

РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНО РЕГИСТРИРУЕМЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ СУБЭПИКАРДА СЕРДЦА КРЫСЫ ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

© 2023 г. А. В. Степанов^{1,*}, М. Г. Добрецов¹, Е. В. Новикова¹, Ю. А. Филиппов¹,
А. А. Панов¹, И. В. Кубасов¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: botanik2407@gmail.com

Поступила в редакцию 21.04.2023 г.

После доработки 11.07.2023 г.

Принята к публикации 27.07.2023 г.

Известно, что ряд системных сердечных заболеваний различной этиологии (хроническая ишемия, аортальный стеноз, гипертензия, диабетическая кардиомиопатия, реперфузионное повреждение после ишемии и др.), ведущих к развитию сердечной недостаточности, сопровождается выраженной реорганизацией Т-системы кардиомиоцитов как у человека, так и у животных. Однако изменения в электрогенезе клеточной мембраны Т-системы кардиомиоцитов при этих заболеваниях практически не изучены. Целью работы было выяснить динамику изменений электрогенеза различных отделов мембраны кардиомиоцитов субэпикарда на разных сроках после ишемии-реперфузии (ИР) левого желудочка (ЛЖ) у крыс с использованием метода внеклеточной регистрации и оценить морфологические изменения Т-системы с использованием конфокальной микроскопии. Исследование проводили через один день, две и четыре недели после ИР. Было установлено, что сразу после ИР наблюдается изменение внеклеточно регистрируемых потенциалов действия первого типа (вПД1, характеризующиеся одним негативным пиком), регистрируемых в зоне мембраны кардиомиоцитов субэпикарда, свободной от входов в *t*-трубочки. Начиная с 24 часов, вплоть до четырех недель после ИР происходило увеличение длительности времени спада (T_{90}) и частоты встречаемости фазы следовой гиперполяризации вПД1, достигающих максимальных значений к четырем неделям после ИР. Помимо этого, в течение четырех недель после ИР отмечается выраженное снижение амплитуды второго пика внеклеточно регистрируемых потенциалов действия второго типа (вПД2, характеризующиеся наличием двух негативных пиков), регистрируемых в зоне мембраны кардиомиоцитов субэпикарда, имеющей входы *t*-трубочек. Однако изменений в структурной организации Т-системы обнаружено не было. Эти данные свидетельствуют о том, что функциональные модификации Т-системы эпикардиальных кардиомиоцитов после ИР могут предшествовать их структурным модификациям.

Ключевые слова: миокард, ишемия, реперфузия, кардиомиоциты, внеклеточный потенциал действия, Т-система

DOI: 10.31857/S004445292305008X, **EDN:** KQFEOG

ВВЕДЕНИЕ

Ишемически-реперфузионное повреждение миокарда является ключевым звеном патогенеза инфаркта миокарда (ИМ) и восстановления коронарного кровотока в сердце после ИМ. Непосредственно в зоне нарушенного кровотока происходит смерть кардиомиоцитов, которая прогрессирует с увеличением продолжительности ишемического инсульта от более восприимчивого субэндокарда к менее уязвимому субэпикарду [1, 2]. Это приводит к расширению зоны ИМ от сравнительно ограниченной области мертвых кардиомиоцитов в субэндокарде и средней части миокарда после 30–45 мин

коронарной окклюзии до более обширного и часто трансмурального ИМ при ишемии более 60–90 мин [3–6]. Поэтому скорейшее восстановление кровотока имеет критическое значение при лечении ИМ. Парадоксально, однако, что восстановление кровотока (реперфузия) связано с феноменом дополнительного повреждения миокарда, ведущего к увеличению зоны повреждения. Согласно существующим данным, до 50% окончательного размера зоны ИМ (зоны некроза) обусловлено именно реперфузионным повреждением [7]. Кроме того, ИМ сопровождается процессом ремоделирования миокарда, характеризующимся постепен-

ным увеличением сердца, сердечной дисфункцией и метаболическими изменениями [8].

Электровозбудимая мембрана кардиомиоцитов является важным элементом процесса ремоделирования миокарда. В частности, имеются данные о том, что Т-система (система инвагинаций, или *t*-трубочек, поверхностной мембраны миоцита внутрь клетки) претерпевает существенные структурные изменения при ряде сердечных патологий различной этиологии (хроническая ишемия, аортальный стеноз, гипертензия, диабетическая кардиомиопатия, ишемия-реперфузия (ИР) и др.), проявляющиеся в дилатации *t*-трубочек, утрате четкой поперечной ориентации и снижении плотности их расположения [9–16].

Тубулярный компартмент радикально отличается от остальной части плазматической мембраны кардиомиоцитов по плотности и экспрессии различных ионных каналов, транспортеров и рецепторов. Именно в Т-системе сконцентрированы потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы L-типа. Распространяющийся по *t*-трубочкам вглубь кардиомиоцита ПД запускает открытие данных каналов и вход внеклеточного Ca^{2+} в цитоплазму кардиомиоцита, что ведет к выбросу саркоплазматического Ca^{2+} в цитоплазму (calcium-induced calcium release, CICR) и последующему сокращению кардиомиоцита. Релаксация клетки достигается тем, что высвобожденный Ca^{2+} захватывается обратно в саркоплазматический ретикулум Ca^{2+} -АТФазой (SERCA), а также выводится из клетки $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменником (NCX) клеточной мембраны кардиомиоцита [17, 18]. Последовательность и синхронность активации всех вышеуказанных электрогенных механизмов имеют важное значение для работы сердца в норме и при патологии. В этой связи особый интерес представляют не только структурные, но и функциональные изменения в тубулярном компартменте мембраны на разных сроках после ИР.

До недавнего времени, однако, не существовало прямых методов исследования электрической активности непосредственно в тубулярном компартменте кардиомиоцитов *in situ*. Используемые электрофизиологические методы регистрации с помощью контактных макроэлектродов характеризуют интегральную электрическую активность агломератов клеток сердца. Эксперименты с внутриклеточной регистрацией токов или потенциалов действия всей мембраны клетки обычно проводятся на изолированных из нормального окружения клетках сердца без возможности дискриминации электрогенных механизмов, локализованных в субмембранных компартментах плазматической мембраны интактных кардиомиоцитов, что еще более ограничивает интерпретацию результатов этих исследований [19–21].

Ранее апробированный нами в экспериментах на изолированных скелетных мышцах лягушки

[22] и изолированном сердце крысы [23, 24] метод внеклеточной регистрации потенциалов действия (ВПД) с использованием стеклянных электродов с тонким кончиком с наружным диаметром до 5 микрон представляется подходом, позволяющим эффективно преодолевать многие из перечисленных выше ограничений.

Таким образом, целью данной работы было исследование динамики изменений в электрогенезе функционально различных отделов мембраны кардиомиоцитов субэпикарда левого желудочка (ЛЖ) у крыс на разных сроках после ИР с использованием метода внеклеточной регистрации и сопоставление с данными об изменениях Т-системы, полученными с использованием конфокальной микроскопии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Модель ИР у крыс, выбранная для данной работы, хорошо охарактеризована и считается наиболее релевантной по отношению к клинической практике [25].

Исследования выполнялись на сердцах лабораторных крыс-самцов линии Wistar (возраст и вес на начало эксперимента 2–4 месяца и 250–300 г соответственно). Во время эксперимента животные содержались в виварии Института эволюционной физиологии и биохимии РАН в стандартных условиях и при свободном доступе к воде и пище. Всего в работе было использовано 27 крыс.

ЭКГ исследование проводилось на крысах, обездвиженных с помощью ингаляции изофлурана (Laboratories Karizoo, S.A., Испания) через маску. Ингаляционная анестезия была выбрана в соответствии с ранее опубликованными рекомендациями для проведения электрокардиографических исследований на крысах [26]. Регистрация ЭКГ осуществлялась в трех стандартных отведениях с использованием одноразовых игольчатых электродов, подключенных к электрокардиографу для ветеринарии Поли-Спектр –8/В. Во время регистрации ЭКГ животных размещали на подогреваемом столике (38°C). Запись кардиограмм осуществлялась перед операцией и перед выведением животных из эксперимента через 2 и 4 нед после ИР. Длительность регистрации составляла 5 мин. Затем в полученных для каждого животного записях ЭКГ осуществлялось усреднение PQRS комплексов для более точной оценки исследуемых параметров.

Коронароокклюзия с последующей реперфузией (ИР-группа) выполнялась на животных, наркотизированных с помощью зоветила (40 мг/кг веса животного; Virbac, Франция) с добавлением ксилантиа (10 мг/кг веса животного; Нита-Фарм, Россия) в соответствии с ранее описанной методикой [27]. В ИР-группе животных лигатура ослаблялась через

45 мин после окклюзии левой коронарной артерии. У ложнооперированных животных (ЛО-группа) лигатура вокруг артерии размещалась в точности, как и в случае ИР-крыс, но без окклюзии артерии. Для проведения искусственной вентиляции легких с помощью аппарата ИВЛ (Kent Scientific TOROTM Dual Mode Ventilator; частота дыхания — 60/мин, дыхательный объем в пределах от 1.5 до 3 мл/100 г массы) проводилась интубация трахеи с предварительной обработкой гортани 2% раствором лидокаина. Окклюзия артерии подтверждалась подъемом сегмента ST на ЭКГ [25].

Изоляция сердца для электрофизиологических исследований проводилась на сроках 24 ч, 2 и 4 нед после ИР. По окончании этих исследований сердца использовались для приготовления поперечных срезов, окрашиваемых для определения размера зоны некроза через 24 после ИР и рубца на более поздних сроках после операции.

Электрофизиологические исследования. Эксперименты проводились на изолированных сердцах крыс в условиях сохраненного синусового ритма при постоянной перфузии сердца аэрируемым физиологическим раствором по методу Лангендорфа. Животных анестезировали с помощью раствора хлоралгидрата (400 мг/кг; Chemical Point UG, Германия), после чего сердце извлекалось и помещалось на установку для ретроградной перфузии, совмещенную с системой микроэлектродной регистрации [24]. Перфузионный раствор представлял собой аэрированный карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂) раствор Тироде со следующим составом: 140 mM NaCl, 4.5 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 10 mM HEPES, 10 mM глюкозы, pH 7.4. Эксперименты проводили при температуре 36–37°C путем контролируемого подогрева перфузирующего раствора. Скорость перфузии составляла 5–7 мл/мин. Удаление из экспериментальной камеры избыточного раствора осуществляли через силиконовую трубочку диаметром 1 мм, подключенную к аспиратору. Изготовление микроэлектродов (патч-пипеток) с диаметром кончика 5 мкм производили с использованием программируемого пуллера (Sutter Instr., Model P-1000, США) из трубочек боросиликатного стекла с наружным диаметром 1.5 мм и внутренним диаметром 0.86 мм. После этого микроэлектрод заполняли раствором Тироде. Сопротивление кончика микроэлектрода, заполненного раствором Тироде, составляло около 2 МОм. Устранение сократительных ответов обеспечивалось добавлением в перфузирующий раствор блокатора миозиновой АТФазы 2,3-бутандион монооксида (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 30 мМ. Микроэлектрод, подключенный к входу усилителя АМ-1500 (National Instruments, США), подводили к различным участкам поверхности ЛЖ исследуемых сердец при помощи высокопрецизионного микроманипулятора NMH-21

(Narishige, Япония). При образовании устойчивого контакта кончика микроэлектрода с поверхностью сердца, как показано на рис. 1а, регистрировались авторитмические систолические ВПД с частотой в диапазоне 0.3–1 Гц.

Длительность непрерывной регистрации ВПД от конкретной точки по времени могла составлять один и более часа. После регистрации от данной точки 10–20 последовательных ВПД кончик микропипетки перемещался с шагом 50–100 мкм в соседнюю точку регистрации в пределах того же участка. Размер каждого участка составлял $\approx 500 \times 500$ мкм. В среднем в каждом эксперименте выполнялось картирование 10–12 участков от базального участка ЛЖ в направлении к верхушке сердца с аналогичным числом регистрируемых точек в пределах исследуемого участка. Таким образом, в целом от каждого сердца суммарно осуществлялось от 100 до 144 отведений в различных участках ЛЖ. Регистрируемые сигналы оцифровывались с частотой 10 кГц при помощи аналого-цифрового преобразователя NI USB-6211 (National Instruments, США) и анализировались с помощью программного пакета WinWCP 5 (SIPBS, Великобритания).

Оценка размера ИМ. Сердце разрезали на 5–6 поперечных срезов, которые после окраски визуализировались под цифровым USB-микроскопом со штативом (модель МИКМЕД 5.0, Россия). Для оценки размера зоны некроза через 24 ч после ИР и доли рубцовой ткани через 2–4 нед после операции использовались поперечные срезы сердца контрольных, ЛО- и ИР-крыс, окрашенные трифенилтетразолием хлористым (1% раствор трифенилтетразолия хлористого в 0.2 M Tris, pH 7.8) в соответствии с ранее описанной методикой [28]. Пример такого окрашенного среза сердца крысы ИР-группы (четыре недели после ИР) представлен на рис. 1б. Анализ полученных изображений проводился планиметрическим методом при помощи программы Fiji — ImageJ. Доля некротической или рубцовой ткани миокарда ЛЖ определялась как отношение площади некротической/рубцовой ткани к общей площади стенок ЛЖ для каждого поперечного среза. Затем производился расчет среднего значения для всего сердца.

Анализ распределения t-трубочек кардиомиоцитов изолированного сердца с использованием конфокальной микроскопии. Кардиомиоциты субэпикарда исследовали, используя инвертированный лазерный сканирующий конфокальный микроскоп Leica TCS SP5, оборудованный резонансным сканнером (8000 Hz) и 20–60x (NA = 1.3) объективы (Leica, Germany, Wetzlar), в соответствии с ранее описанным методом [16]. Коротко, в каждом эксперименте получали снимки 7–15 случайно выбранных на поверхности ЛЖ полей (205 × 205 мкм). Изолированное сердце, окрашенное с помощью перфузии флуоресцентным красителем DI-8-ANEPPS

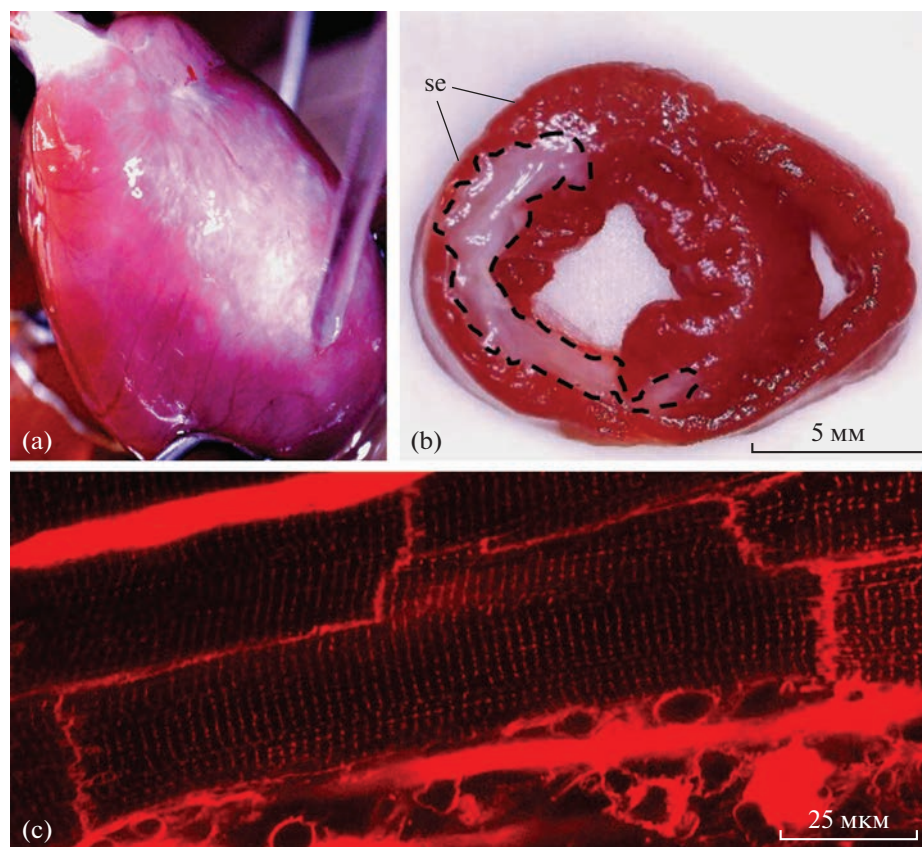


Рис. 1. Изолированное сердце крысы через четыре недели после ИР с подведенным к ЛЖ микроэлектродом для регистрации вПД (а) и поперечный срез сердца с рубцовой тканью (границы рубцовой ткани обозначены пунктирной линией), окрашенный раствором трифенилтетразолия хлористого (б). Микрофотография окрашенного DI-8-ANEPPS участка миокарда ЛЖ, полученная с использованием конфокального микроскопа (с). SE — субэпикард.

(10 мкМ, Santa Cruz Biotechnology, США) и обработанное ЛЖ в сторону объектива микроскопа, располагалось на столике микроскопа в специальной чашечке Петри с тонким (60 микрон) стеклянным дном. Для облучения образца использовали аргоновый лазер (при 80% мощности). Регистрация флуоресцентных сигналов велась с использованием 600–690 nm оптических фильтров. Поскольку интенсивность фоновой флуоресценции зависит от многих факторов, включая плотность капиллярной сети и соединительной ткани в поле наблюдения, смещение и чувствительность РМТ-детектора подбирались индивидуально для каждого случая, чтобы сигнал находился в пределах линейного диапазона детектора. Выбранный диаметр точечной диафрагмы (pinhole) системы составлял 100 микрон. В каждом эксперименте флуоресцентный сигнал регистрировался в нескольких произвольно выбранных в пределах первого слоя кардиомиоцитов субэпикарда ЛЖ сердца полях наблюдения, как показано на рис. 1с. Первичный анализ всех накопленных в этих исследованиях данных производился с помощью Fiji — ImageJ программного обеспечения. Для каждого исследованного кардиомио-

цита анализировалось распределение интервалов между соседними *t*-трубочками в пределах узкого (1 μм шириной) района интереса, параллельного длинной оси клетки, и рассчитывались средняя длина интервалов между *t*-трубочками и доля интервалов, длина которых превышает 3 μм (т.е. доля интервалов с выпадающими *t*-трубочками).

Все данные проверяли на нормальность распределения (тест Шапиро—Уилка) и, в соответствии с результатами этой проверки, различия между значениями в контрольной и экспериментальных группах оценивали как достоверные при $p < 0.05$, используя соответствующий параметрический или непараметрический тест. Представленные в тексте данные приведены в виде средних значений величин с их стандартными ошибками.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

ЭКГ-исследования. Наиболее заметные изменения в электрокардиограммах были отмечены у крыс ИР-группы через 2–4 нед после операции по сравнению с группой ЛО-крыс и контролем (ЭКГ, снятые до операции; рис. 2). Анализ усредненных

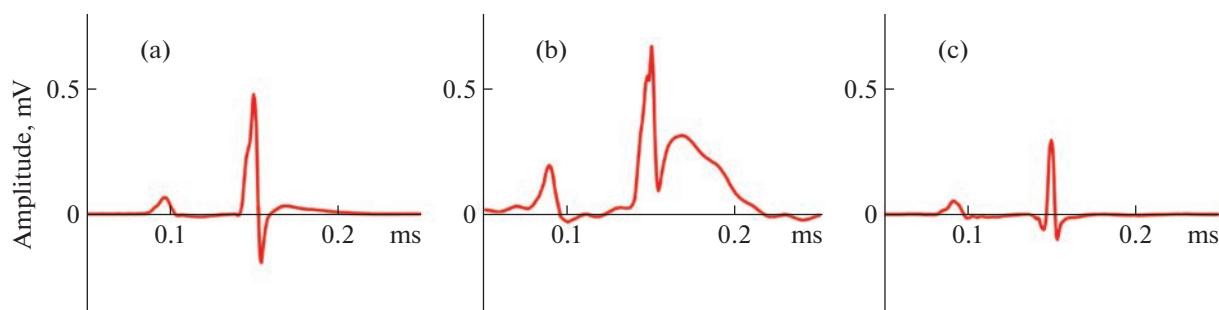


Рис. 2. Примеры усредненных комплексов QRS II стандартного отведения у крысы до операции (а), сразу после операции (б) и через 4 нед после ИР (с).

записей II стандартного отведения ЭКГ показал достоверные изменения ряда параметров по сравнению с контролем, а именно снижение амплитуды S-зубца, R-зубца, T-зубца (табл. 1). Также у крыс ИР-группы с интрамуральным ИМ отмечалось значительное увеличение амплитуды Q-зубца, который в ЭКГ крыс либо отсутствует, либо крайне мал в норме (рис. 2). Помимо этого, амплитуда S- и T-зубца ЭКГ крыс после ИР достоверно была ниже аналогичных значений в группе ЛО-крыс. У некоторых животных через 2–4 нед после ИР наблюдалась инверсия зубца T (рис. 2с). Достоверных отличий между исследованными параметрами ЭКГ крыс контрольной и ЛО-групп выявлено не было.

Электрофизиологические исследования. В электрофизиологических экспериментах были исследованы изолированные сердца ЛО-крыс (5 крыс), и сердца крыс через 24 ч (6 крыс), через 2 нед (3 крысы) и через 4 нед (4 крысы) после ИР. На рис. 3 представлены суперпозиция нормализованных ответов от индивидуальных точек регистрации вПД1 и вПД2 от субэпикардиальных кардиомиоцитов ЛЖ ЛО-крысы и их усредненные значения.

Видно, что профили вПД кардиомиоцитов ЛЖ сердца ЛО-группы крыс представляли собой сигналы двух типов. Сигналы первого типа (вПД1), характеризующиеся наличием одного быстрого негативного пика (P1), встречались относительно редко ($15.2 \pm 2.1\%$ от всех регистраций, 5 крыс). Значительно чаще ($85.4 \pm 3.2\%$ от всех регистра-

ций, 5 крыс) регистрировались вПД второго типа (вПД2), которые характеризовались наличием двух выраженных негативных пиков: первого — быстрого (P1), и второго (P2), сильно варьирующего от точки регистрации к точке как по амплитуде, так и по длительности пика. Средние значения времени спада до 90% до базовой линии (T_{90}) вПД1 и вПД2 ЛО-крыс составляли 6.05 ± 0.65 и 41.4 ± 6.5 мс соответственно. Это близко к значениям, полученным нами ранее у контрольных крыс [24, 29, 30].

Спустя сутки после ИР наблюдались достоверные изменения ряда исследуемых параметров вПД1 и вПД2 кардиомиоцитов поверхности ЛЖ. Так, у вПД1 после его окончания отчетливо наблюдалось появление позитивной фазы следовой гиперполяризации (СГ), а у вПД2 отмечалось снижение амплитуды второго пика (рис. 4).

Через четыре недели после ИР указанные изменения достигали максимальных значений с одновременным увеличением длительности T_{90} вПД1 (рис. 5). При этом СГ наблюдалась и у вПД2. Частота встречаемости вПД1 и вПД2 на всех сроках после ИР достоверно не отличалось от значений ЛО-крыс ($p > 0.05$; дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса) и составляла в среднем 17.2 ± 3.1 и $83.4 \pm 6.2\%$.

Оценка размера ИМ. Установлено, что доля рубцовой ткани, рассчитанная на основе анализа поперечных срезов стенки ЛЖ, варьировала в диапа-

Таблица 1. Изменения основных исследованных параметров ЭКГ крыс ИР-группы через 2–4 нед после операции

	Контроль ($n = 24$)	ЛО ($n = 6$)	ИР ($n = 12$)
Амплитуда Q зубца, мВ	-0.012 ± 0.002	-0.011 ± 0.005	$-0.051 \pm 0.019^*$
Амплитуда R зубца, мВ	0.667 ± 0.035	0.574 ± 0.028	$0.425 \pm 0.037^*$
Амплитуда S зубца, мВ	-0.222 ± 0.027	-0.289 ± 0.082	$-0.081 \pm 0.017^* \#$
Амплитуда T зубца, мВ	0.106 ± 0.013	0.089 ± 0.007	$0.011 \pm 0.019^* \#$

* — достоверное отличие от контрольных значений ($p < 0.05$; one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки);

— достоверное отличие от параметров ЭКГ ЛО-крыс ($p < 0.05$; one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки);

n — количество животных в каждой группе.

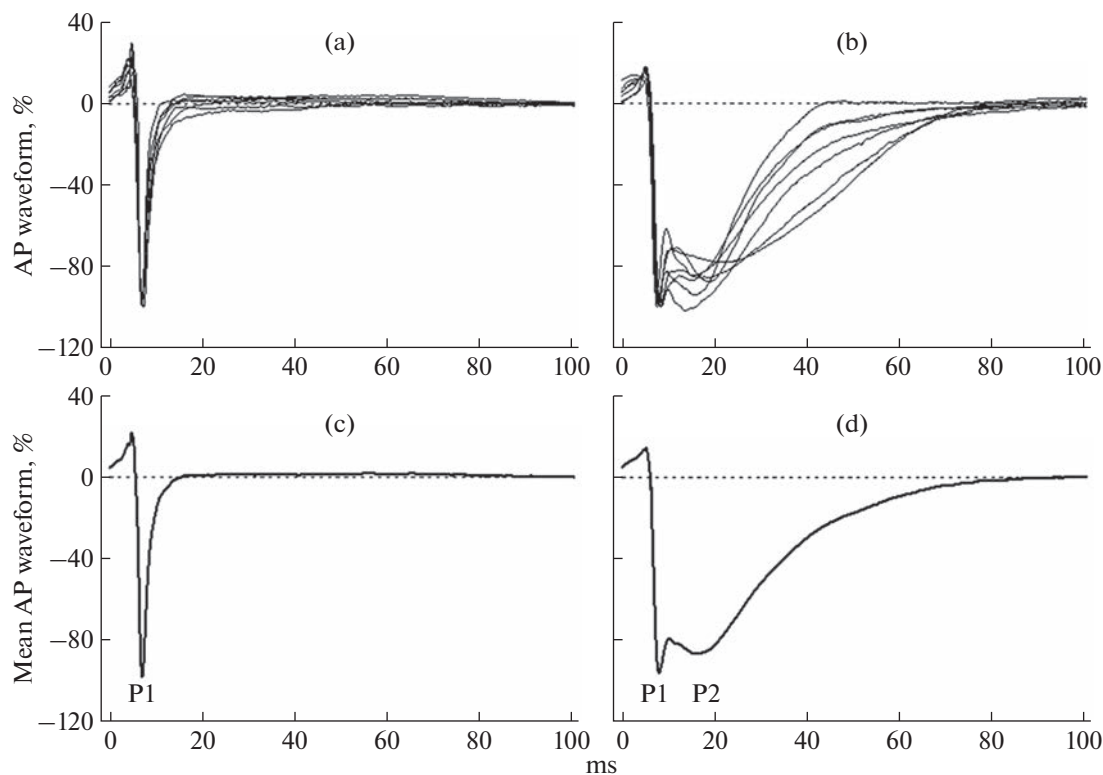


Рис. 3. Суперпозиция нормализованных профилей вПД1 (а) и вПД2 (б) от индивидуальных точек регистрации (в пределах одного участка) субэпикарда ЛЖ сердца ЛО крысы и их усредненные значения (панели (с) и (д) — вПД1 и вПД2 соответственно). Все сигналы нормализованы к величине их первого и единственного для вПД1 негативного пика (P1). P2 — метка второго негативного пика в составе вПД2 сигнала.

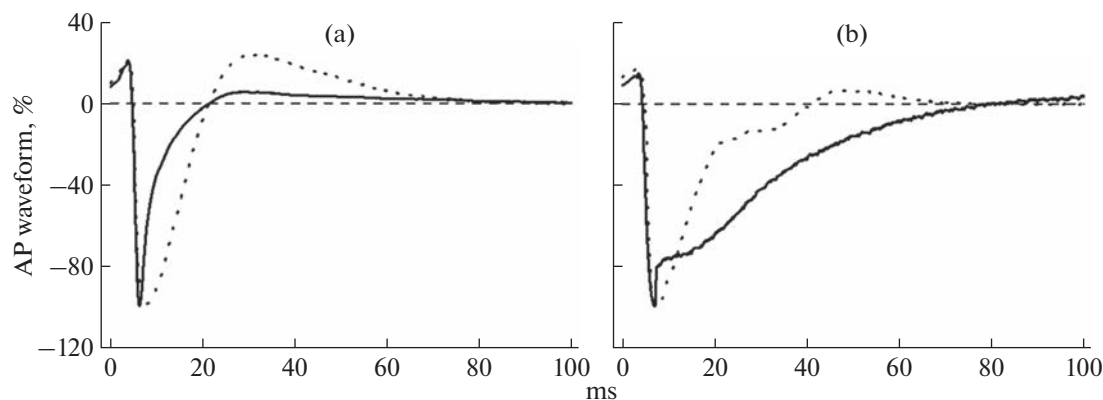


Рис. 4. Примеры вПД1 (а) и вПД2 (б) кардиомиоцитов субэпикарда ЛЖ крысы через 24 ч (сплошная линия) и 4 нед (пунктирная линия) после ИР.

зоне от 5 до 35% от общей площади стенок ЛЖ, при этом средние значения относительного размера зоны некроза через 24 ч после ИР (5 крыс) достоверно отличалось от доли рубцовой ткани через 4 нед (7 крыс) после операции ($30.8 \pm 1.7\%$ и $13.8 \pm 3.8\%$ соответственно; $p < 0.05$; one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки).

На разных сроках после ИР как зона некроза, так и рубцовая ткань, как правило, не затрагивают субэпикард (интрамуральный инфаркт), от кардиомиоцитов которого проводилась регистрация вПД. Это соответствует данным о том, что ишемия менее 45 мин сопровождается минимальной гибелью клеток субэпикарда [31, 32].

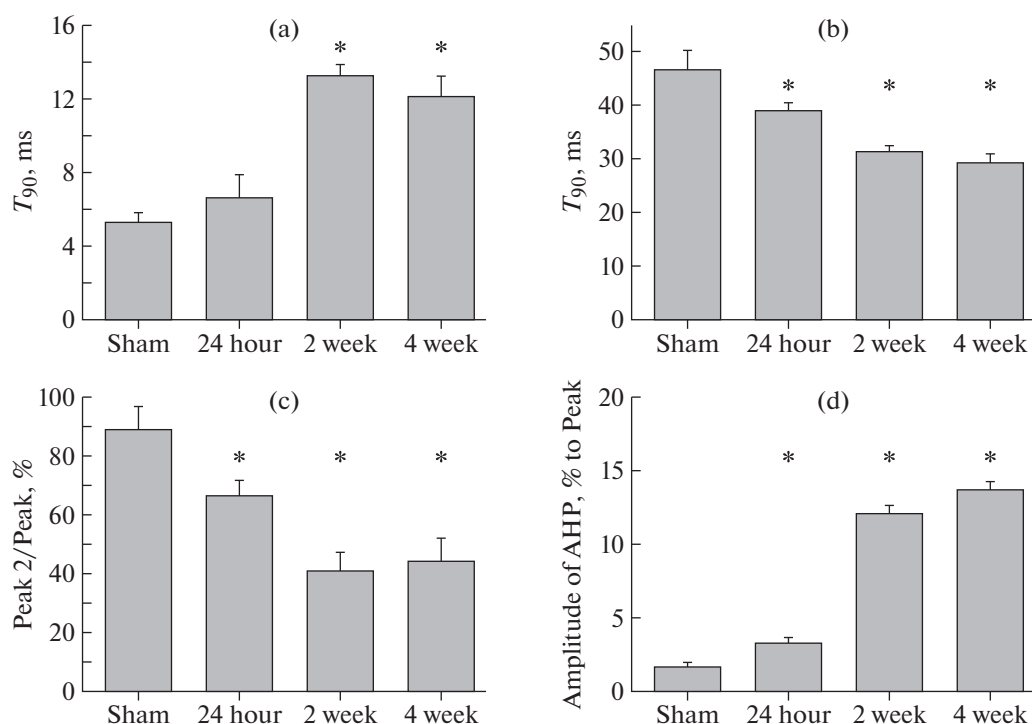


Рис. 5. Значения характеристик вПД1 и вПД2 ЛЖ сердец ЛО-крыс (Sham) и крыс через 24 ч, 2 и 4 нед после ИР (5, 6, 3 и 4 сердца в каждой из групп соответственно, 100–144 регистрации в каждом сердце). (а) – T_{90} вПД1; (б) – T_{90} вПД2; (с) – относительная амплитуда 2-го пика вПД2 (% от амплитуды первого негативного пика сигнала); (д) – относительная пиковая амплитуда СГ (АНР) вПД1 (% от амплитуды негативного пика сигнала). * – достоверные отличия средних значений от среднего значения аналогичных параметров ЛО-крыс. ($p < 0.05$; one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки).

Поскольку у крыс, использовавшихся в электрофизиологических экспериментах, зоны некроза могли появиться в ходе перфузии изолированного сердца, были исследованы срезы сердец трех здоровых (контрольных) крыс по завершении равной по времени процедуры перфузии и микроэлектродного картирования (3 ч). Во всех этих исследованиях не было выявлено некротических зон, что позволяет говорить об отсутствии дополнительно, повреждающего миокард воздействия в период проведения электрофизиологических экспериментов на изолированном сердце.

Анализ распределения t-трубочек кардиомиоцитов изолированного сердца с использованием конфокальной микроскопии. В экспериментах, направленных на изучение целостности структуры тубулярного аппарата кардиомиоцитов, были изучены сердца

ЛО- (3 крысы) и ИР-крыс (3 крысы) через четыре недели после операции. Результаты этого анализа не показали статистически значимых отличий между экспериментальными группами ни по среднему интервалу, ни в частоте встречаемости длинных интервалов между соседними t-трубочками ($p > 0.05$; t-критерий Стьюдента; табл. 2). При этом параметры интервалов между соседними t-трубочками у ЛО-крыс сходны с данными, полученными для контроля нами ранее [16].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе эксперимента было установлено, что средние значения размеров зоны некроза миокарда ЛЖ через 24 ч и рубцовой ткани через 4 нед после ИР достоверно различались между собой

Таблица 2. Среднее значение длины интервалов между соседними t-трубочками и доля интервалов, длина которых превышает 3 μm , в группе ЛО-крыс и через 4 нед после ИР

	Средний интервал между соседними t-трубочками, μm	Доля длинных (>3 μm) интервалов, %
ЛО-крысы ($n = 3$)	2.04 ± 0.08	14.47 ± 0.74
ИР-крысы ($n = 3$)	1.87 ± 0.19	11.92 ± 2.54

(30.8 ± 1.7 и $13.8 \pm 3.8\%$ соответственно). Более низкое среднее значение доли рубцовой ткани через 4 недели после ИР по сравнению с некротической зоной через сутки после операции может быть объяснено замещением инфарктного миокарда рубцовой тканью. Данный процесс сопровождается снижением толщины стенки ЛЖ в инфарктной области в результате резорбции некротизированного участка миокарда [33].

Некроз и формирование рубца после ИМ сопровождается изменением параметров ЭКГ [34–37]. В наших экспериментах во II стандартном отведении ЭКГ у крыс амплитуда Q-зубца в норме была крайне мала, однако в группе ИР-крыс происходит ее значительное увеличение. Предыдущие исследования на крысах показали значительные изменения сегмента ST при инфаркте миокарда [34] и при ишемии миокарда [35], однако четких критериев изменений сегмента ST не установлено [36]. В наших экспериментах после ИР амплитуды S- и T-зубца были ниже контрольных значений и значений амплитуд в группе ЛО-крыс. Также у животных ИР-группы встречались инвертированные T-зубцы, что и могло быть причиной снижения среднего значения амплитуды этого зубца. Появление выраженного Q-зубца одновременно с инверсией T-зубца является признаком развития трансмурального инфаркта [37].

Изменения в электрогенезе кардиомиоцитов субэпикарда значительно растянуты во времени. Начиная с 24 ч и вплоть до четвертой недели после ИР происходило увеличение длительности T_{90} вПД1 и амплитуды позитивной фазы СГ, достигающее максимальных значений к четырем неделям после ИР. На этом же сроке (четыре недели после ИР) выраженная СГ является компонентом и вПД2. Кроме того, с 24 ч после ИР выявляется достоверное укорочение T_{90} вПД2 по сравнению с ЛО-крысами (см. рис. 4).

В соответствии с нашими предыдущими исследованиями с использованием данного метода в сердцах контрольных животных регистрировались сигналы двух, различных по количеству негативных пиков, типов вПД: вПД1 и вПД2 [24, 29, 30]. Все имеющиеся данные, касающиеся техники внеклеточной регистрации, структурной организации Т-системы кардиомиоцитов желудочков сердца и распределения различных ионных каналов и электрогенных транспортеров в поверхностной мембране и в мембране Т-системы кардиомиоцита свидетельствуют в пользу того, что тип внеклеточно регистрируемых ПД в наших условиях определяется в основном позицией кончика регистрирующего электрода на поверхности кардиомиоцита по отношению к позиции выходов (устьев) *t*-трубочек [24]. А именно, вПД1 регистрируются в тех случаях, когда электрод был помещен в участок мембраны кардиомиоцита, не содержащий устьев *t*-

трубочек и, соответственно, его основной негативный пик формируется входящими токами, идущими через каналы поверхностной мембраны клетки: в основном через натриевые потенциал-чувствительные каналы. В том же случае, если кончик регистрирующей пипетки был помещен в участок мембраны кардиомиоцита, содержащий одно или более устьев *t*-трубочек, регистрируется более сложный вПД2 сигнал, в котором присутствие второго негативного пика отражает активность электрогенных механизмов, локализованных в мембране Т-системы кардиомиоцита. Это, в первую очередь, Ca^{2+} -каналы L-типа, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник и некоторые подтипы K^+ -каналов [38, 39]. Работа каких конкретно ионных механизмов претерпевает изменения, приводя к продлению спада вПД1, снижению амплитуды второго пика вПД2 и появлению СГ после ИР, предстоит еще выяснить.

Ранее было показано, что при стрептозотоциновом диабете (СТЗ-СД) ПД желудочковых кардиомиоцитов крыс замедлены из-за подавления K^+ -токов. А именно, были приведены свидетельства сниженной в кардиомиоцитах СТЗ-СД-крыс активности/экспрессии трех типов K^+ -каналов: каналов выходящего выпрямления, каналов сверхмедленного тока (quasi-steady-state, I_{ss}) и каналов тока обратного выпрямления (I_{K1}) [40–42].

Наши недавние результаты предполагают, что патогенез СТЗ-СД в отношении изменений ионных проводимостей желудочковых кардиомиоцитов более сложен, и наряду с подавлением части потенциал-зависимых K^+ -каналов существует также и активация (возможно, компенсаторная) K^+ -каналов реполяризационного резерва, обеспечивающих появление/усиление фазы СГ вПД. В частности, такими каналами могут быть апамин-чувствительные Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы низкой проводимости (SK каналы), формирующие фазу СГ ПД [15, 16, 30].

Имеющий место в представленных результатах рост СГ также может быть связан с экспрессией SK каналов в желудочковых кардиомиоцитах, что подтверждается работами других авторов, выполненных на сердцах человека и животных моделях с сердечной недостаточностью и после инфаркта [43–46].

Важное различие в ремоделировании вПД после ИР по сравнению с диабетической кардиомиопатией заключается в том, что частота встречаемости вПД1 и вПД2 после ИР не изменялась, тогда как при развитии СТЗ-СД наблюдались существенное увеличение доли регистраций вПД1 и снижение доли регистраций вПД2 [15], что может быть ассоциировано с дезорганизацией Т-системы кардиомиоцитов и уменьшением плотности распределения устьев *t*-трубочек на поверхности. Отсутствие таких изменений может свидетельствовать об отсутствии морфологических изменений в этом мембранном компартменте субэпикардальных кардиомиоцитов

после ИР, что подтверждается и результатами, полученными с использованием конфокальной микроскопии. Хотя структурное ремоделирование Т-тубулярной системы характерно для широкого спектра сердечных патологий, включая ИР [10, 12–14], и порой даже предшествует клиническим проявлениям желудочковой дисфункции [9], в нашей работе достоверных различий в исследованных параметрах организации *t*-трубочек между ЛО- и ИР-крысами выявлено не было. Возможно, это обусловлено сравнительно небольшой выборкой экспериментальных животных. Также отсутствие признаков структурного ремоделирования Т-системы на четвертой неделе после ИР вкупе с изменениями параметров вПД могут указывать на то, что функциональные модификации Т-системы эпикардиальных кардиомиоцитов после ИР могут предшествовать их структурным изменениям.

Существенное увеличение на этом фоне T_{90} вПД1 и снижение амплитуды второго пика у вПД2 предположительно могут свидетельствовать о перераспределении потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов L-типа между поверхностной мембраной и мембраной тубулярного компартмента кардиомиоцитов. Однако это предположение еще предстоит проверить.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям, разработанным и утвержденным локальным этическим комитетом ИЭФБ РАН (Протокол № 5/2021 от 27.05.2021 г.)

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00967-23-00 и при частичной поддержке гранта РФФИ № 20-34-90010.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы, планирование эксперимента (А.В.С., М.Г.Д., И.В.К.), сбор данных (А.В.С., И.В.К., Е.В.Н., Ю.А.Ф., А.А.П.), обработка данных (А.В.С., И.В.К., Е.В.Н., Ю.А.Ф.), написание и редактирование манускрипта (А.В.С., М.Г.Д., И.В.К.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB (1977) The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 56: 786–794. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.56.5.786>
2. Boatwright RB, Downey HF, Bashour FA, Crystal GJ (1980) Transmural variation in autoregulation of coronary blood flow in hyperperfused canine myocardium. *Circ Res* 47: 599–609. <https://doi.org/10.1161/01.RES.47.4.599>
3. Christia P, Bujak M, Gonzalez-Quesada C, Chen W, Dobaczewski M, Reddy A, Frangogiannis NG (2013) Systematic characterization of myocardial inflammation, repair, and remodeling in a mouse model of reperfused myocardial infarction. *J Histochem Cytochem* 61: 555–570. <https://doi.org/10.1369/0022155413493912>
4. Reed GW, Rossi JE, Cannon CP (2017) Acute myocardial infarction. *Lancet* 389: 197–210. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30677-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30677-8)
5. Lindsey ML, Bolli R, Canty JM, Du XJ, Frangogiannis NG, Frantz S, Gourdie RG, Holmes JW, Jones SP, Kloner RA, Lefer DJ, Liao R, Murphy E, Ping P, Przyklenk K, Recchia FA, Longacre LS, Ripplinger CM, Van Eyk JE, Heusch G (2018) Guidelines for experimental models of myocardial ischemia and infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 314: H812–H838. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00335.2017>
6. Yeap XY, Dehn S, Adelman J, Lipsitz J, Thorp EB (2013) Quantitation of acute necrosis after experimental myocardial infarction. *Methods Mol Biol* 1004: 115–133. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-383-1_9
7. Liu T, Howarth AG, Chen Y, Nair AR, Yang HJ, Ren D, Tang R, Sykes J, Kovacs MS, Dey D, Slomka P, Wood JC, Finney R, Zeng M, Prato FS, Francis J, Berman DS, Shah PK, Kumar A, Dharmakumar R (2022) Intramyocardial Hemorrhage and the “Wave Front” of Reperfusion Injury Compromising Myocardial Salvage. *J Am Coll Cardiol* 79: 35–48. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.10.034>
8. Frantz S, Hundertmark MJ, Schulz-Menger J, Bengel FM, Bauersachs J (2022) Left ventricular remodelling post-myocardial infarction: pathophysiology, imaging, and novel therapies. *Eur Heart J* 43: 2549–2561. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac223>
9. Wei S, Guo A, Chen B, Kutschke W, Xie YP, Zimmerman K, Weiss RM, Anderson ME, Cheng H, Song LS (2010) T-tubule remodeling during transition from hypertrophy to heart failure. *Circ Res* 107: 520–531. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.212324>
10. Xie YP, Chen B, Sanders P, Guo A, Li Y, Zimmerman K, Wang LC, Weiss RM, Grumbach IM, Anderson ME, Song LS (2012) Sildenafil prevents and reverses transverse-tubule remodeling and Ca^{2+} handling dysfunction in right ventricle failure induced by pulmonary artery hypertension. *Hypertension* 59: 355–362. <https://doi.org/10.1161/111.180968>
11. Ibrahim M, Gorelik J, Yacoub MH, Terracciano CM (2011) The structure and function of cardiac t-tubules in health and disease. *Proc Biol Sci* 278: 2714–2723. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0624>

12. Ibrahim M, Terracciano CM (2013) Reversibility of T-tubule remodelling in heart failure: Mechanical load as a dynamic regulator of the T-tubules. *Cardiovasc Res* 98: 225–232. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvt016>
13. Louch WE, Sejersted OM, Swift F (2010) There goes the neighborhood: Pathological alterations in T-tubule morphology and consequences for cardiomyocyte Ca^{2+} handling. *J Biomed Biotechnol* 2010: 503906. <https://doi.org/10.1155/2010/503906>
14. Wang S, Zhou Y, Luo Y, Kan R, Chen J, Xuan H, Wang C, Chen J, Xu T, Li D (2021) SERCA2a ameliorates cardiomyocyte T-tubule remodeling via the calpain/JPH2 pathway to improve cardiac function in myocardial ischemia/reperfusion mice. *Sci Rep* 11: 2037. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81570-4>
15. Кубасов ИВ, Чистякова ОВ, Сухов ИБ, Панов АА, Добрецов МГ (2020) Изменения внеклеточно регистрируемых потенциалов действия изолированного сердца крысы при развитии стрептозототинового диабета. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 106: 1266–1277. [Kubasov IV, Chistyakova OV, Sukhov IB, Panov AA, Dobretsov MG (2020) Functional changes in the T-system of cardiomyocytes of the isolated rat heart during development of streptozotocin-induced diabetes. *Russ J Physiol* 106: 1266–1277. (In Russ)]. <https://doi.org/10.31857/s0869813920100052>
16. Kubasov IV, Bobkov DE, Stepanov AV, Sukhov IB, Chistyakova OV, Dobretsov MG (2020) Evaluation of the T-System of Rat Cardiomyocytes during Early Stages of Streptozotocin-Induced Diabetes. *Russ J Physiol* 106: 1098–1108. <https://doi.org/10.31857/S0869813920090046>
17. Swift F, Franzini-Armstrong C, Øyehaug L, Enger UH, Andersson KB, Christensen G, Sejersted OM, Louch WE (2012) Extreme Sarcoplasmic Reticulum Volume Loss and Compensatory T-Tubule Remodeling after Serca2 Knockout. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 3997–4001. <https://doi.org/10.1073/pnas.1120172109>
18. Pinali C, Bennett H, Davenport JB, Trafford AW, Kitmitto A (2013) Three-Dimensional Reconstruction of Cardiac Sarcoplasmic Reticulum Reveals a Continuous Network Linking Transverse-Tubules: This Organization Is Perturbed in Heart Failure. *Circ Res* 113: 1219–1230. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.301348>
19. Knollmann BC, Tranquillo J, Sirenko SG, Henriquez C, Franz MR (2002) Microelectrode study of the genesis of the monophasic action potential by contact electrode technique. *J Cardiovasc Electrophysiol* 13: 1246–1252. <https://doi.org/10.1046/j.1540-8167.2002.01246.x>
20. Kondo M, Nesterenko V, Antzelevitch C (2004) Cellular basis for the monophasic action potential. Which electrode is the recording electrode? *Cardiovasc Res* 63: 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.05.003>
21. Knollmann BC, Schober T, Petersen AO, Sirenko SG, Franz MR (2007) Action potential characterization in intact mouse heart: steady-state cycle length dependence and electrical restitution. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H614–621. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01085.2005>
22. Kubasov IV, Dobretsov M (2012) Two types of extracellular action potentials recorded with narrow-tipped pipettes in skeletal muscle of frog, *Rana temporaria*. *J Physiol* 590: 2937–2944. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.230813>
23. Kubasov IV, Stepanov AV, Györke S (2017) Action potential heterogeneity as revealed by extracellular microelectrode recording from the surface of the isolated rat heart. *J Evol Biochem Phys* 53: 515–518. <https://doi.org/10.1134/S0022093017060102>
24. Kubasov IV, Stepanov A, Bobkov D, Radwanski PB, Terpilowski MA, Dobretsov M, Györke S (2018) Sub-cellular Electrical Heterogeneity Revealed by Loose Patch Recording Reflects Differential Localization of Sarcoplasmic Ion Channels in Intact Rat. *Front Physiol* 9: 61. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00061>
25. Ciuffreda MC, Tolva V, Casana R, Gneccchi M, Vanoli E, Spazzolini C, Roughan J, Calvillo L (2014) Rat Experimental Model of Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: An Ethical Approach to Set Up the Analgesic Management of Acute Post-Surgical Pain. *PLoS One* 9: e95913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095913>
26. Murakami M, Niwa H, Kushikata T, Watanabe H, Hirota K, Ono K, Ohba T (2014) Inhalation anesthesia is preferable for recording rat cardiac function using an electrocardiogram. *Biol Pharm Bull* 37: 834–839. <https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00012>
27. Zhang R, Han D, Li Z, Shen C, Zhang Y, Li J, Yan G, Li S, Hu B, Li J, Liu P (2018) Ginkgolide C alleviates myocardial ischemia/reperfusion-induced inflammatory injury via inhibition of CD40-NF- κ B pathway. *Front Pharmacol* 9: 109. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00109>
28. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W (1981) Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J* 101: 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-X](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-X)
29. Kubasov IV, Dobretsov MG, Bobkov DE, Panov AA (2020) A Putative Relationship between Polymorphism of Extracellularly Recorded Action Potentials and Organization of the T-tubular System in Rat Ventricular and Atrial Cardiomyocytes. *J Evol Biochem Phys* 56: 333–337. <https://doi.org/10.1134/S0022093020040043>
30. Kubasov IV, Stepanov AV, Panov AA, Chistyakova OV, Sukhov IB, Dobretsov MG (2021) Role of Potassium Currents in the Formation of After-Hyperpolarization Phase of Extracellular Action Potentials Recorded from the Control and Diabetic Rat Heart Ventricular Myocytes. *J Evol Biochem Phys* 57: 1511–1521. <https://doi.org/10.1134/S0022093021060272>
31. Tejada T, Tan L, Torres RA, Calvert JW, Lambert JP, Zaidi M, Husain M, Berce MD, Naib H, Pejler G, Abrink M, Graham RM, Lefer DJ, Naqvi N, Husain A (2016) IGF-1 degradation by mouse mast cell protease 4 promotes cell death and adverse cardiac remodeling days after a myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113: 6949–6954. <https://doi.org/10.1073/pnas.1603127113>
32. Shimizu Y, Nicholson CK, Lambert JP, Barr LA, Kuek N, Herszenhaut D, Tan L, Murohara T, Hansen JM, Husain A, Naqvi N, Calvert JW (2016) Sodium sulfide attenuates ischemic-induced heart failure by enhancing prote-

- asomal function in an Nrf2-dependent manner. *Circ Heart Fail* 9: e002368.
https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002368
33. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR (1978) Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. *Am J Pathol* 90: 57–70.
 34. Chrastina A, Pokreisz P, Schnitzer JE (2014) Experimental model of transthoracic, vascular-targeted, photodynamically induced myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 306: H270–H278.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00818.2012
 35. Speechly-Dick ME, Mocanu MM, Yellon DM (1994) Protein kinase C. Its role in ischemic preconditioning in the rat. *Circ Res* 75: 586–590.
https://doi.org/10.1161/01.RES.75.3.586
 36. Konopelski P, Ufnal M (2016) Electrocardiography in rats: a comparison to human. *Physiol Res* 65: 717–725.
https://doi.org/10.33549/physiolres.933270
 37. Normann SJ, Priest RE, Benditt EP (1961) Electrocardiogram in the normal rat and its alteration with experimental coronary occlusion. *Circ Res* 9: 282–287.
https://doi.org/10.1161/01.RES.9.2.282
 38. Brette F, Orchard C (2003) T-Tubule Function in Mammalian Cardiac Myocytes. *Circ Res* 92: 1182–1192.
https://doi.org/10.1161/01.RES.0000074908.17214.FD
 39. Hong TT, Shaw RM (2017) Cardiac T-tubule microanatomy and function. *Physiol Rev* 97: 227–252.
https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2015
 40. Jourdon P, Feuvray D (1993) Calcium and potassium currents in ventricular myocytes isolated from diabetic rats. *J Physiol* 470: 411–429.
https://doi.org/10.1113/jphysiol.1993.sp019866
 41. Shimoni Y, Ewart HS, Severson D (1999) Insulin stimulation of rat ventricular K⁺ currents depends on the integrity of the cytoskeleton. *J Physiol* 514: 735–745.
https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.735ad.x
 42. Brouillette J, Clark RB, Giles WR, Fiset C (2004) Functional properties of K⁺ currents in adult mouse ventricular myocytes. *J Physiol* 559: 777–798.
https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063446
 43. Chang PC, Turker I, Lopshire JC, Masroor S, Nguyen BL, Tao W, Rubart M, Chen PS, Chen Z, Ai T (2013) Heterogeneous upregulation of apamin-sensitive potassium currents in failing human ventricles. *J Am Heart Assoc* 2: e004713.
https://doi.org/10.1161/JAHA.112.004713
 44. Chua SK, Chang PC, Maruyama M, Turker I, Shino-hara T, Shen MJ, Chen Z, Shen C, Rubart-von der Lohe M, Lopshire JC, Ogawa M, Weiss JN, Lin SF, Ai T, Chen PS (2011) Small conductance calcium-activated potassium channel and recurrent ventricular fibrillation in failing rabbit ventricles. *Circ Res* 108: 971–979.
https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.238386
 45. Gui L, Bao Z, Jia Y, Qin X, Cheng ZJ, Zhu J, Chen QH (2013) Ventricular tachyarrhythmias in rats with acute myocardial infarction involves activation of small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 304: H118–H130.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00820.2011
 46. Bonilla IM, Long VP III, Vargas-Pinto P, Wright P, Belevych A, Lou Q, Mowrey K, Yoo J, Binkley PF, Fedorov VV, Györke S, Janssen PML, Kilic A, Mohler PJ, Carnes CA (2014) Calcium-Activated Potassium Current Modulates Ventricular Repolarization in Chronic Heart Failure. *PLoS One* 9: e108824.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108824

REMODELING OF EXTRACELLULARLY RECORDED ACTION POTENTIALS OF RAT HEART SUBEPICARDIAL CARDIOMYOCYTES AFTER ISCHEMIA REPERFUSION INJURY

A. V. Stepanov^{a, #}, M. G. Dobretsov^a, E. V. Novikova, Yu. A. Filippov^a, A. A. Panov, and I. V. Kubasov^a

^aSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

[#]e-mail: botanik2407@gmail.com

A number of systemic heart diseases leading to the development of heart failure (aortic stenosis, hypertension, diabetic cardiomyopathy, reperfusion injury etc.) are accompanied by a pronounced reorganization of the T-system of cardiomyocytes, both in humans and animals. However, structural-functional changes within this membrane compartment of cardiomyocytes following ischemia-reperfusion (IR) have not been thoroughly studied. The aim of the work was to study the remodeling of the T-system in the subepicardial cardiomyocytes of the left ventricle of the rat heart after IR injury using confocal microscopy and extracellular recording methods. The study was carried out after 24 hours, two weeks, and four weeks following IR. A remodeling of action potentials, recorded extracellularly in the cardiomyocyte membrane patches devoid of t-tubule entrances (type 1 eAP), was observed. Starting from 24 hours up to 4 weeks after IR, there was an increase in the duration of their decline time (T₉₀) and the formation of eAP after-hyperpolarization phase, reaching maximum values by the fourth week after IR. A decrease in the second peak's amplitude of eAPs, measured from cardiomyocyte surface locations with t-tubule openings, was also noticed four weeks after IR. In this investigation, no observable changes in the structural organization of the T-system were found. These data suggest that functional modifications of the epicardial cardiomyocyte T-system after IR injury may precede its structural modifications.

Key words: myocardium, ischemia, reperfusion, cardiomyocytes, extracellular action potential, T-system