (RyR-каналы) способствует медленной диастолической деполяризации и имеет решающее значение для генерации автоматизма сердца взрослых животных [4–6]. Данный процесс был назван « $\text{Ca}^{2+}$ -часами» ( $\text{Ca}^{2+}$ -clock). Его пусковым механизмом являются внутриклеточные осцилляции ионов кальция и протекающий по  $\text{Ca}^{2+}$ -каналам L-типа ионный ток [6–9]. У клеток водителя ритма синоатриального узла кролика выраженность эффектов рианодина (агониста RyR-каналов) и нифедипина (блокатора  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа) обусловлена снижением частоты генерации по-

*Сокращения:* RyR-каналы – кальциевые рианодин-чувствительные каналы, ПД – потенциал действия,  $dV/dt_{\max}$  – скорость фазы быстрой деполяризации, МДД – медленная диастолическая деполяризация.

тенциалов действия (ПД) вплоть до полного прекращения электрической активности [5, 6].

Клеточные механизмы, ответственные за спонтанное сокращение и электрическую возбудимость в эмбриональном сердце, изучены недостаточно, и имеющиеся экспериментальные данные во многом противоречивы. Полученные результаты свидетельствуют о роли внутриклеточных колебаний концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  и состояния RyR-каналов [9]. Вместе с тем имеются данные об их незначительном вкладе в процесс инициации импульса [10]. Ключевую роль отводят  $\text{Ca}^{2+}$ -току L-типа и току, активируемому гиперполяризацией ( $I_f$ , «funny» ток) [5–8]. Интересно отметить, что в отличие от взрослых, рианодин не оказывал влияния на спонтанную генерацию ПД венозного синуса у молодых лягушек [11]. Все это позволяет предположить, что механизмы инициации электрических импульсов в эмбриональном сердце отличаются от таковых в сердце взрослых животных.

Цель данной работы была изучить эффекты ингибиторов ионных каналов на генерацию пейсмекерных потенциалов действия у клеток правого предсердия 10-суточных эмбрионов кур и рассмотреть вклад RyR- и  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа в формирование электрических импульсов. Дополнительно мы проанализировали эффекты гипокальциевых растворов.

## МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на спонтанно сокращающихся препаратах правого предсердия 10-суточных куриных эмбрионов ( $n = 25$ ). На этом сроке эмбрионального развития сердце куриного зародыша уже имеет четыре камеры, но синоатриальный узел не сформирован полностью, а морфофункциональное созревание центральной нервной системы еще не завершено. Поэтому генерация автоматизма регулируется в основном изменениями ионного состава околоклеточной среды.

Сердце извлекали и помещали в аэрированный солевой раствор следующего состава (мм/л):  $\text{NaCl} - 140$ ,  $\text{NaHCO}_3 - 10$ ,  $\text{KCl} - 5.4$ ,  $\text{CaCl}_2 - 1.8$ ,  $\text{MgSO}_4 - 1$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 0.33$ , глюкоза – 10,  $\text{HEPES} - 5$ , pH 7.4; удаляли желудочки и левое предсердие, правое предсердие вскрывали. Спонтанно сокращающийся препарат правого предсердия размером  $3 \times 3$  мм помещали в проточную, аэрируемую, термостатируемую камеру с солевым раствором ( $31 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Потенциалы действия регистрировали с помощью стандартной микроэлектродной техники со стороны субэндокарда.

В качестве ингибитора каналов  $\text{Ca}^{2+}$ -тока L-типа использовали нифедипин, для оценки вкла-

да  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов саркоплазматического ретикулума – рианодин. Роль  $\text{Na}^+$ -каналов была оценена с помощью специфического блокатора лидокаина.

В первой серии экспериментов ( $n_{\text{сердце}} = 6$ ) в контрольном растворе снижали концентрацию внеклеточного кальция на 50%. Через 15 мин добавляли раствор, не содержащий ионов кальция. Эффекты регистрировали в течение 30 мин. Затем препарат промывали нормальным раствором до тех пор, пока частота генерации и конфигурация ПД не восстанавливались до контрольных значений (в течение 20–30 мин). После этого добавляли нифедипин – ингибитор каналов  $\text{Ca}^{2+}$ -тока L-типа. Препарат экспонировали в растворе с нифедипином в течение 60 мин ( $n = 5$ ).

Для оценки роли токов каналов саркоплазматического ретикулума добавляли рианодин в концентрации 1 мкМ. В течение 60 мин регистрировали ПД. В данной серии опытов были использованы пять препаратов от пяти эмбрионов.

Вклад  $\text{Na}^+$ -каналов в генерацию ПД оценивали с помощью специфического блокатора – лидокаина. В перфузирующий раствор сначала добавляли лидокаин в концентрации 20 мкМ и экспонировали около 20 мин. После отмывки и восстановления электрофизиологических параметров до контрольного уровня (30 мин) добавляли блокатор в концентрации 100 мкМ. К свежим полоскам добавляли лидокаин в концентрации 500 мкМ ( $n = 9$ ).

Все компоненты солевого раствора были производства фирмы ROTH (Германия), блокаторы ионных токов – Sigma-Aldrich (США).

Обработку результатов проводили в программе PowerGraph Professional версии 3.3 (ООО «ДИ-Софт», Россия) и с помощью оригинальной программы вычисления параметров потенциалов в программной среде Delphy, разработанных д.б.н. Н.В. Артеевой. Данные приведены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm \sigma$ ). Значимость различий определяли по  $U$ -критерию Манна–Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольном растворе от трабекулы правого предсердия в области синоатриального кольца сердца куриного эмбриона со стороны субэндокарда зарегистрированы ПД с медленной диастолической деполяризацией. Частота генерации спонтанных ПД у препаратов составила  $166 \pm 15$  имп/мин, а скорость фазы быстрой деполяризации ( $dV/dt_{\text{max}}$ ) варьировала от 44 до 170 В/с и в среднем составила  $99 \pm 37$  В/с (таблица; рисунок, а).

Электрофизиологические параметры ПД в контроле и при действии блокаторов ионных каналов и раствора, не содержащего  $\text{Ca}^{2+}$ , у клеток, работающих в режиме водителя ритма правого предсердия куриного эмбриона

| Параметры ПД               | Общий контроль,<br>$n = 25$ | Нифедипин 10<br>мкМ,<br>$n = 5$ | Раствор без $\text{Ca}^{2+}$ ,<br>$n = 6$ | Рианодин 1 мкМ,<br>$n = 5$ | Лидокаин 500<br>мкМ,<br>$n = 9$ |
|----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---|----------------------------|---------------------------------|
| $E_{\text{max}}$ , мВ      | $-75 \pm 7$                 | $-78 \pm 8$                     | $-77 \pm 8$                               | $-77 \pm 5$                | $-64 \pm 14$                    |
| АПД, мВ                    | $99 \pm 10$                 | $95 \pm 7$                      | $100 \pm 10$                              | $99 \pm 12$                | $69 \pm 13^*$                   |
| ДПД <sub>20</sub> , мс     | $42 \pm 19$                 | $24 \pm 7^*$                    | $18 \pm 2^*$                              | $30 \pm 13$                | $65 \pm 14^*$                   |
| ДПД <sub>90</sub> , мс     | $87 \pm 20$                 | $67 \pm 11^*$                   | $65 \pm 14^*$                             | $72 \pm 13^*$              | $124 \pm 19^*$                  |
| ЧСС, имп/мин               | $166 \pm 15$                | $235 \pm 41^*$                  | $236 \pm 40^*$                            | $197 \pm 16^*$             | $88 \pm 16^*$                   |
| МДД, мс                    | $249 \pm 35$                | $151 \pm 39^*$                  | $184 \pm 50^*$                            | $205 \pm 31^*$             | $546 \pm 146^*$                 |
| $dV/dt_{\text{max}}$ , В/с | $99 \pm 37$                 | $76 \pm 27$                     | $105 \pm 37$                              | $83 \pm 36$                | $16 \pm 10^*$                   |
| $V_4$ , мВ/с               | $43 \pm 17$                 | $79 \pm 31^*$                   | $38 \pm 20$                               | $68 \pm 19^*$              | $37 \pm 17$                     |

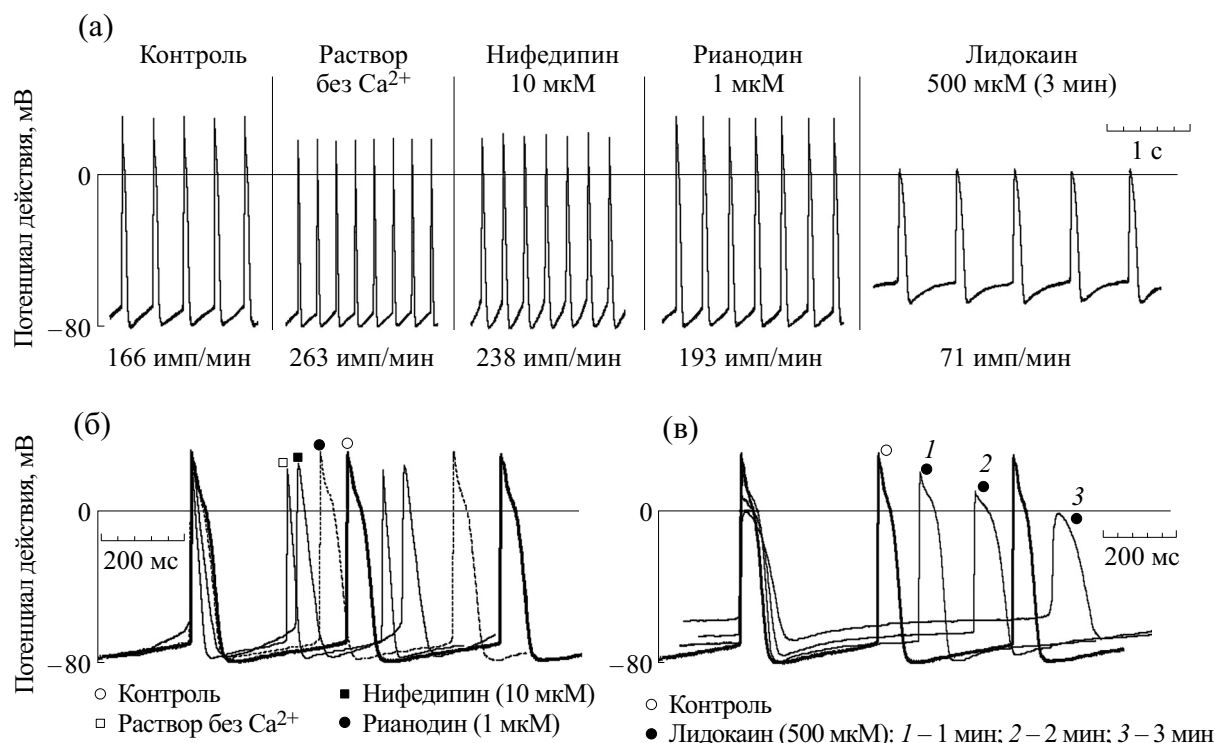
Примечание.  $E_{\text{max}}$  – максимальный диастолический потенциал; АПД – амплитуда ПД; ДПД<sub>20</sub> и ДПД<sub>90</sub> – длительность потенциала действия на уровне 20 и 90% реполяризации; ЧСС – частота генерации ПД; МДД – длительность медленной диастолической деполяризации;  $dV/dt_{\text{max}}$  – скорость фазы быстрой деполяризации;  $V_4$  – скорость фазы медленной диастолической деполяризации;  $n$  – количество препаратов; \* – достоверность различий по сравнению с контролем  $p < 0.05$ .

**Эффекты внеклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ .** Снижение  $\text{CaCl}_2$  в солевом растворе от 1.8 до 0.9 мМ ( $n = 6$ ) приводило к повышению частоты генерации ПД на 20%. Раствор без  $\text{Ca}^{2+}$  ( $n = 6$ ) повышал частоту генерации ПД на 45% по сравнению с контролем. При этом регистрировали укорочение фазы медленной диастолической деполяризации (МДД) и длительности пика ПД на уровне 90% реполяризации на 25%. Нарушения ритмической активности или прекращения генерации электрической импульсов у препаратов правого предсердия куриного эмбриона при выведении  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного раствора не зарегистрировали (рисунок, а,б; таблица).

**Эффекты нифедипина.** При экспозиции нифедипина ( $n = 6$ ), блокатора  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа, регистрировали увеличение частоты генерации ПД на 40% по сравнению с контролем. Эффект был обусловлен укорочением фазы МДД на 40% и длительности пика потенциала действия на уровне

не 90% реполяризации – на 23%. Амплитудные параметры ПД достоверно не изменялись. Электрическая активность препаратов сохранилась даже при продолжительной экспозиции блокатора (~ 60 мин). Таким образом, нифедипин в концентрации 10 мкМ вместо ожидаемого снижения и ингибирования ПД способствовал значительному повышению частоты генерации ПД (рисунок, а,б; таблица).

**Эффекты рианодина.** Выявлено, что агонист  $\text{RuR}$ -каналов рианодин в концентрации 1 мкМ ( $n = 10$ ) на пятой минуте экспозиции приводил к увеличению частоты генерации ПД на 20% за счет укорочения длительности фазы МДД (на 18%) и пика потенциала действия на уровне 90% реполяризации – на 17%. Эффект сохранялся при продолжительной экспозиции рианодина (~ 60 мин). Нарушений ритмической активности или прекращения генерации ПД у препаратов правого предсердия куриного эмбриона не зарегистрировано (рисунок, а,б; таблица).



Эффекты блокаторов ионных каналов и раствора, не содержащего  $\text{Ca}^{2+}$ , на генерацию электрических импульсов у клеток, работающих в режиме водителя ритма правого предсердия куриного эмбриона. (а) — Изменение генерации ПД в контроле, при добавлении солевого раствора, не содержащего  $\text{Ca}^{2+}$ , экспозиции 10 мкМ нифедипина, 1 мкМ рианолина и 500 мкМ лидокаина (3 мин). (б) — Повышение частоты генерации электрических импульсов у клеток куриного эмбриона в растворе без кальция при добавлении нифедипина (10 мкМ) и рианолина (1 мкМ). (в) — Развитие эффектов лидокаина (500 мкМ) на конфигурацию ПД клеток правого предсердия куриного эмбриона.

**Эффекты лидокаина.** Нами установлено, что пороговая концентрация лидокаина для работающих в режиме водителя ритма клеток куриного эмбриона составляет  $\sim 20$  мкМ. Повышение концентрации лидокаина от 20 до 100 мкМ ( $n = 5$ ) вызывало снижение скорости нарастания переднего фронта ПД  $dV/dt_{\max}$  на 30% и замедление частоты генерации ПД на 30% за счет увеличения длительности фазы МДД. При добавлении в экспериментальную камеру раствора с лидокаином в концентрации 500 мкМ ( $n = 9$ ) регистрировали монотонное снижение амплитуды ПД примерно на 30% (от  $99 \pm 10$  мВ до  $69 \pm 13$  мВ) и замедление  $dV/dt_{\max}$  в 6 раз (от  $99 \pm 37$  В/с до  $16 \pm 10$  В/с) по сравнению с контролем. Длительность фазы МДД увеличивалась в два раза, в среднем на 20 мВ смещался потенциал порога (от  $-64 \pm 8$  мВ до  $-44 \pm 12$  мВ). В результате скорость МДД (фаза  $V_4$ ) достоверно не изменялась. Длительность пика ПД на уровне 20 и 90% реполяризации увеличивалась на 40–55% (рисунок, а, в; таблица). Частота генерации импульсов снижалась почти в два раза. В 70% случаев экспозиция лидокаина приводила к полному ингибированию генерации

электрических импульсов. Эффекты лидокаина обратимы.

Анализ полученных результатов показал, что ингибирование  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа, RyR-каналов или выведение ионов кальция из омывающего раствора не приводит к нарушению электрической активности или прекращению генерации ПД клеток правого предсердия десятисуточных эмбрионов кур. В то же время блокатор  $\text{Na}^+$ -каналов лидокаин вызывал замедление частоты генерации спонтанных импульсов и в высоких концентрациях — полное ингибирование генерации ПД.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе обсуждаются две основные гипотезы механизма медленной диастолической деполаризации: «мембранные» часы, в основе которых лежат протекающие ионные токи через мембрану сарколеммы, в частности активируемый гиперполяризацией ток ( $I_f$ ) [12, 13]; и механизм « $\text{Ca}^{2+}$ -часов», самопроизвольное высвобождение

$[Ca^{2+}]_i$  из саркоплазматического ретикулума через рианодин-чувствительные каналы [13–15].

**Роль «Ca<sup>2+</sup>-часов» в генерации автоматизма клеток сердца куриного эмбриона.** Основанием для появления гипотезы «Ca<sup>2+</sup>-часов» было выявление сходства динамики изменения внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> и конфигурации пейсмекерных ПД [4, 6]. Основой этого механизма генерации спонтанных импульсов являются осцилляции ионов кальция из саркоплазматического ретикулума через рианодиновые каналы (RyRs). После начальной деполяризации сарколеммы поступление Ca<sup>2+</sup> через кальциевые каналы L-типа ( $I_{Ca,L}$ ) индуцирует лавинообразный выброс кальция из депо и, возможно, запускает деполяризующий мембрану Na/Ca-обменный механизм [8, 15]. На основе экспериментальных данных, полученных на синоатриальном узле млекопитающих, были разработаны математические модели, в которых «Ca<sup>2+</sup>-часы» играют ключевую роль в формировании автоматизма. Эти модели хорошо воспроизводят замедление частоты генерации ПД вплоть до полной остановки при аппликации рианоидина или ингибировании Ca<sup>2+</sup>-тока L-типа, вызывающих нарушение гомеостаза ионов кальция [6–8].

У эмбрионального сердца курицы при ингибировании Ca<sup>2+</sup>-каналов L-типа нами был зарегистрирован феномен сохранения спонтанной электрической активности предсердия, сопровождающийся повышением частоты генерации ПД. Ранее на желудочке эмбрионов мыши и крысы при добавлении нифедипина 10 и 100 мкМ было зарегистрировано незначительное (на 3–7%) увеличение частоты генерации ПД [16]. Положительный хронотропный эффект нифедипина, рианоидина и гипокальциевых растворов на генерацию ПД пейсмекерных клеток эмбрионального сердца противоречит существующей парадигме и не может быть описан имеющимися числовыми моделями.

Наши результаты показывают, что нарушение функционирования RyR-каналов, ингибирование Ca<sup>2+</sup>-каналов L-типа или выведение ионов кальция из раствора не приводит к аритмиям или прекращению генерации электрических импульсов. Мы полагаем, что RyR-каналы, экспрессируемые на ранних стадиях эмбриогенеза [17], еще не находятся в тесном взаимодействии с Ca<sup>2+</sup>-каналами L-типа и их вклад в инициацию электрической активности клеток эмбрионального сердца не является принципиальным.

**Роль «мембранных часов» в генерации автоматизма.** Роль тока, активируемого гиперполяризацией ( $I_f$ , «funny» ток), в генерации электрической активности продемонстрирована экспериментально на разных видах взрослых грызунов [18–21]. Разработанная авторами работы [22] математическая модель корректно описала влияние ионов цезия и ивабрадина – ингибиторов активируемого гиперполяризацией тока ( $I_f$ ), на морфологию ПД клеток синоатриального узла взрослых животных. Ток  $I_f$  зарегистрирован на ранних стадиях эмбриогенеза в отдельных клетках желудочка и предсердия эмбрионального сердца мыши [3, 24]. По мнению авторов, данный ток участвует в генерации спонтанной активности клеток желудочка в течение первой недели эмбрионального развития мыши и исчезает незадолго до ее рождения. Попытка зарегистрировать ток  $I_f$  у предсердия семисуточного куриного эмбриона была предпринята в работе [23], но по признанию самих авторов она оказалась неудачной. Полагаем, что в клетках предсердия десятисуточного куриного эмбриона ток, активируемый гиперполяризацией, участвует в генерации фазы МДД. Мы провели исследование вклада HCN-каналов, по которым протекает ток  $I_f$ , в генерирование электрических импульсов клетками правого предсердия куриного эмбриона [25]. Согласно полученным данным, роль тока  $I_f$  в формировании автоматизма сердца десятисуточного эмбриона незначительна. Специфические блокаторы HCN-каналов (ивабрадин и ионы цезия) либо не вызывали достоверного эффекта, либо повышали частоту генерации ПД в среднем на 15% по сравнению с контролем. Следовательно, ток  $I_f$  участвует в генерации ПД клеток предсердия, но его вклад в спонтанную электрическую активность не является определяющим. Это следует учитывать при оптимизации математических моделей генерации ПД эмбрионального сердца курицы.

**Роль Na<sup>+</sup>-токов в инициации электрической активности.** Полученные нами результаты и литературные данные [16, 25] позволяют заключить, что механизмы «мембранных» и «кальциевых» часов, лежащие в основе автоматизма у взрослых животных, в эмбриональном сердце курицы еще только начинают формироваться. По-видимому, имеет место пространственно-временная разобщенность саркоплазматического ретикулума и базальной мембраны [11]. Поэтому они не вносят значительного вклада в генерацию электрической активности пейсмекерных клеток куриных эмбрионов. Мы выявили, что блокирование тока через Na<sup>+</sup>-каналы приводит к прекращению

электрической активности клеток предсердия десятисуточных куриных эмбрионов. Это позволяет предположить, что  $\text{Na}^+$ -каналы, чувствительные к лидокаину, не только участвуют, но и играют ключевую роль в формировании их автоматизма. В зависимости от концентрации лидокаин вызывал замедление частоты генерации ПД вплоть до полной остановки электрической активности. Это сопровождалось увеличением длительности фазы МДД и монотонным замедлением скорости нарастания переднего фронта ПД ( $dV/dt_{\max}$ ). Следует отметить, что прекращение генерации электрических импульсов в эмбриональном сердце курицы наблюдали при аппликации более низкой концентрации лидокаина (500 мкМ), чем у клеток водителя ритма синоатриальной области у взрослых животных (1000 мкМ) [26].

Вероятно, существуют некие механизмы, компенсирующие ингибирование  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа. В пользу такого предположения свидетельствует сохранение автоматизма при действии нифедипина.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный нами анализ экспериментальных данных позволяет заключить, что роль  $\text{RuR}$ -каналов и  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов L-типа не является определяющей для поддержания автоматизма клеток правого предсердия десятисуточных куриных эмбрионов, сердце которых уже имеет четыре камеры, но синоатриальный узел не сформирован полностью, а морфофункциональное созревание центральной нервной системы еще не завершено. Тот факт, что лидокаин подавлял генерацию ПД, а нифедипин не подавлял электрическую активность, свидетельствует о существенном вкладе натриевого тока в формирование автоматизма.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ мол\_а № 18-34-00654, № ГР АААА-А17-117012310152-2 и НИР № ГР АААА-А17-117012310154-6.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментальный протокол соответствовал международным правилам «Для использования

лабораторных животных» (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8-е издание, опубликованном National Academics Press (США) в 2011 г.).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. P. Glynn, B. Onal, and T. J. Hund, PLoS One **9** (2), 1 (2014).
2. M. R. Rosen, R. B. Robinson, P. Brink, et al., Anat. Rec. A. Discov. Mol. Cell Evol. Biol. **280** (2), 1046 (2004).
3. T. Opthof, Med. Biol. Eng. Comput. **45** (2), 119 (2007).
4. K. Y. Bogdanov, V. A. Maltsev, and T. M. Vinogradova, Circ. Res. **99** (9), 979 (2006)
5. T. M. Vinogradova and E. G. Lakatta, J. Mol. Cell. Cardiol. **47** (4), 456 (2009).
6. V. A. Maltsev and E. G. Lakatta, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. **296** (3), 594 (2009).
7. А. Д. Хохлова, Р. А. Сюняев, А. М. Рывкин и др., Биофизика **61**, 906 (2016).
8. А. Е. Lyashkov, J. Behar, E. G. Lakatta, et al., Biophys. J. **114** (5), 1176 (2018)
9. P. Sasse, J. Zhang, L. Cleemann, et al., J. Gen. Physiol. **130** (2), 133 (2007).
10. F. J. Martinsen, Dev. Dyn. **233**, 1217 (2005).
11. В. А. Головкин, Журн. эволюц. биохимии и физиологии **42**, 335 (2006).
12. D. DiFrancesco and D. Noble, Heart Rhythm. **9** (2), 299 (2012).
13. E. G. Lakatta and D. J. DiFrancesco, Mol. Cell. Cardiol. **47**, 157 (2009).
14. T. M. Vinogradova, Y. Y. Zhou, V. Maltsev, et al., Circ. Res. **94** (6), 802 (2004).
15. E. G. Lakatta, V. A. Maltsev, and T. M. Vinogradova, Circ. Res. **106** (4), 659 (2010).
16. M. F. Nilsson, A. C. Sköld, A. C. Ericson, et al., Toxicol. Appl. Pharmacol. **272** (2), 306 (2013).
17. S. M. Dutro, J. A. Airey, C. F. Beck, et al., Dev. Biol. **155** (2), 431 (1993).
18. K. Ono, S. Shibata, and T. Iijima, J. Smooth Muscle Res. **39**, 195 (2003).
19. M. Baruscotti and D. DiFrancesco, Ann. N. Y. Acad. Sci. **1015**, 111 (2004).
20. A. O. Verkerk, R. Wilders, M. M. van Borren, et al., Eur. Heart J. **28**, 2472 (2007).
21. М. А. Гонотков и В. А. Головкин, Бюлл. эксперим. биологии и медицины **152** (8), 128 (2011).
22. S. Severi, M. Fantini, L. A. Charawi, et al., J. Physiol. **590** (18), 4483 (2012).
23. R. M. Brochu, J. R. Clay, and A. Shrier, J. Physiol. **454**, 503 (1992).
24. С. Okubo, H. I. Sano, Y. Naito, et al., J. Physiol. Sci. **63** (5), 355 (2013).
25. Е. А. Лебедева, М. А. Гонотков и В. А. Головкин, Междунар. журн. прикл. и фундамент. исследований **1**, 120 (2019).
26. Е. А. Лебедева, Изв. Коми науч. центра УрО РАН **3** (15), 58 (2013).

## Effects of Ion Channel Inhibitors on the Generation of Electrical Impulses in Right Atrial Pacemaker Cells of a 10-Day-Old Chicken Embryo

E.A. Lebedeva and V.A. Golovko

*Institute of Physiology, Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Pervomajskaya 50, Syktyvkar, the Republic of Komi, 167982 Russia*

The mechanisms of pacemaker cells activity and the contribution of various ion channels of the heart of embryos are not yet fully understood. This paper presents the results of the experiment on the study of the effects of specific ion channel inhibitors on the generation of action potentials in pacemaker cells of the chicken embryo right atria. It was found that the exclusion of calcium ions from the extracellular solution or the strip exposure to 10 mM nifedipine (L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel blocker) did not inhibit the generation of action potentials but led to an increase in the frequency of electrical impulses initiation by 45%. Ryanodine, an agonist of Ca-channels of the sarcoplasmic reticulum, also had a positive chronotropic effect. Application of lidocaine led to a negative chronotropic effect and caused inhibition of the generation of electrical impulses. We concluded that the role of sarcoplasmic reticulum calcium channels which are sensitive to ryanodine (RyR-channels) and L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels is not crucial for maintaining the pacemaker activity in the right atrial cells of 10-day-old chicken embryos with a four-chambered heart, not fully formed sinoatrial node, and the central nervous system of which not yet attained morphofunctional maturity. Our results show that lidocaine did, but nifedipine did not inhibit action potentials generation, indicating that the sodium current contributes significantly to the pacemaker activity.

*Keywords: ion channels, automaticity, ryanodine, nifedipine, lidocaine, heart, embryo, chicken*