

Министерство Здравоохранения Российской Федерации
Российский национальный исследовательский медицинский
Университет имени Н.И. Пирогова

АКТОВАЯ РЕЧЬ

ЗАВЕДУЮЩЕГО КАФЕДРОЙ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И
ПРИКЛАДНОЙ ФИЗИОЛОГИИ

РНИМУ им. Н.И. Пирогова,

профессора

КАМКИНА

Андрея Глебовича

Механоуправляемые ионные токи,
потенциалы клеток сердца
и их регуляция

І. ОБЩАЯ ЧАСТЬ

1.1. История открытия явления

Начало изучения механизмов механосенситивности клеток было положено в работах по изучению механоэлектрической обратной связи в сердце и ее механизмов тремя научными группами, лидерами которых были и остаются Max J. Lab (UK), Fred Sachs (USA) и Andre Kamkin (SU). В 60-х – 70-х годах прошлого столетия еще никто не предполагал, к каким важнейшим общебиологическим выводам придет наука в этом направлении.

Max J. Lab

Вопрос о связи между механическими и электрическими явлениями в сердце был впервые сформулирован в 1968 году в работе M.J.Lab (рис.1) “Есть ли механическая обратная связь в сердце?”.



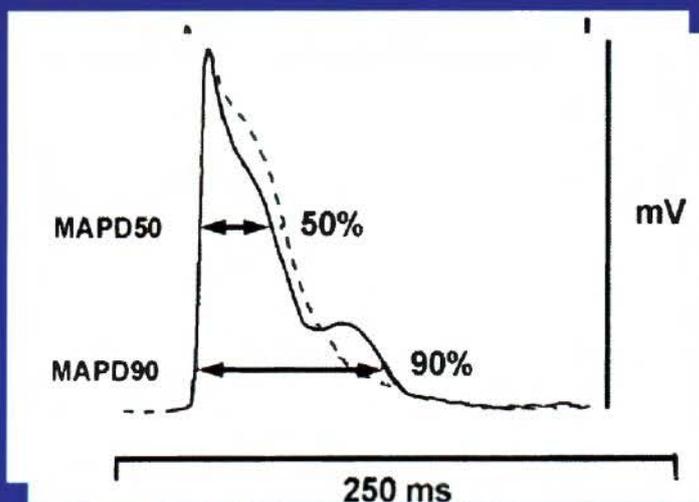
Рис.1.

Автор предположил следующее:

- В сердце существует электромеханическое сопряжение. Существует ли механоэлектрическая обратная связь?
- Если механоэлектрическая обратная связь существует, то механические изменения в миокарде могут приводить к изменению в нем электрических процессов.
- Механические факторы, модулирующие электрическую активность сердца – это растяжение миокарда и/или изменение его сократительной активности.

M.J. Lab

С 1968 года - попытки доказать механоэлектрическую обратную связь методом внеклеточного отведения потенциалов от сердца, раздуваемого баллончиками



SA. Lab MJ (1996) Mechanoelectric feedback in the atrium of the isolated guinea-pig heart. *Cardiovasc. Res.* 32:112-119.

СКЕПТИКИ: Это артефакт изменения в такт сокращений сердца переходного сопротивления между электродом-присоской (макро-электродом) и тканью

Рис.2.

На основании собственных экспериментов, M.J.Lab и его научная группа предположили, что если механоэлектрическая обратная связь в сердце существует, то есть некий механизм, при котором механические изменения в миокарде приводят к изменению в нем электрических процессов. В результате возникает, так называемая, «hump-like» механо-индуцированная деполяризация мембраны кардиомиоцитов (рис.2), которая, достигая порога, вызывает экстра-потенциалы действия, что ведет к различным нарушениям частоты и ритма сердечной деятельности.

Вместе с тем, долгие годы M.J.Lab пытался доказать наличие механоэлектрической обратной связи в сердце используя внеклеточные микроэлектроды, однако точный ответ на вопрос о существовании этого механизма могли только прямые электрофизиологические эксперименты, заключающиеся в растяжении ткани сердца и одновременной регистрации при помощи микроэлектродной техники биопотенциалов клеток этой ткани.

А.Г.Камкин

Впервые корректные доказательства наличия механоэлектрической обратной связи в сердце было сделано в 1982 году (на сердечных фибробластах) и в 1984 году (на кардиомиоцитах) международной рабочей группой, которой руководил профессор А.Г.Камкин (рис.1).

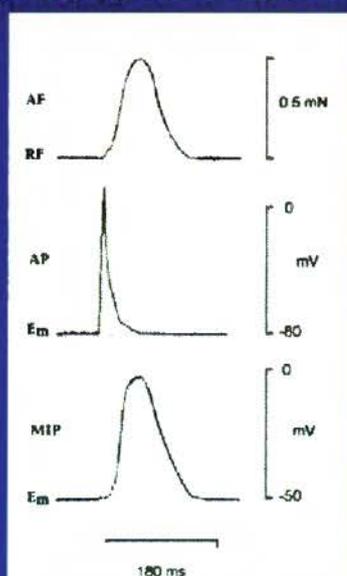
Помимо кардиомиоцитов в сердце находятся немышечные клетки, 90% которых представляют собой сердечные фибробласты. В 1982 году впервые было показано, что фибробласты сердца представляют собой электроневозбудимые, но механосенситивные клетки.

На рис.3 показаны синхронно зарегистрированные сила сокращений препарата правого предсердия крысы (верхняя кривая), потенциал действия кардиомиоцита (средняя кривая) и механо-индуцированный потенциал (MIP) фибробласта (нижняя кривая). Два последних биопотенциала были зарегистрированы при помощи пары микроэлектродов, находящихся на

расстоянии друг от друга не более 50 мкм. Потенциал действия кардиомиоцита имеет типичную форму, овершут и амплитуду. МПР фибробласта заметно отличается от потенциала действия миокардиальной клетки. У этого потенциала другая форма, нет овершута и он начинается с задержкой относительно потенциала действия. Длительность МПР соответствует длительности active force препарата предсердия.

А.Г. Камкин (СССР) 1982 год

1) Потенциал сердечного фибробласта возникает с небольшой задержкой относительно ПД кардиомиоцита и повторяет кривую силы сокращений предсердия. Следовательно, фибробласт - механоэлектрический преобразователь с мембранной системой, чувствительной к механическим влиянием и связанной с каналами.



Камкин А.Г. (1986) Новый тип клеток в предсердиях лягушки? *Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний*. Москва:11
 Камкин А.Г. В и соавт (1986) Электро-тоническая связь между двумя близлежащими клетками предсердий лягушки *Докл. Акад. Наук СССР*, 291 (3):735-737
 Kamkin A et al (1987) Bioelectric activity of frog atrium cells with non-typical activity. *Abhandlungen der Akademie der Wissenschaften der DDR* 1:103-106 (English)

СКЕПТИКИ: Это артефакт неясной природы, поскольку структур, ответственных за передачу механического сигнала в электрический в клетках нет и такие структуры невозможно представить.

Рис.3

В 1984 году в экспериментах на крысах было показано, что растяжение полоски правого предсердия здоровых животных до 2 mN вызывало небольшое укорочение APD50, но значительное увеличение APD90 (Рис.4). Рисунок демонстрирует влияние длительного растяжения полоски миокарда здоровых крыс на потенциал действия на трех различных уровнях фазы

реполяризации. Из рисунка следует, что в условиях растяжения ткани APD25 не изменялась, APD50 была укорочена, в то время как APD90 значительно увеличивалась. Увеличение APD90 было следствием развития hump-like механоиндуцированной деполяризации (stretch-induced depolarization - SID) и была результатом растяжения клеток миокарда.

Дальнейшее увеличение растяжения ткани, превышающее 2 mN вызывало появление дополнительных “экстра” потенциалов действия. Экстра потенциалы действия возникали исключительно на фоне SID. При этом амплитуда каждого экстра потенциала была уменьшена, что совершенно типично для любого экстра потенциала действия на фоне деполяризации мембраны.



Рис.4

Fred Sachs

В 1984 году F.Sachs (рис.1) совершенно новым для того времени методом patch-clamp в конфигурации cell-attached на фоне абсолютно случайного изменения давления внутри patch-пипетки на культивируемых эмбриональных скелетных мышечных клетках цыпленка получил активацию специфических ионных каналов (рис.5), которые он назвал stretch-activated channels (SAC). Позднее эти каналы были названы mechanically gated channels (MGCs).

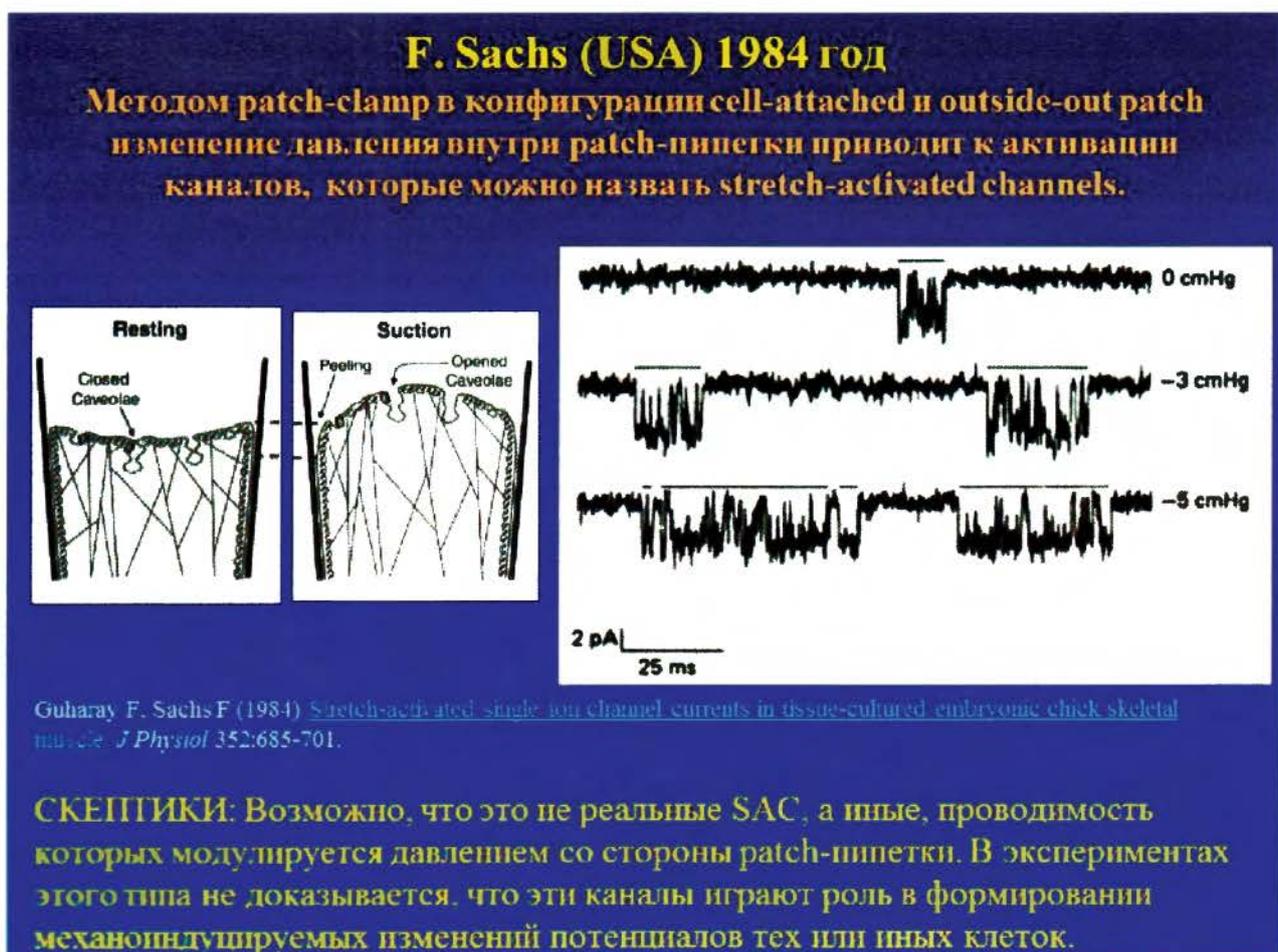


Рис.5

На кардиомиоцитах желудочков MGCs впервые описал в 1988 году W.Craelius (США), и к настоящему времени они обнаружены у кардиомиоцитов во всех отделах сердца.

1.2. Принципиальные достижения, полученные лидирующими группами, при формировании представлений о MGCs, их токах и связи с потенциалами

Сфера деятельности между лидерами направлений в итоге разделилась. Max J. Lab занялся клиническими исследованиями, поскольку его лаборатория не имела современных технологий. Fred Sachs начал изучать одиночные MGCs разных клеток в конфигурации cell-attached и outside-out patch, а А.Г.Камкин сосредоточился на исследованиях связи MG-токов и потенциалов клеток сердца, механосенситивными осцилляциями внутриклеточных ионов и регуляцией проводимости MG-каналов.

1.2.1. Группа F. Sachs, как основополагающая, достигла следующих результатов

1984-1999 годы

- (1) Открыты механоуправляемые ионные каналы
- (2) Показано, что каналы, реагирующие на изменение натяжения мембраны под patch-пипеткой – это реальные mechanically gated channels (MGC).
- (3) Изучены электрофизиологические свойства MGC практически всех клеток.

[Sachs F, Morris CE (1999) Mechanosensitive ion channels. *Rev.Physiol. Biochem. Pharmacol.* 132:1-77].

2000-2014 годы

- (4) Показано, что K_2P каналы – MGC.

[Honoré E, Patel AJ, Chemin J, Suchyna T, Sachs F. (2006) Desensitization of mechano-gated K_2P channels. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103(18):6859-6864].

- (5) Показана механосенситивность ряда потенциал-управляемых и лиганд-управляемых ионных каналов.

[Beyder A, Rae JL, Bernard C, Strege PR, Sachs F, Farrugia G. (2010) Mechanosensitivity of Nav1.5, a voltage-sensitive sodium channel. J Physiol. 2010 588(Pt 24):4969-4985].

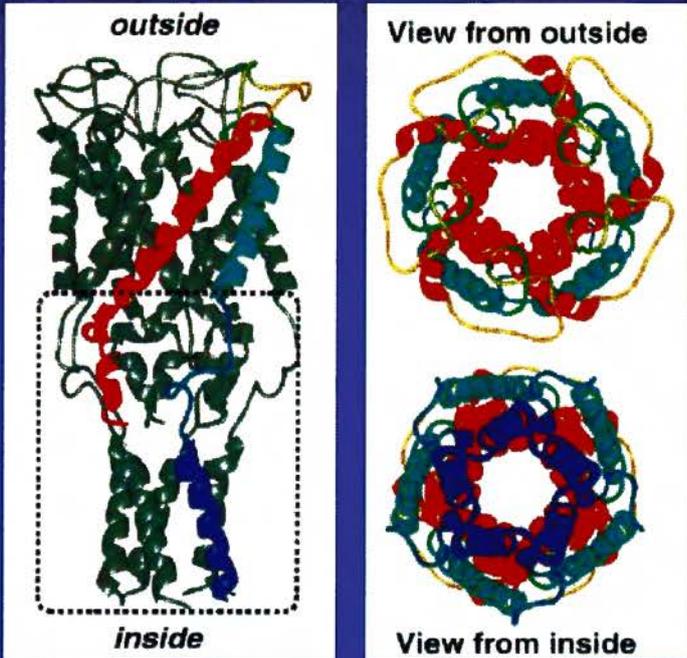
Эффективность работ в этом направлении привела к созданию новых групп, изучающих молекулярную организацию MGCs. Это, например, группа В. Мартинас и его последователи Р. Блаунт, С. Сухарев. Их область изучения стала – исследование структуры MGC на примере бактериальных каналов. Уже в период 1995-1999 годов авторы на примере некоторых бактериальных каналов определили принципиальную молекулярную организацию MGC, а к 2011 году была полностью определена структура бактериальных MGC (рис.6).

**Молекулярная организация
механоуправляемых каналов**

Изучена на примерах
бактериальных каналов



Sukharev S. (USA)



Канал MscL из *M. tuberculosis* – пентамер с двумя α -спиралями TM1 и TM2 для каждой субъединицы пентамера. (По Sukharev S, 2001)

Рис.6

Ряд новых групп начали исследовать механосенситивность известных ранее каналов. Любопытно, что именно при этих работах в 2002 был решен «биофизический парадокс» Ходжкина, Хаксли и Катца, связанный с гипотезой о токах утечки. Эти каналы были идентифицированы и оказались MGCs (рис.7).

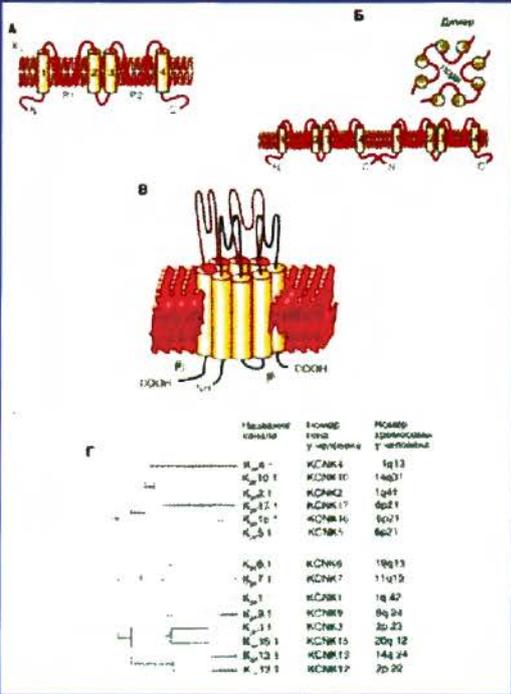
Молекулярная организация механоуправляемых каналов

2002 – решен «биофизический парадокс» Ходжкина, Хаксли и Катца, связанный с гипотезой о токах утечки

Eric Honoré, France



Часть K_2P – MGCs:
 $K_2P4.1$ - MGCs
 $K_2P2.1$ - MGCs
 $K_2P10.1$ - MGCs



Название канала	Генное имя у человека	Номер доступа у человека
$K_{v}4$	KCNK4	1q13
$K_{v}10.1$	KCNK10	14q31
$K_{v}2.1$	KCNK2	1q44
$K_{v}12.1$	KCNK17	6p21
$K_{v}10$	KCNK10	9q21
$K_{v}3.1$	KCNK3	6p21
$K_{v}6.1$	KCNK6	19q13
$K_{v}7.1$	KCNK7	11q12
$K_{v}1$	KCNK1	1q42
$K_{v}3.1$	KCNK3	9q24
$K_{v}11$	KCNK11	3q33
$K_{v}10.1$	KCNK10	20q12
$K_{v}13.1$	KCNK13	14q24
$K_{v}12.1$	KCNK17	7p22

Рис.7

1.2.2. Группа А.Камкина, как основополагающая, достигла следующих результатов

Интересы лежали в области исследования суммарных MG-токов через мембрану в конфигурации whole-cell, исследование механоиндуцированных потенциалов в конфигурации whole-cell, исследование механоиндуцированных

потенциалов ткани микроэлектродной техникой, исследование осцилляций внутриклеточных катионов и выход на функцию каналов в органе.

1984-1999 годы

(1) Растянуты изолированные кардиомиоциты и экспериментально доказано возникновение MG-токов при растяжении клеток.

(2) Показана связь MG-токов с механоиндуцируемыми изменениями потенциалов клеток.

(3) У клеток гипертрофированного миокарда наблюдается экспрессия MGC, что, например, в сердце, объясняет механизм механоиндуцированных аритмий.

[Kamkin A. et al (2000) Stretch-activated currents in ventricular myocytes: amplitude and arrhythmogenic effects increase with hypertrophy. *Cardiovasc.Res.* 48: 409-420].

[Kamkin A. et al (2000) Mechano-electric feedback in right atrium after left ventricular infarction in rats. *J.Mol.Cell.Cardiol.* 32: 465-477].

[Kamkin A. et al (2003) Activation and inactivation of a non-selective cation conductance by local mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res* 57(3):793-803].

1982-1999 годы

(4) Сердечные фибробласты – механоэлектрические преобразователи.

[Kamkin A et al. (1992) Mechanosensitive cells in the atrium of frog heart. *Exp Physiol.* 77(1):213-216].

(5) Растянуты изолированные фибробласты и экспериментально доказано возникновение MG-токов.

[Kamkin A et al. (2003) Activation and inactivation of a non-selective cation conductance by local mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res.* 57(3):793-803].

(6) Установлено межклеточное взаимодействие фибробластов и кардиомиоцитов и сформулирована теория их совместной работы в норме и патологии.

[Kamkin A et al. (1994) Mechanosensitive fibroblasts in the sino-atrial node region of rat heart: interaction with cardiomyocytes and possible role. *Exp Physiol.* 79(6):943-956].

2000-2014 годы

(7) Впрямую установлена связь MGC с MG-токами и потенциалами клеток, т.е. решена основная проблема комплексной работы клеток.

[Kamkin A. et al (2010) Single mechano-gated channels activated by mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts from rats. *Acta Physiol (Oxf)* 199(3):277-292].

(8) Найдена возможность целенаправленного изменения проводимости MGC

[Kazanski VE et al (2010) The role of the Nitric Oxide in regulation of mechanically gated channels activity in cardiomyocytes: Investigation by means of the application of NO-donors. *BEEM* 7:4-9].

[Kazanski VE et al (2010) The role of the Nitric Oxide in regulation of mechanically gated channels activity in cardiomyocytes: Investigation of NO-synthetases contribution. *BEEM* 8:228-232].

[Abramochkin DV, Kuzmin VS, Mitrochin VM, Kalugin L, Dvorzhak A, Makarenko EY, Schubert R, Kamkin A.(2013) TNF- α provokes electrical abnormalities in rat atrial myocardium via a NO-dependent mechanism. *Pflugers Arch.* 2013 Dec;465(12):1741-52].

[Abramochkin DV, Lozinsky IT, Kamkin A (2014) Influence of mechanical stress on fibroblast-myocyte interactions in mammalian heart. *J Mol Cell Cardiol.* S0022-2828(13)00369-6].

Помимо статей, с 2005 года лидерами направлений было издано 9 книг (рис.8), из них: F. Sachs – 1, B. Martinak – 1, A. Kamkin – 7.



Рис.8

Все работы группы вызывали и вызывают несомненный интерес мирового научного сообщества. Примеры цитируемости статей нашей группы другими авторами представлены на рис.9.

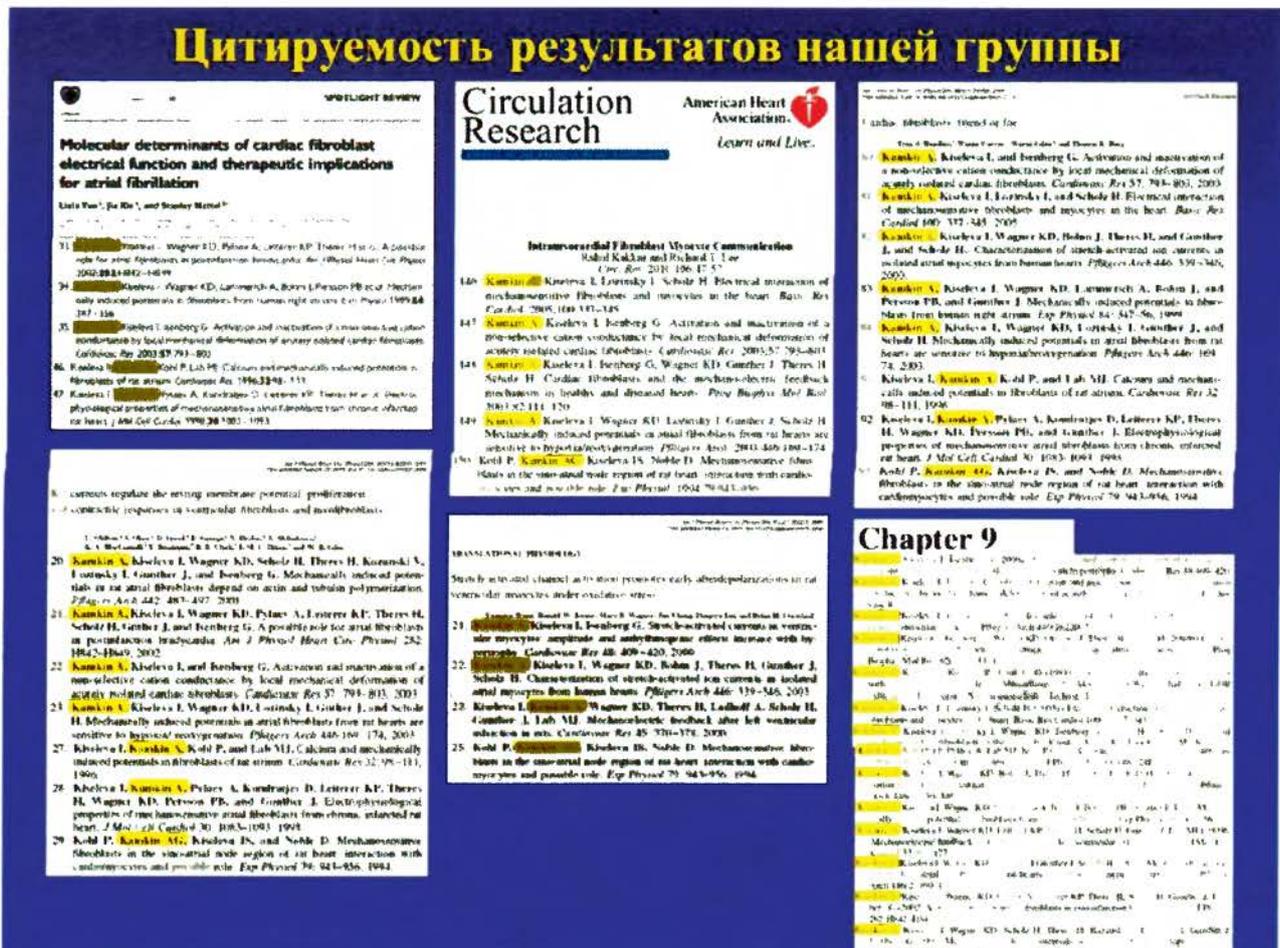


Рис.9

Многие наши учебники и монографии, в которых обсуждались научные достижения рабочей группы, были изданы и в России. Примеры представлены на рис.10.

II. ОСНОВНЫЕ ДАННЫЕ, ПОЛУЧЕННЫЕ ГРУППОЙ

А.Г.КАМКИНА

Рисунок 11 демонстрирует направление исследований рабочей группы.

В России, как и за рубежом, данные приведены в научной и учебной литературе

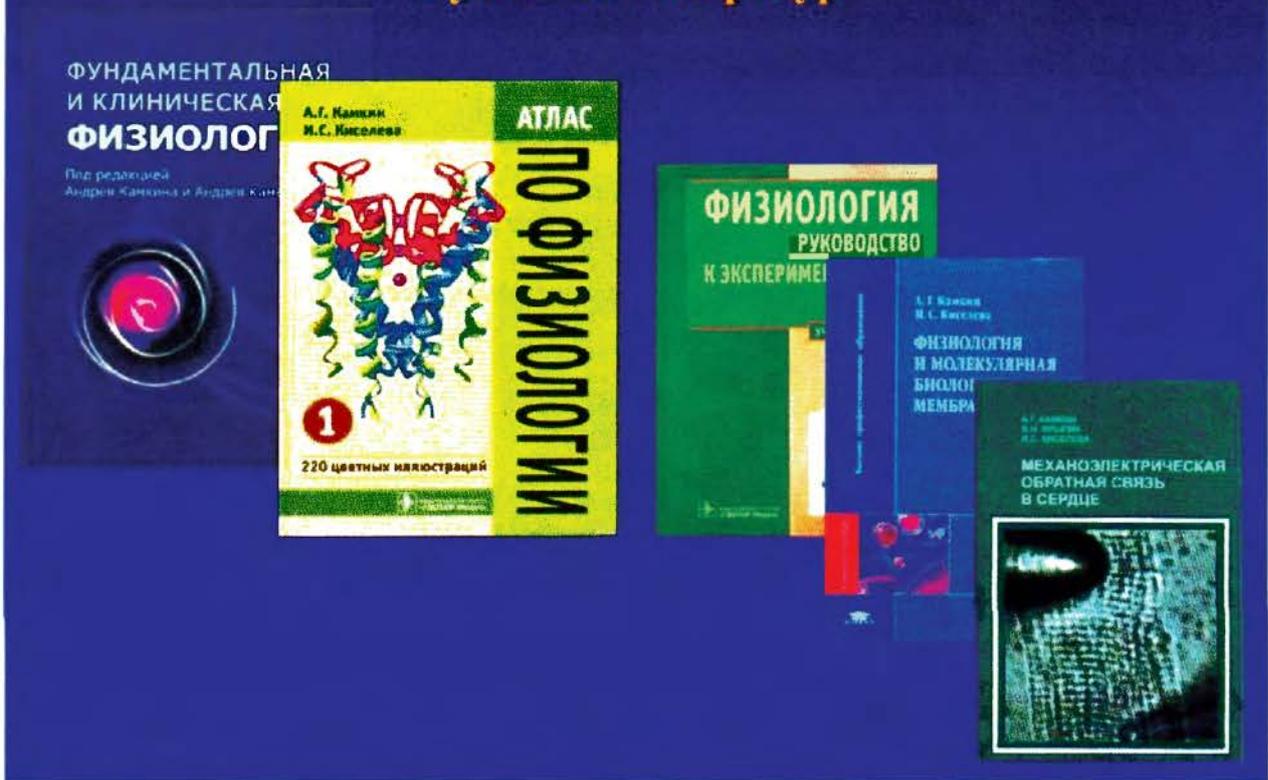


Рис.10



Рис.11

2.1. Механоиндуцированные токи и потенциалы кардиомиоцитов

Эксперименты выполнены на сердцах лягушек, мышей, крыс, морских свинок, человека. Млекопитающие были как в здоровом, так и в патологическом состоянии.

Механоиндуцированная деполяризация мембраны изолированного кардиомиоцита морской свинки

Удлинение потенциала действия и возникновение экстр-потенциала действия при растяжении клетки

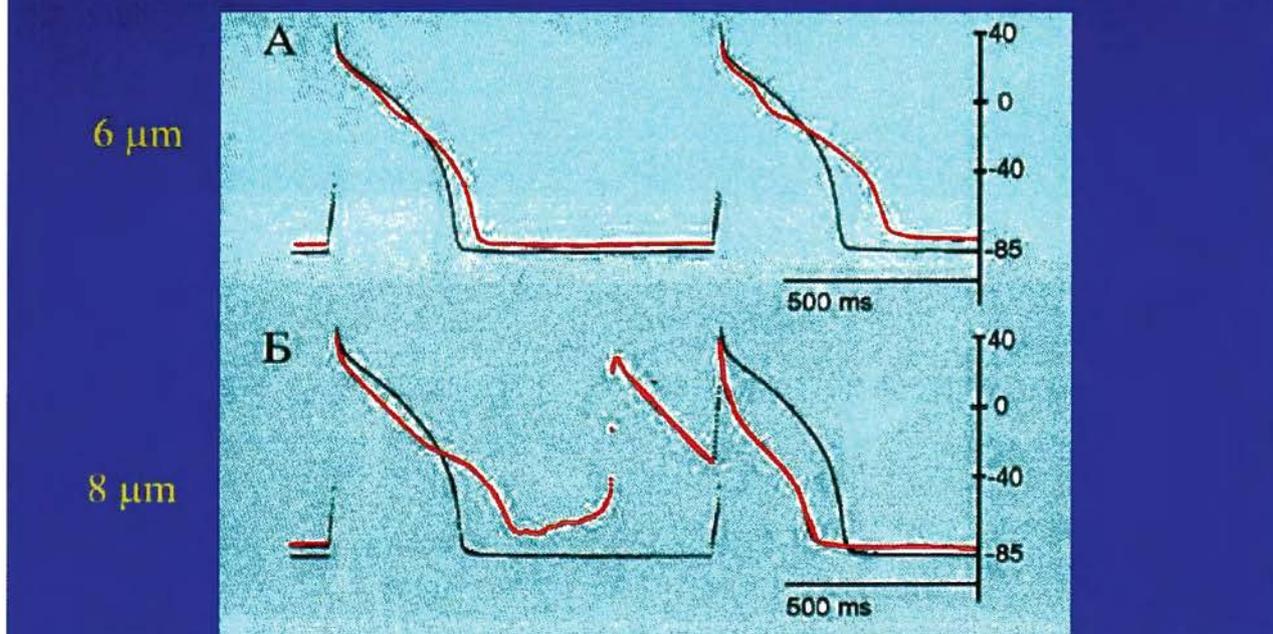


Рис.12

В нормальном растворе Тироде с использованием patch-clamp в конфигурации whole-cell изолированные кардиомиоциты здорового желудочка морской свинки отвечают на растяжение изменением величины потенциала покоя и длительности потенциала действия. Показано, что растяжение на 2 μm и 4 μm не меняет величину потенциала покоя и форму ПД кардиомиоцитов. Растяжение на 6 μm деполяризует покоящуюся

мембрану в среднем на 3 mV (Рис.12,А), а растяжение на 8 μm деполяризует в среднем на 6 mV (Рис.12,Б). Растяжение на 8 μm удлиняют средние значения APD90 от 360 ms до 502 ms. Кроме того, растяжение на 8 μm и, далее, на 10 μm запускает экстра-ПД, которые начинаются от диастолической деполяризации.

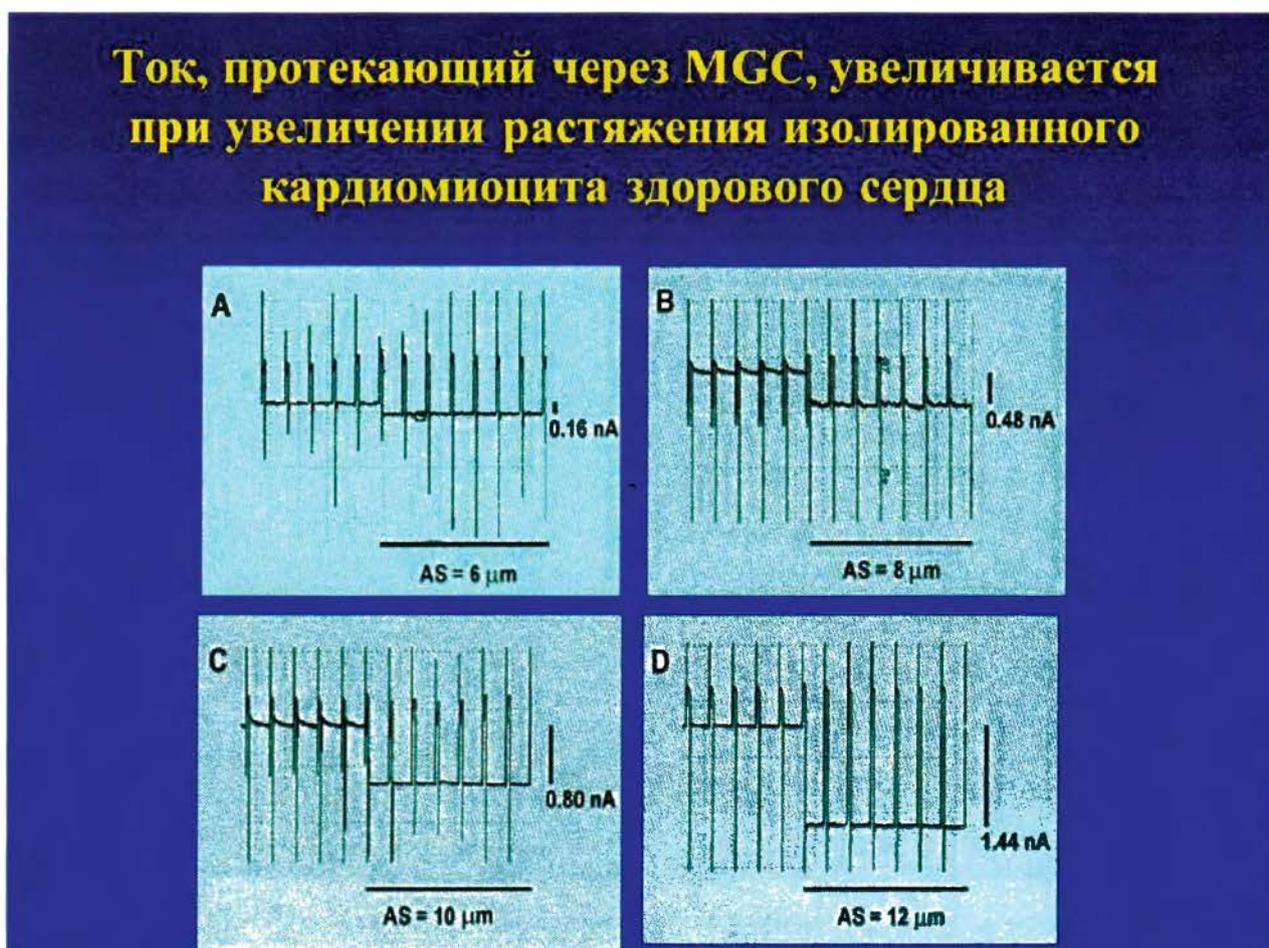
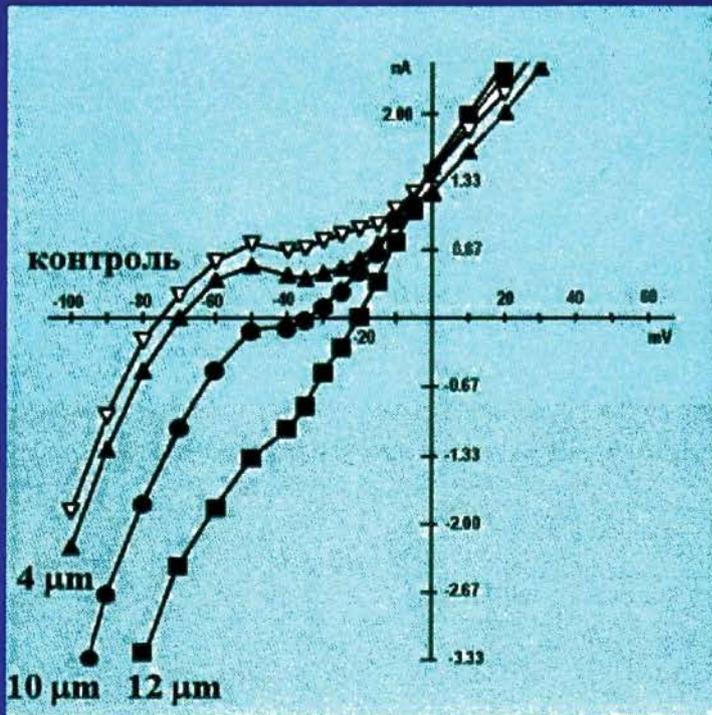


Рис.13

На рис.13 А,Б,В,Г показано, что растяжение клетки здорового сердца на 6 μm вызывало появление входящего через MGCs тока величиной 0.16 nA и дальнейшее увеличение растяжения до 8 μm , 10 μm , 12 μm вызывало увеличение этого тока до 0.48 nA, 0.80 nA, 1.44 nA, соответственно. Растяжение клеток здорового сердца на 2 μm и 4 μm не приводило к какой либо реакции со стороны MGCs. У растянутой до определенного значения

клетки, I_{MGCs} был постоянным в течение нескольких минут регистрации, то есть инактивация или адаптация не наблюдалась. Отсутствие инактивации MGCs в течение длительного растяжения было и у кардиомиоцитов, полученных от больных сердец.

Модуляция базового мембранного тока изолированного кардиомиоцита под действием растяжения клетки



Растяжение вызывает появление и увеличение входящего тока через механуправляемые ионные каналы.

Рис.14

Модуляция растяжением вольт-амперной характеристики позднего тока (I_L) клетки приведена на рис.14. До растяжения (белые треугольники, объединенные кривой), кривая имела типичную N-образную форму и пересекала ось потенциала при $E_0 = -74$ mV, что соответствует потенциалу покоя клетки в условиях типичных растворов внешней и внутренней среды. Растяжение клетки на $4 \mu\text{m}$ смещает величину позднего тока в более негативную область, а мембранный потенциал до -70 mV, то есть в более

позитивную область (черные треугольники, объединенные кривой). Растяжение до 10 μm смещает вольт-амперную характеристику клетки при негативных потенциалах еще в большую отрицательную область (кружечки, объединенные кривой) и деполяризует мембрану до -35 mV . Значительное растяжение в 12 μm практически устраняет N-образную форму вольт-амперной характеристики увеличивая входящий ток в негативной области и деполяризуя мембранный потенциал до -20 mV (квадраты, объединенные кривой).

Таким образом, и на клетках предсердий, и на клетках желудочков был выявлен базовый мембранный неселективный катионный ток I_{SAC} , который увеличивался при увеличении степени прямого растяжения клетки и уменьшался вплоть до полного исчезновения при снятии растяжения с клетки. Дальнейшие исследования были посвящены разделению этого базового тока I_{SAC} на компоненты.

При растяжении клеток с использованием внутриклеточного имиджинга были получены данные о внутриклеточных осцилляциях ионов натрия в контрольных условиях и при растяжении кардиомиоцитов, в качестве базовых данных для продолжения работ в этой области.

Пример увеличения осцилляций внутриклеточного натрия при растяжении клетки на 4 мкм. 2G1 – контроль. 2G2 – растяжение клетки на 2 мкм (рис.15). Увеличение количества красной зоны свидетельствует о увеличении количества внутриклеточного натрия при растяжении клетки.

После инфаркта миокарда в предсердиях обнаруживаются два типа потенциалов действия (рис.16). Первый тип удлиненных потенциалов действия оказался подобным по величине APD25 и APD50 потенциалам действия контрольной группы, но был значительно удлинен на уровне APD90 (рис.16,А). Второй тип показывал значительное увеличение в APD25, APD50 и APD90 по сравнению с контролем (рис.16,Б).

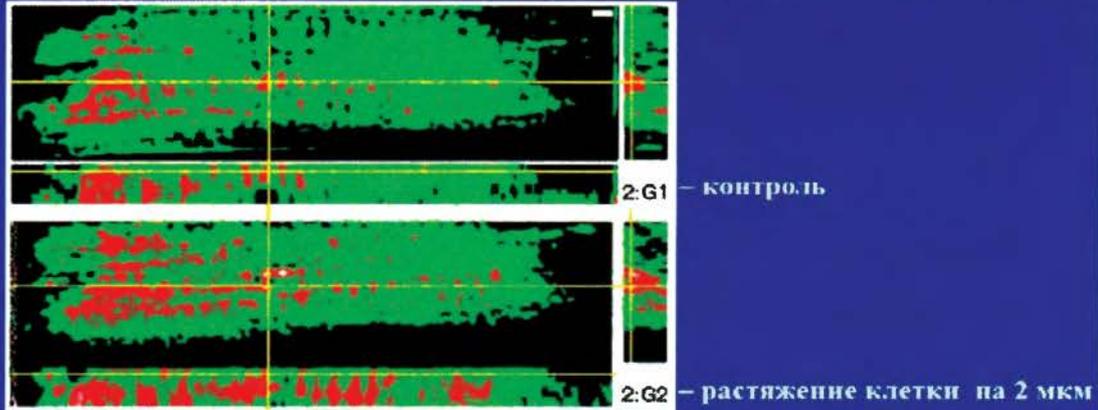
Проводимость механоуправляемых каналов для ионов при растяжении клетки

$G_{Cs} > G_{Na} > G_{Li} > G_{TEA} > G_{NMDG}$

tetraethylammonium (TEA⁺)

N-methyl D-glucosamine (NMDG⁺)

Увеличение осцилляций
внутриклеточного натрия при
растяжении клетки на 2 мкм.



Увеличение количества красной зоны свидетельствует о увеличении количества
внутриклеточного натрия при растяжении клетки.

Рис.15

**Два типа механоиндуцированных потенциалов (SID)
на уровне APD90 (А) и на уровне APD50 (Б),
которые возникают у кардиомиоцитов при растяжении ткани
предсердия на фоне растяжения препарата на 1.75 ± 0.04 мН
от 1 мН предрастяжения**

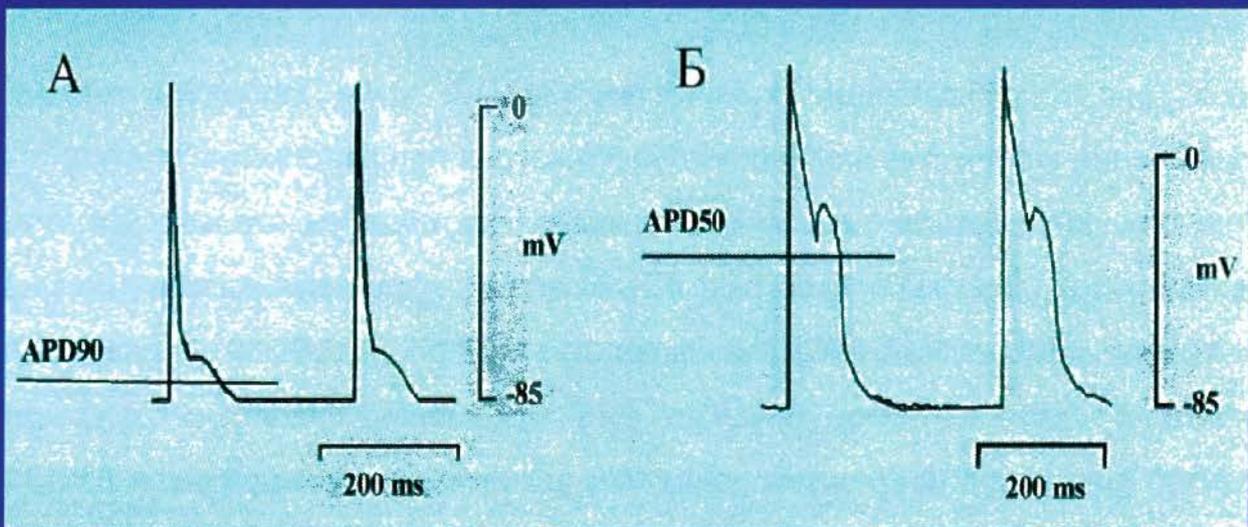


Рис.16

На рис.17 представлена динамика развития одного экстрарапотенциала действия в правом предсердии крысы при увеличении степени растяжения (1-5) препарата до 1,75 mN. Второй потенциал возникает при достижении SID критического уровня деполяризации ($E_c = -66.6$ mV).

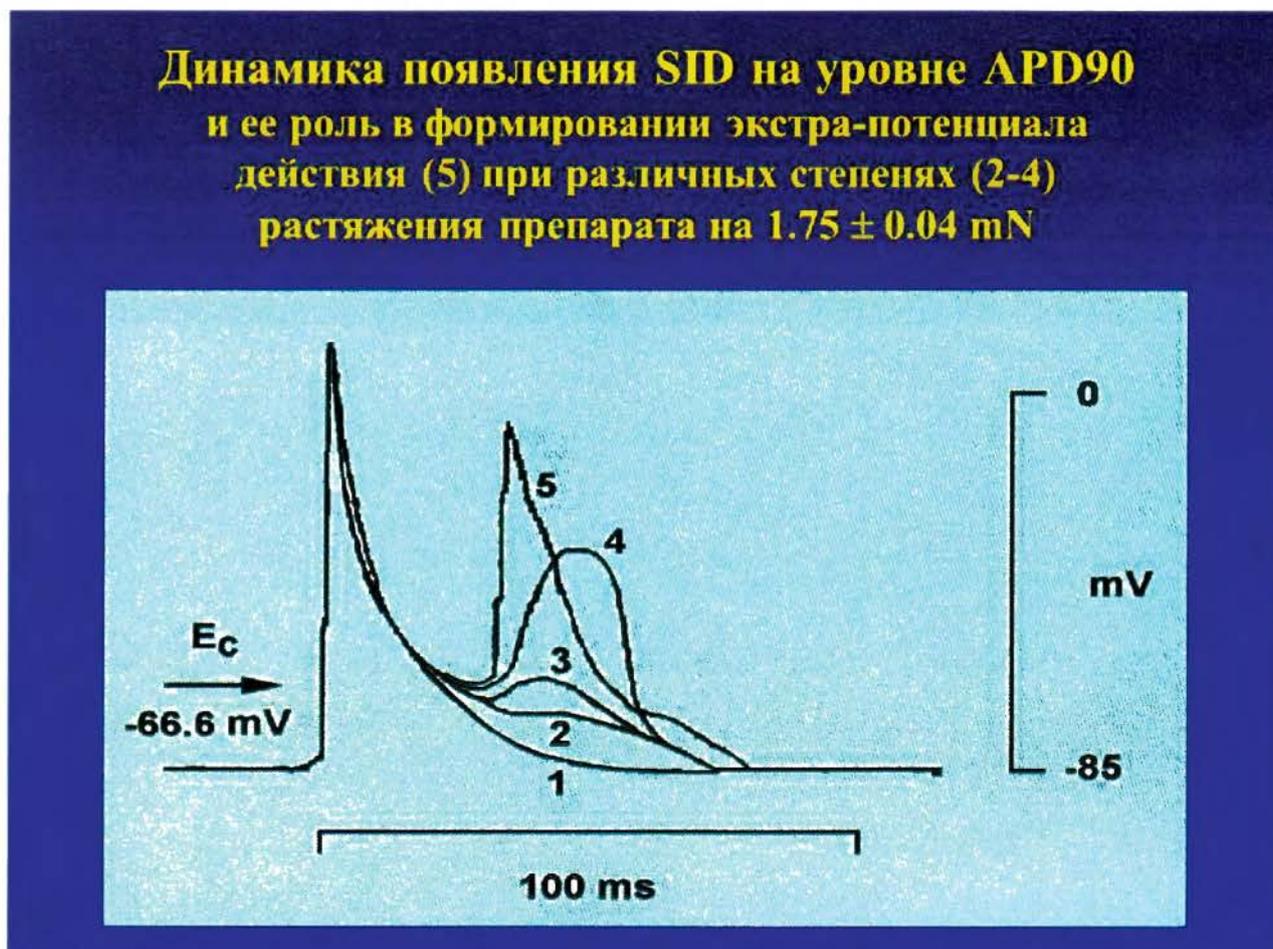


Рис.17

Аналогичным образом развивается динамика появления одного экстрарапотенциала действия в правом предсердии крысы, перенесший инфаркт миокарда, при увеличении степени растяжения (1-5) препарата только до 0.2 mN.

На рис.18 представлена динамика развития одного экстрарапотенциала действия кардиомиоцита правого предсердия инфарктной крысы при увеличении степени растяжения (1-4) препарата до 1,75 mN. Второй потенциал возникает после окончания периода абсолютной рефрактерности

клетки при достижении в этот период SID критического уровня деполяризации ($E_c = -67.7 \text{ mV}$). SID, которая развивается на уровне APD50, появляется в течение рефрактерного периода потенциала действия, и она приводит к появлению экстрарапотенциалов в более поздние сроки.

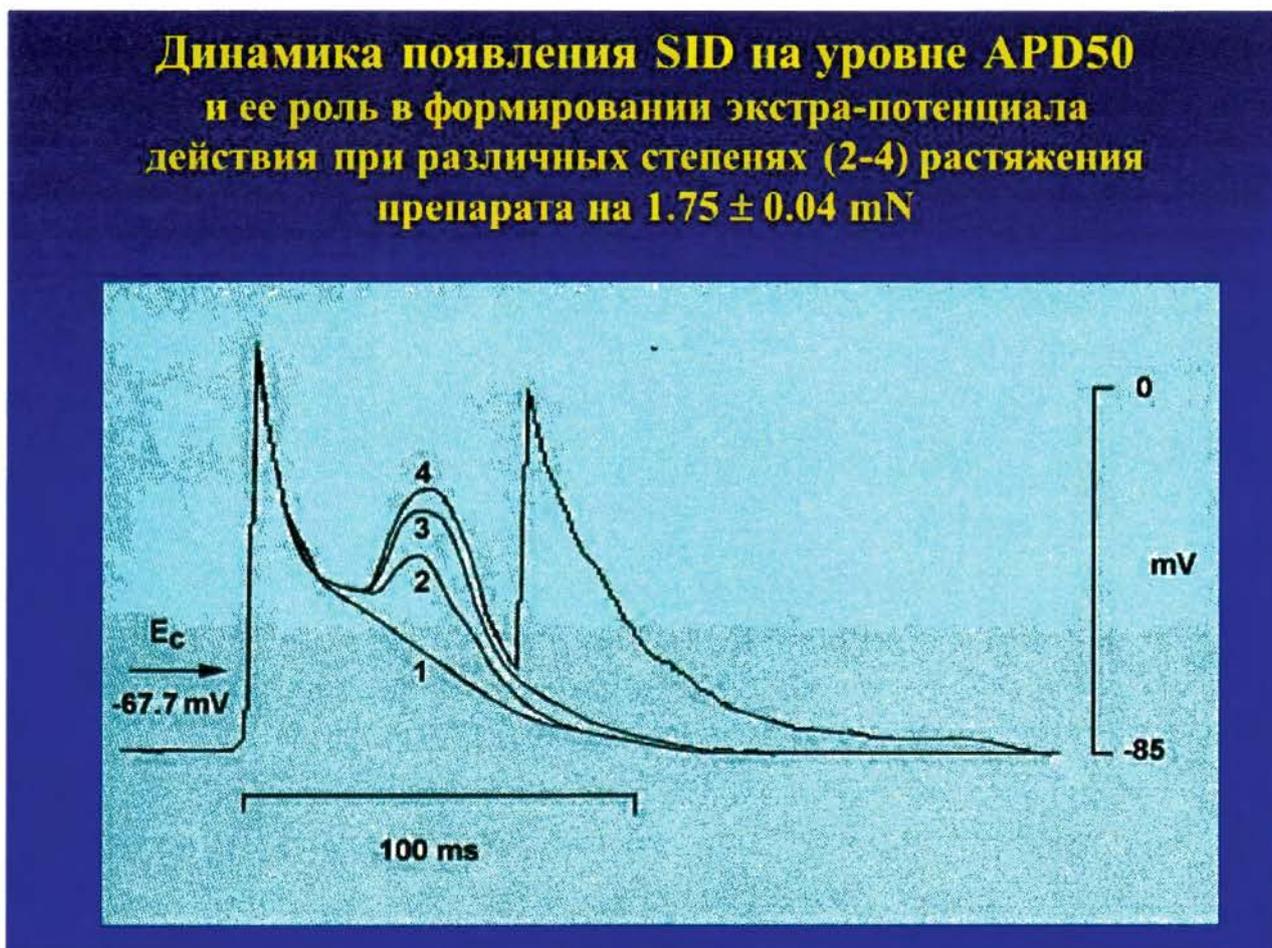


Рис.18

Аналогичным образом развивается динамика появления одного экстрарапотенциала действия в правом предсердии крысы, перенесший инфаркт миокарда, при увеличении степени растяжения (1-4) препарата только до 0.2 mN .

Рис.19 показывает связь между SID на уровне APD90 и степенью растяжения препарата ткани сердца после инфаркта миокарда. Рис.19,А демонстрирует потенциалы действия, зарегистрированные при стандартном

Механоиндуцированная деполяризация на уровне APD90 клетки правого предсердия крысы после инфаркта миокарда левого желудочка при растяжении ткани на 0.2 mN

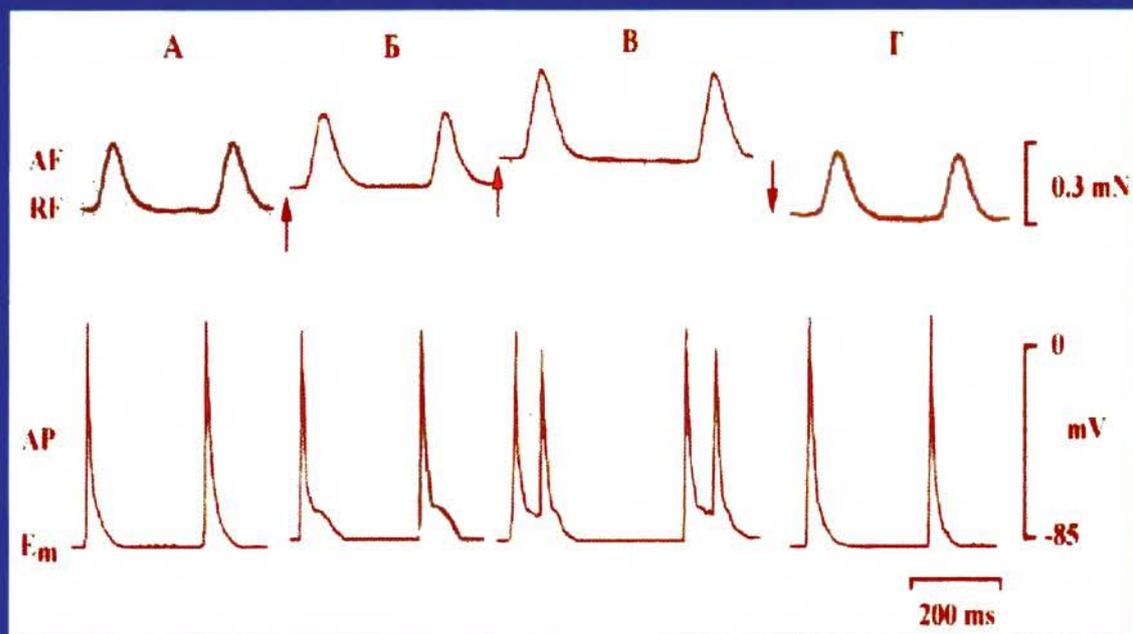


Рис.19

предрастяжении препарата, равном 1mN. Хотя небольшое растяжение препарата (до 0.2 mN) в контрольной группе не вызывало SID, тот же самый уровень растяжения у животных после инфаркта миокарда вызывал появление SID (рис.19,Б). Более того, увеличение растяжения вызывало SID, которая развивалась в дополнительные потенциалы действия (рис.19,В). В этом случае экстрасистолы имели уменьшенную амплитуду потенциала действия, как это и ожидается при частично деполяризованной мембране. Растяжение препарата не изменяло APD25, APD50 была минимально укорочена в каждом эксперименте, в то время как APD90 была значительно увеличена. Необходимо подчеркнуть, что наблюдаемые изменения потенциалов в группе животных с инфарктом миокарда наступали при

значительно меньшей степени растяжения препарата (0.2 mN) по сравнению с контролем (2 mN). Увеличение в APD90 было следствием появления SID.



Рис.20

Дальнейшее растяжение, но опять значительно меньшее по величине, чем в группе здоровых животных, вызывало фибрилляцию (рис.20). Возвращение к исходной длине препарата демонстрировало полное исчезновение этих механозависимых изменений (рис.19,Г).

Как было показано выше, у изолированных кардиомиоцитов здорового сердца амплитуда I_{SAC} увеличивалась с увеличением растяжения клеток. У клеток больных людей растяжение кардиомиоцита на 2 μm вызывало I_{SAC} , равный примерно -116 pA, а растяжение клетки на 4 μm вызывало I_{SAC} , равный -483 pA (Рис.21).

Для сравнения, у кардиомиоцитов молодых и здоровых морских свинок I_{SAC} вообще не возникал при растяжении на 2 μm и на 4 μm . При дальнейшем увеличении степени растяжения I_{SAC} реагировали у всех исследуемых клеток. На растяжение величиной 6 μm клетки отвечали возникновением I_{SAC} величиной до -300 пА, при растяжении на 8 μm I_{SAC} был равен около -557 пА, а при растяжении на 10 μm I_{SAC} был равен в среднем -1050 пА (Рис.21).

Зависимость механосенситивного тока от растяжения кардиомиоцитов из сердец в норме и при патологии

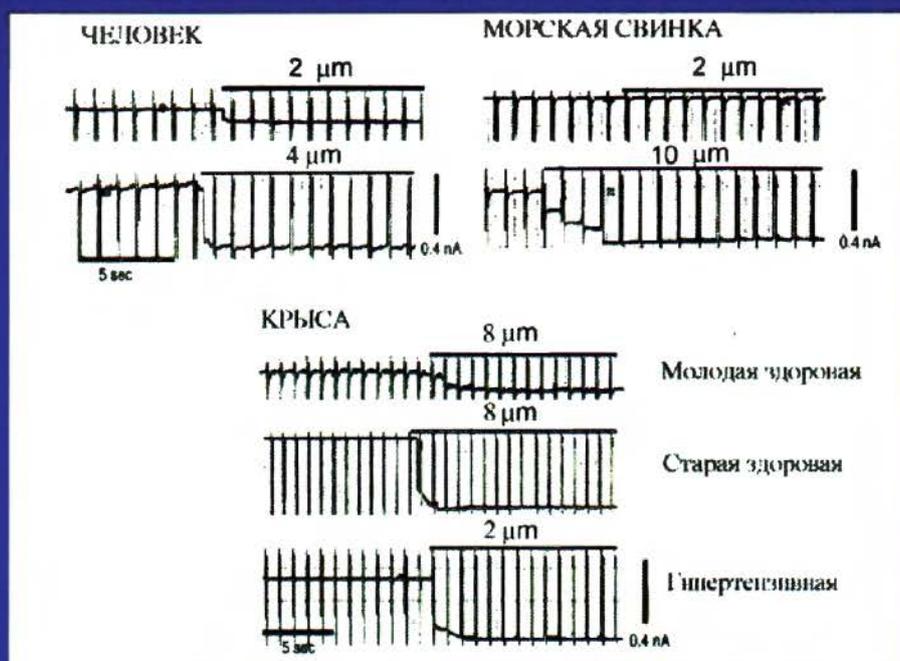


Рис.21

Таким образом, кардиомиоциты больных людей имеют несравнимо большую чувствительность к растяжению, чем кардиомиоциты здоровых морских свинок. Высокая чувствительность к растяжению клеток больных

людей может быть объяснена за счет гипертрофии, которая возникает в течение заболевания и экспрессии SAC.

Чтобы проверить связана ли чувствительность кардиомиоцитов к растяжению с вентрикулярной гипертрофией изучали эффект растяжения клеток, полученных от здоровых молодых крыс, здоровых старых крыс и также от старых спонтанно гипертензивных животных (рис.21). У гипертензивных крыс не было симптомов сердечной недостаточности, однако их сердца были гипертрофированны. Растяжение кардиомиоцитов желудочков молодых крыс (3 месяца) на 2 μm и 4 μm не приводило к появлению I_{SAC} . При дальнейшем увеличении степени растяжения клетки I_{SAC} регистрировали у всех исследованных клеток. Так, растяжение кардиомиоцита на 8 μm индуцирует входящий ток величиной примерно равной -269 pA (при поддерживаемом потенциале -45 mV). Аналогичное растяжение на 8 μm кардиомиоцитов желудочков здоровых старых крыс (15 месяцев) вызывает значительно больший I_{SAC} , равный около -460 pA. А растяжение кардиомиоцитов желудочков старых крыс (15 месяцев) со спонтанной гипертензией вызывает I_{SAC} , среднее значение которого равно -420 pA уже при растяжении клетки на 2 μm . У этих же животных растяжение клеток на 4 μm вызывало I_{SAC} , равный -1205 pA, а на 6 μm I_{SAC} , равный -1500 pA.

Изменения показывают, что чувствительность клеток к растяжению увеличивается с гипертрофией (рис.22), которая развивается в течение возраста, но сильнее с гипертензией. Чувствительность к растяжению, определенная для клеток больных человеческих сердец, была сходной с величиной, полученной у кардиомиоцитов от спонтанно гипертензивных старых крыс. В целом, результаты демонстрируют, что чувствительность кардиомиоцитов к растяжению увеличивается с возрастом и крайне высока при гипертрофии сердца.

Зависимость механосенситивного тока от растяжения кардиомиоцитов в норме и при патологии

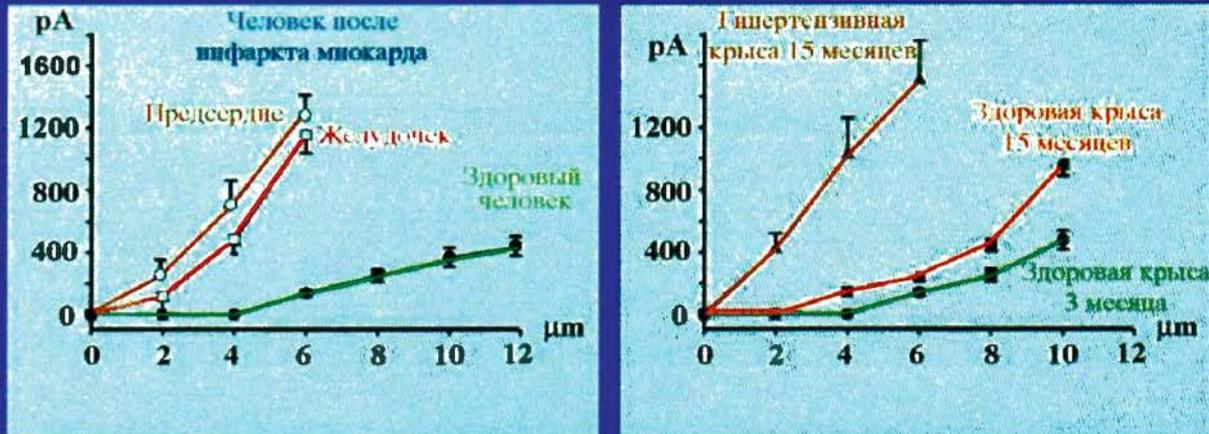


Рис.22

РЕЗЮМЕ I

- Здоровый миокард реагирует на максимальное физиологическое растяжение только незначительной деполяризацией и изменением фазы реполяризации потенциала действия на уровне APD90 и APD50; редко одиночными экстра-потенциалами.
- Кардиомиоцит здорового сердца реагирует выраженным увеличением входящего Na-тока через MGC только на его максимальное физиологическое растяжение (на 10-12 мкм).
- Этот ток создает общую деполяризацию и увеличение APD90 и APD50 как по длительности, так и по амплитуде.
- Гипертрофированный миокард, например вследствие постинфарктного ремоделинга, реагирует появлением экстра-потенциалов действия с последующей аритмией на крайне малое растяжение
- Кардиомиоцит больного сердца реагирует выраженным увеличением входящего Na-тока через MGC даже на не значительное его растяжение

вследствие увеличения экспрессии каналов при ремоделинге и возрастной или иной гипертрофии.

2.2. Механизм механоиндуцированных аритмий

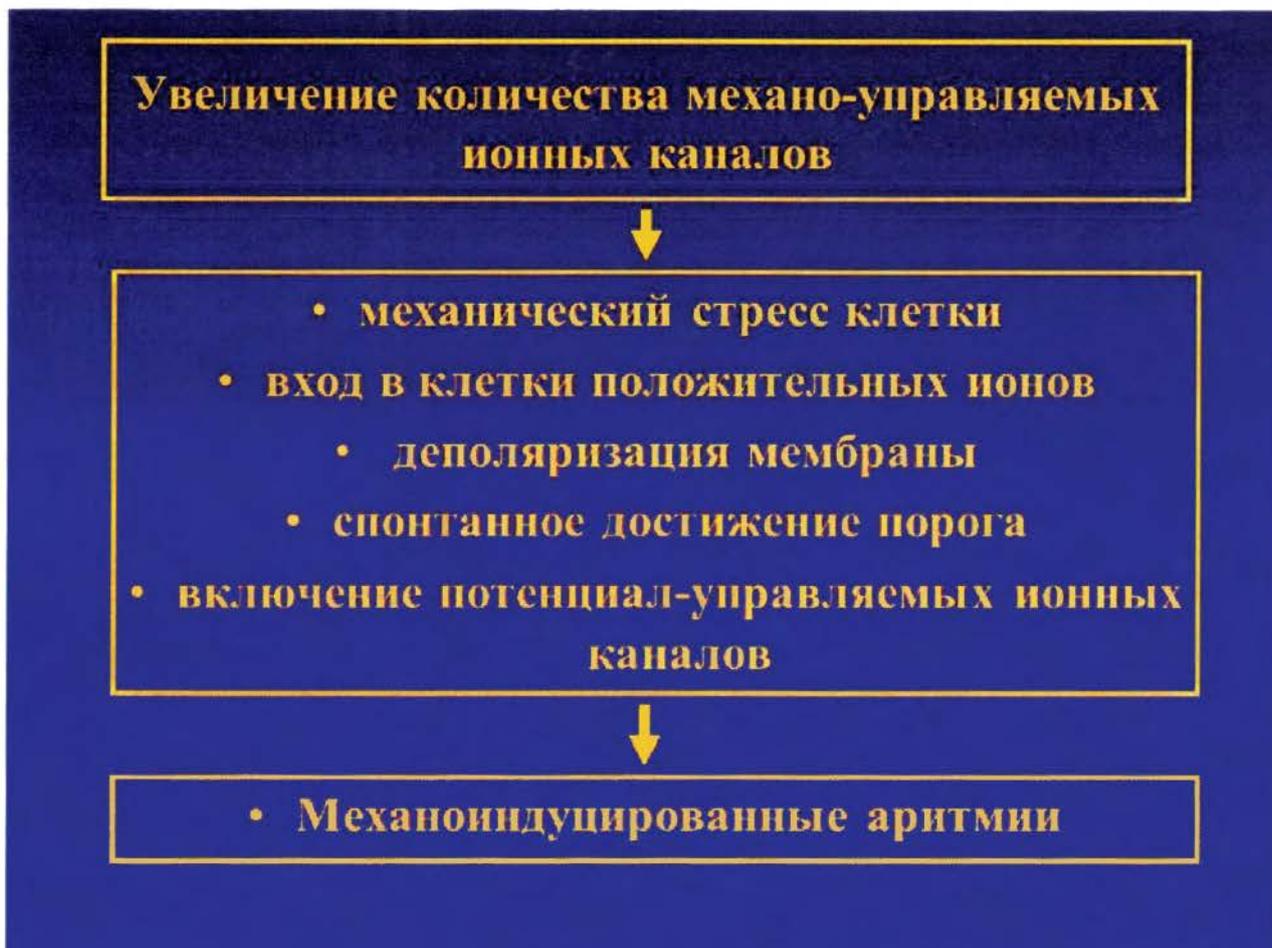


Рис.23

ВАЖНО

Если принять во внимание, наличие в сердце только такого механизма, реализуемого через кардиомиоциты, то совершенно очевидно, что несовместимыми с жизнью были бы не только любые патологии сердца, связанные с ремоделингом, но занятия профессиональным спортом из-за гипертрофии миокарда и даже возраст старше 25 лет (рис.24). Поэтому,

возвращаясь к рис.11, мы рассматриваем вторую систему сердца – сердечные фибробласты.

Несовместимыми с жизнью были бы не только любые патологии сердца, связанные с ремоделингом, но занятия профессиональным спортом из-за гипертрофии миокарда и даже возраст старше 25 лет.

Каков физиологический механизм компенсации последствий патологической деполяризации кардиомиоцитов?

Ответ на вопрос:

принципы работы фибробластов как механо-электрических преобразователей и их межклеточного взаимодействия с кардиомиоцитами.

Рис. 24

2.3. Механоиндуцированные токи и потенциалы фибробластов сердца

Эксперименты выполнены на сердцах лягушек, мышей, крыс, морских свинок, человека. Млекопитающие были как в здоровом, так и в патологическом состоянии.

Исследования ионных токов, текущих через мембрану изолированных сердечных фибробластов в покое, при растяжении и при сжатии клеток были выполнены при помощи метода patch-clamp в конфигурации whole-cell и cell-

attached. Для механического воздействия на фибробласт использовалась та же методика, что и при исследовании кардиомиоцитов.

Изолированные фибробласты имеют емкость мембраны, равную 18 ± 3 pF. Сопротивление их мембраны равно 514 ± 11 MΩ. Как было показано в предыдущих разделах фибробласты в сердечной ткани имеют значительные различия в величинах мембранного потенциала (от -70 mV до -10 mV), что определяется их состоянием в ткани с позиций механической деформацией. Однако, изолированные клетки не имеют выраженного разброса значений потенциала покоя. Показано, что I-V кривые, отражающие IL, пересекают ось потенциала, причем точка пересечения, соответствующая потенциалу покоя, равна -37 ± 3 mV.

Изменение механоиндуцированных токов фибробласта при изменении формы клетки

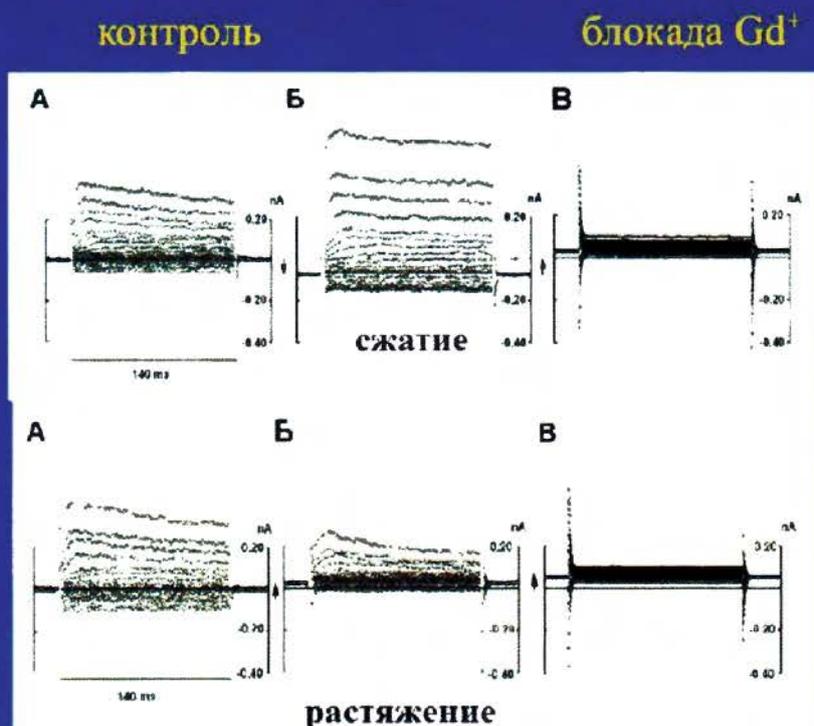


Рис.25

Сжатие фибробластов увеличивает мембранную проводимость

При горизонтальном сжатии клетки поддерживаемый ток при поддерживаемом потенциале, равном -45 mV , становится отрицательным. На рис.25,Б (верхняя панель) показана реакция фибробласта на его сжатие на $2\text{ }\mu\text{m}$ по сравнению с контрольной регистрацией, представленной на рис.25,А.

Токи, индуцированные деполяризационными импульсами, на фоне сжатия клетки были похожи на токи в отсутствии механической деформации только в плане их развития во времени. Их амплитуды, однако, были выражено увеличены (сравните, например, наибольший ток в ответ на деполяризационный импульс до $+50\text{ mV}$ между рис. 25,А и 25,Б). Увеличение мембранных токов под действием сжатия клетки сохранялось до тех пор, пока это сжатие поддерживалось, т.е. не было признаков адаптации. Когда механическая деформация прекращалась, токи возвращались к контрольным значениям менее, чем за 0.5 сек . Введение в перфузионную камеру Gd^{3+} в концентрации $8\text{ }\mu\text{M}$ устраняет смещение поддерживаемого тока и ингибирует токи, возникающие на фоне деполяризационных и гиперполяризационных импульсов (рис. 25,В).

Растяжение уменьшает проводимость мембраны фибробластов

Для осуществления растяжения клеток применяли аксиальное растяжение. Рис.25 (нижняя панель) демонстрирует токи, которые были зарегистрированы в контрольных экспериментах у не деформированной клетки (рис.25,А), в экспериментах при растяжении клетки на $2\text{ }\mu\text{m}$ (рис.25,Б), и в экспериментах с добавлением $8\text{ }\mu\text{M}$ Gd^{3+} на фоне длящегося стабильного растяжения фибробласта или фрагмента его мембраны (рис.25,В). Во-первых, из рисунка следует, что растяжение клетки сдвигает ток, регистрируемый при поддерживаемом потенциале, в позитивное направление (начало у рис.25,Б по сравнению с началом у рис.25А). Во-вторых, растяжение клетки уменьшает амплитуду токов по сравнению с

контролем, как при применении деполяризующих, так и гиперполяризующих смещений потенциала относительно поддерживаемого потенциала, хотя их временная зависимость остается той же самой.

Таким образом, растяжение клетки приводит к уменьшению проводимости мембраны. Перфузия $8 \mu\text{M Gd}^{3+}$ вызывает дальнейшее уменьшение токов через мембрану и сдвигает ток, регистрируемый при поддерживаемом потенциале, в еще более в позитивное направление.

Сжатие и растяжение по-разному меняет базовую мембранную проводимость фибробласта

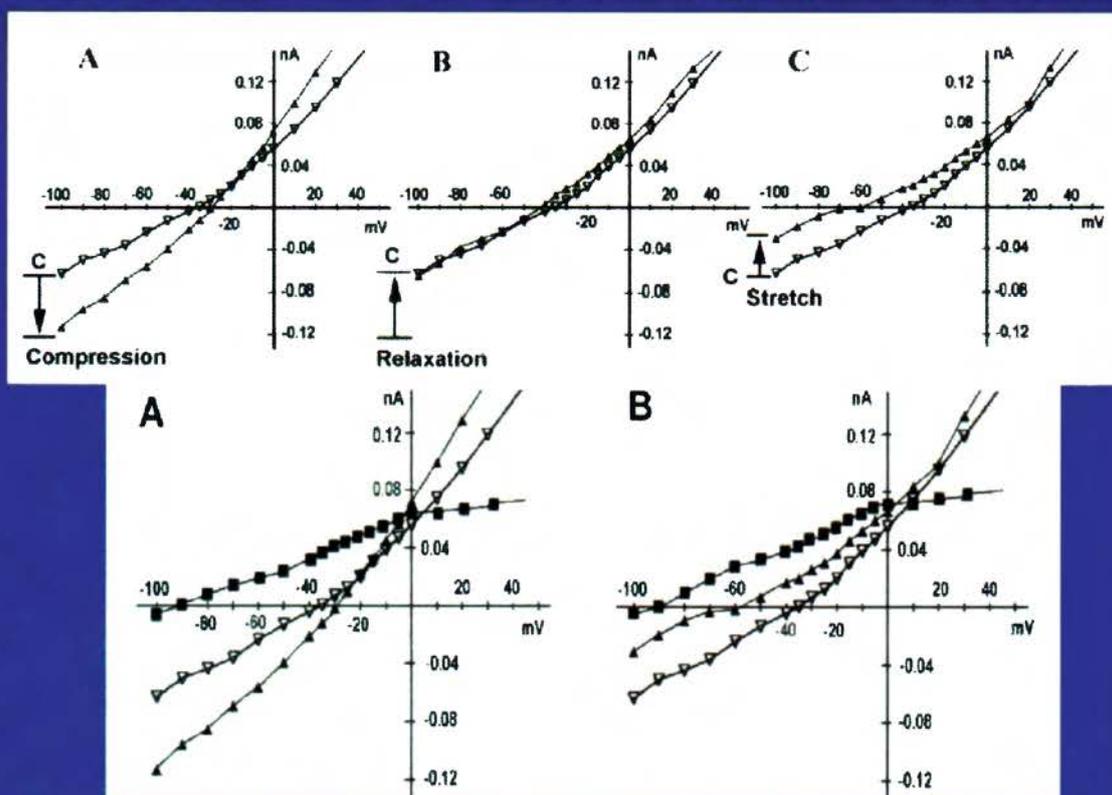


Рис.26

Исследование вольт-амперных характеристик на фоне сжатия и растяжения клетки

Токи, регистрируемые в течение последних 10 ms (I_L) на фоне каждой из ступенек электрических импульсов длительностью 140 ms, были отложены по отношению к величине потенциала каждой ступеньки. Результирующая I-V кривая аномального выпрямления с током выходящего направления (Рис.26А, белые треугольники, верхняя панель) в контроле пересекала ось потенциала при -35 mV ($E_0 = -35$ mV). Рис.26 (верхняя панель) демонстрирует основной эффект сжатия клетки, устранения этой деформации и последующего и растяжения клетки, причем все данные зарегистрированы на одном изолированном фибробласте. Сжатие на 3 μ m смещает E_0 от -35 mV до -30 mV (рис.26А, черные треугольники, верхняя панель) и ведет к увеличению I_L ($I_{ci} = -0.12$ nA). Устранение этой деформации ведет к полному восстановлению I_L (рис.26, Б, верхняя панель), а следующее за этим растяжение на 3 μ m ведет к сдвигу E_0 от -35 mV до -60 mV (рис.26,В, черные треугольники, верхняя панель). Растяжение меняет I_L ($I_{str} = 0.12$ nA). Этот эффект также обратим.

Рис.26,А (нижняя панель) демонстрирует влияние Gd^{3+} (Рис.26,А, черные квадраты) на I_L сжатой клетки (рис.26,А, черные треугольники). А рис.26,Б (нижняя панель) демонстрирует влияние Gd^{3+} (Рис.26,Б, черные квадраты) на I_L растянутой клетки (рис.26,А, черные треугольники).

Исследования, выполненные на свежеизолированных фибробластах сердца полностью подтвердили чувствительность их мембраны к механическому воздействию, которое выражается в изменении потенциала мембраны фибробласта. Эти эксперименты полностью подтвердили данные, полученные в исследованиях на многоклеточных препаратах с помощью микроэлектродного метода регистрации. Представленные данные демонстрирует, что у сердечных фибробластов механически вызванные изменения мембранного потенциала (МIP) обусловлены механической модуляцией единичной канальной проводимости (рис.27). Эта проводимость должна быть неселективной катионной проводимостью (G_{ns}).

Полученные результаты свидетельствуют, что фибробласты сердца не только обладают механочувствительностью, но и неселективная катионная проводимость G_{ns} их мембраны определяется направлением приложенной силы – растяжением или сдавливанием клетки. Растяжение клетки инактивирует G_{ns} , а сдавливание клетки активирует G_{ns} сердечных фибробластов. Активация G_{ns} и деполяризация мембраны изолированных фибробластов под влиянием их сдавливания совпадает с реакцией фибробластов целого сокращающегося сердца или его фрагмента в виде возникающих МПР.

В 2010 году нами на фибробластах впервые была показана прямая связь между потенциалами, whole-cell MG-токами и токами через одиночные MGC

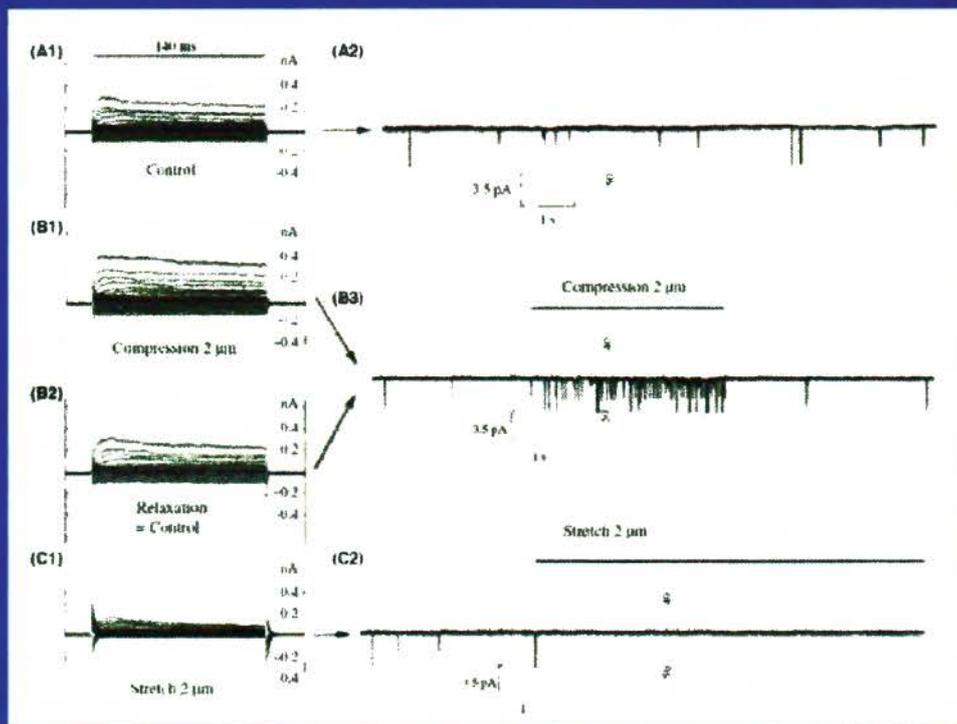


Рис.27

Искусственное растяжение ткани спонтанно сокращающегося фрагмента правого предсердия приводит к вероятному растяжению клетки и,

следовательно, к гиперполяризации мембраны фибробласта, что, соответственно, увеличивает амплитуду МІР тем больше, чем большую величину имеет механоиндуцированная гиперполяризация клетки (рис.5.1.9). Хотя в ряде случаев при растяжении ткани наблюдается и деполяризация мембраны некоторых фибробластов, которая, вероятно, связана со сжатием данной исследуемой клетки.

Влияние искусственного растяжения ткани предсердия на биоэлектрическую активность фибробласта

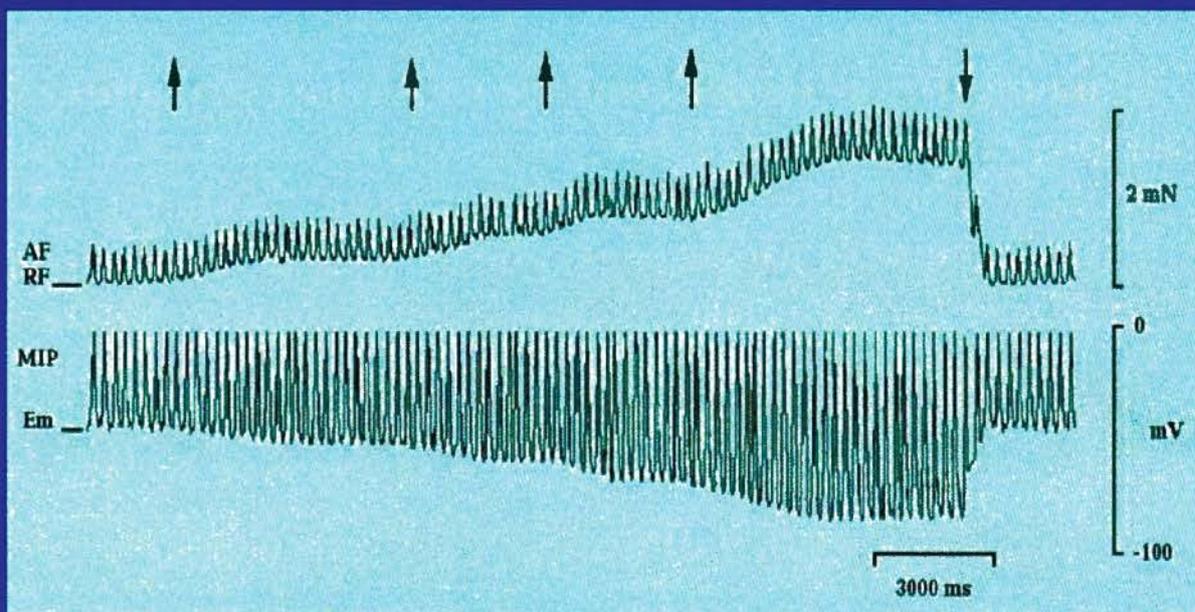


Рис.28

На рис.28 показана специфическая реакция фибробласта предсердия крысы на растяжение ткани при постоянной величине мембранного потенциала. Синхронная регистрация механограммы (верхняя кривая) и механоиндуцированных потенциалов фибробласта (нижняя кривая). Символ (↑) показывает моменты растяжения препарата, а символ (↓) - момент

возвращения величины растяжения препарата к исходному уровню (AF – active force, RF – resting force, MIP – механоиндуцированный потенциал фибробласта, E_m – величина мембранного потенциала).

Поскольку блокатор механосенситивных каналов (МСК) гадолиний блокирует MIP, вызванные как спонтанными сокращениями препарата, так и его искусственным растяжением, было предположено, что MIP определяется работой MGCs. В последующих работах было показано, что механическая энергия стимуляции передается на MGCs при помощи цитоскелета, поскольку вещества, деполимеризующие белки микрофиломентов и микротрубочек ингибировали амплитуду MIP.

Влияние растяжения ткани предсердия на потенциал фибробластов после инфаркта миокарда левого желудочка величиной 40% и чувствительность мембранного потенциала к растяжению ткани в контроле, при мелкоочаговом инфаркте миокарда, инфаркте миокарда величиной 16% и 40%.

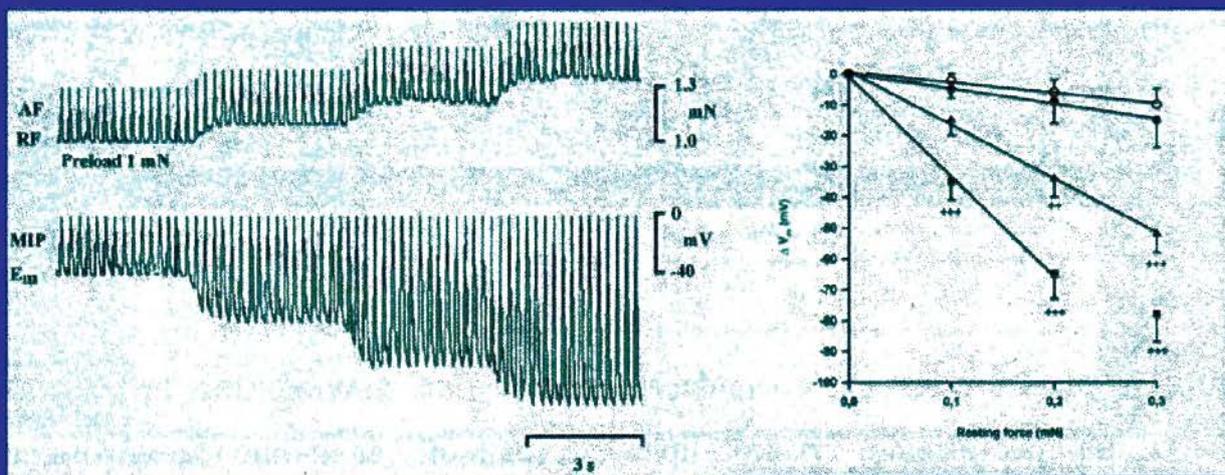


Рис.29

Реакция фибробласта предсердия здоровой крысы принципиально отличается от реакции фибробласта предсердия крысы, перенесшей инфаркт миокарда левого желудочка (рис.29,А). На этом рисунке представлена оригинальная кривая реакции фибробласта правого предсердия крысы, перенесшей обширный инфаркт миокарда левого желудочка (40%, 20 дней) на длительное искусственное растяжение ткани. Реакция на растяжение ткани была несоизмеримо более выражена в ткани, подверженной ремоделингу. Растяжение ткани только на 0,3 mN приводило к смещению мембранного потенциала фибробласта до -100 mV.

Данные для всех групп экспериментальных животных представлены на рис.29,Б. В контрольных экспериментах растяжение ткани до 0.3 mN вызывало не значительное увеличение мембранного потенциала на -10 ± 5 mV (белые кружочки). После мелкоочаговых инфарктов растяжение ткани до 0.3 mN вело к увеличению мембранного потенциала на -15 ± 9 mV (черные кружочки). Если величина инфаркта равнялась примерно 16%, то фибробласты предсердия демонстрировали значительное увеличение мембранного потенциала, которое составляло -52 ± 6 mV (черные треугольники). Реакция фибробластов на растяжение ткани на 0.3 mN в группе животных с обширным инфарктом, который занимал примерно 40% передней стенки левого желудочка, заключалась в увеличении мембранного потенциала на -78 ± 9 mV (черные квадраты).

Смещение мембранного потенциала фибробласта в сторону гиперполяризации было тем большим, чем больше была зона инфаркта миокарда и, следовательно, последующая гипертрофия сердца. На рис.30 показано частотное распределение потенциала покоя мембраны фибробластов предсердия крыс у контрольной группы (А) и групп, перенесших инфаркт миокарда левого желудочка (20 дней) и имеющих мелкоочаговый инфаркт (Б), идентифицируемый на ЭКГ, но

неидентифицируемый визуально (0%), очаговый (В) инфаркт ($16.5 \pm 0.6 \%$) и обширный (Г) инфаркт ($40 \pm 1.3 \%$) левого желудочка.

Фибробласты предсердий контрольных животных и животных с неидентифицируемым визуально инфарктом миокарда (с мелкоочаговым) имели мембранный потенциал, равный $-22.0 \pm 1.9 \text{ mV}$ и $-25.8 \pm 2.3 \text{ mV}$ соответственно (рис.30,А,Б). Фибробласты предсердий животных с очаговым инфарктом миокарда (рис.30,В) имели мембранный потенциал, равный $-35.9 \pm 1.6 \text{ mV}$, а с обширным (рис.30,Г) $-46.5 \pm 1.8 \text{ mV}$.

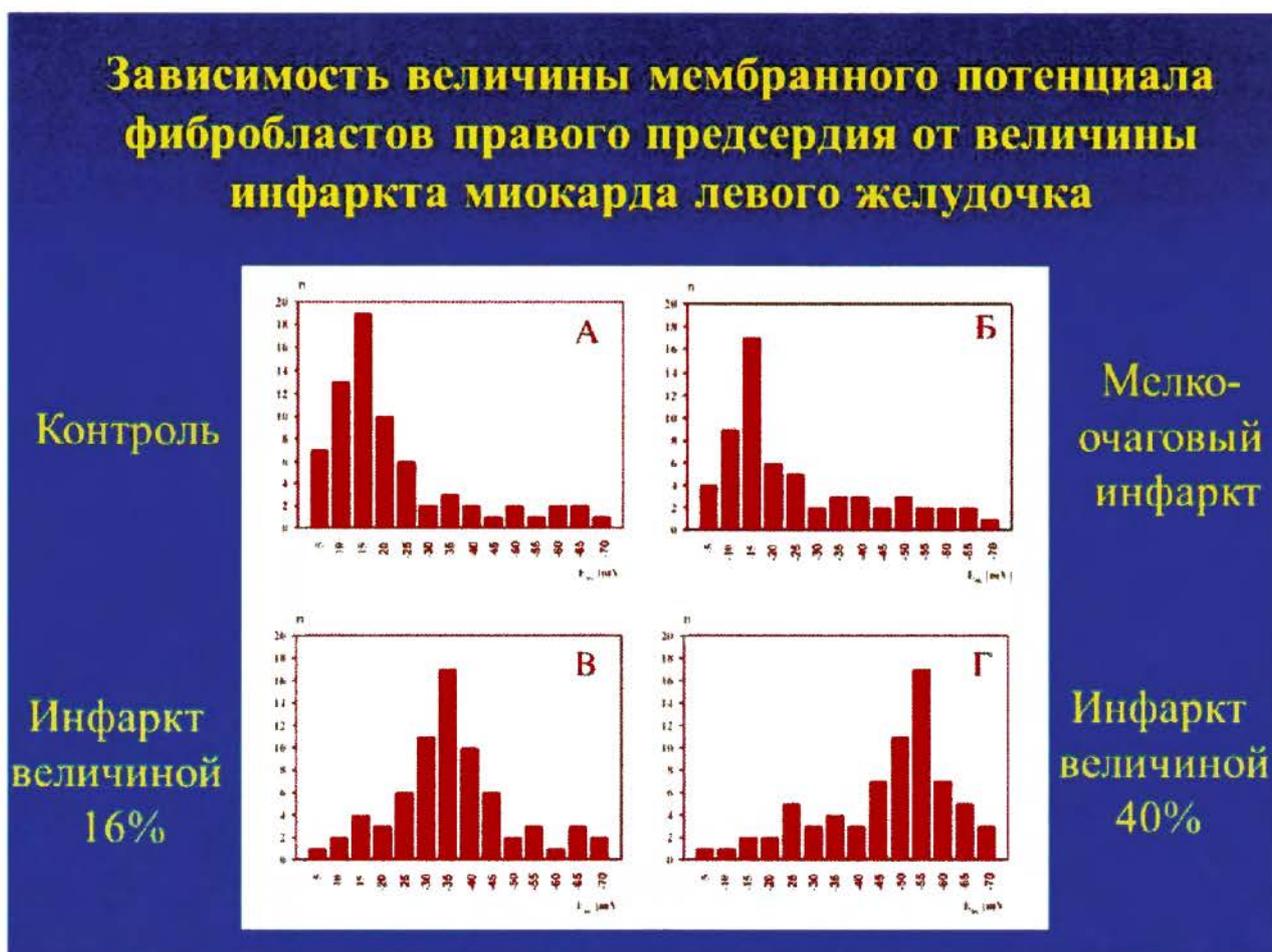


Рис.30

Таким образом, фибробласты сердца помимо кардиомиоцитов могут также являться субстратом механоэлектрической обратной связи в сердце (рис.31).

Изменение проводимости мембраны и сдвиги мембранного потенциала фибробластов, возникающее под влиянием механических воздействий, могут передаваться на кардиомиоциты. Например, вызванная растяжением фибробластов гиперполяризация, может, в условиях частых сокращений предсердий при увеличении их растяжения, передаваться на клетки водителя ритма и замедлять развитие диастолической деполяризации в пейсмейкерных клетках. Помимо этого должен быть вызван и другой процесс – появление пейсмейкерного тока, активируемого гиперполяризацией (I_F).

РЕЗЮМЕ II

Механизм изменения мембранного потенциала при растяжении и сжатии фибробласта

<ul style="list-style-type: none">• Механическая компрессия фибробласта• Открытие MGC• Вход ионов Na^+• Деполяризация клетки	<ul style="list-style-type: none">• Механическое растяжение фибробласта• Закрытие MGC• Выход ионов K^+ и работы помпы• Гиперполяризация до -100 мВ
--	---

Рис.31

РЕЗЮМЕ II

- Фибробласты являются электронеовозбудимыми, но механосенситивными клетками, мембрана которых имеет механосенситивные ионные каналы.
- Механоиндуцированный потенциал сердечных фибробластов является электрофизиологическим проявлением механической стимуляции этих клеток.
- В сердечной ткани сжатие фибробластов приводит к деполяризации, а растяжение фибробластов – к гиперполяризации их мембран.
- В гипертрофированном сердце электрофизиологические параметры фибробластов и их реакция на механическое воздействие существенно меняются. При крайне малой величине растяжения ткани по сравнению с контролем чувствительность фибробластов к механическому воздействию значительно возрастает.
- Сжатие изолированных фибробластов увеличивает проводимость их мембраны, то есть деполяризует клетку.
- Растяжение изолированных фибробластов уменьшает проводимость их мембраны, то есть гиперполяризует клетку.
- Растяжение кардиомиоцита приводит к его деполяризации, а растяжение фибробласта к его гиперполяризации. В физиологических условиях установлено некое равновесие этих процессов.
- При патологии сердца реакция на растяжение крайне выражена у обоих типов клеток. Если гиперполяризация у фибробластов больше, чем деполяризация у кардиомиоцитов и влияние со стороны фибробластов большее, наблюдается урежение ритма сердца вплоть до его остановки. Если деполяризация у кардиомиоцитов больше, чем переданная от фибробластов гиперполяризация, то наблюдаются аритмии вплоть до фибрилляции сердца. В этом случае важна степень их межклеточного взаимодействия и степень реакции на механический стресс у каждого типа клеток.

2.4. Межклеточное взаимодействие кардиомиоцитов и фибробластов

Межклеточное электротоническое взаимодействие кардиомиоцитов с фибробластами в сердце на этапе 80-х годов прошлого столетия отрицалось. Отрицалось также и электротоническое взаимодействие между сердечными фибробластами. Этот вид взаимодействия, осуществляемого посредством gap junctions, впервые был показан в смешанной культуре ткани, однако нам удалось и электрофизиологическими методами и гистоиммунохимическими методами показать наличие коннексонов, в том числе между фибробластами и кардиомиоцитами во фрагментах сердца (рис.32).

ИЗУЧЕНИЕ МЕЖКЛЕТОЧНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ И ФИБРОБЛАСТОВ

**Межклеточное взаимодействие кардиомиоцитов
друг с другом хорошо изучено.**

**Межклеточное взаимодействие фибробластов
друг с другом осуществляется через
gap junctions (высокопроницаемые контакты).**

**Межклеточное взаимодействие кардиомиоцитов с
фибробластами осуществляется через
single gap junction channels
(примерно 60 коннексонов).**

Рис.32

На рис.33 показано, что между кардиомиоцитами и фибробластами обнаружены коннексины Сх40, Сх43, Сх45, количество которых резко увеличивается при патологии сердца.

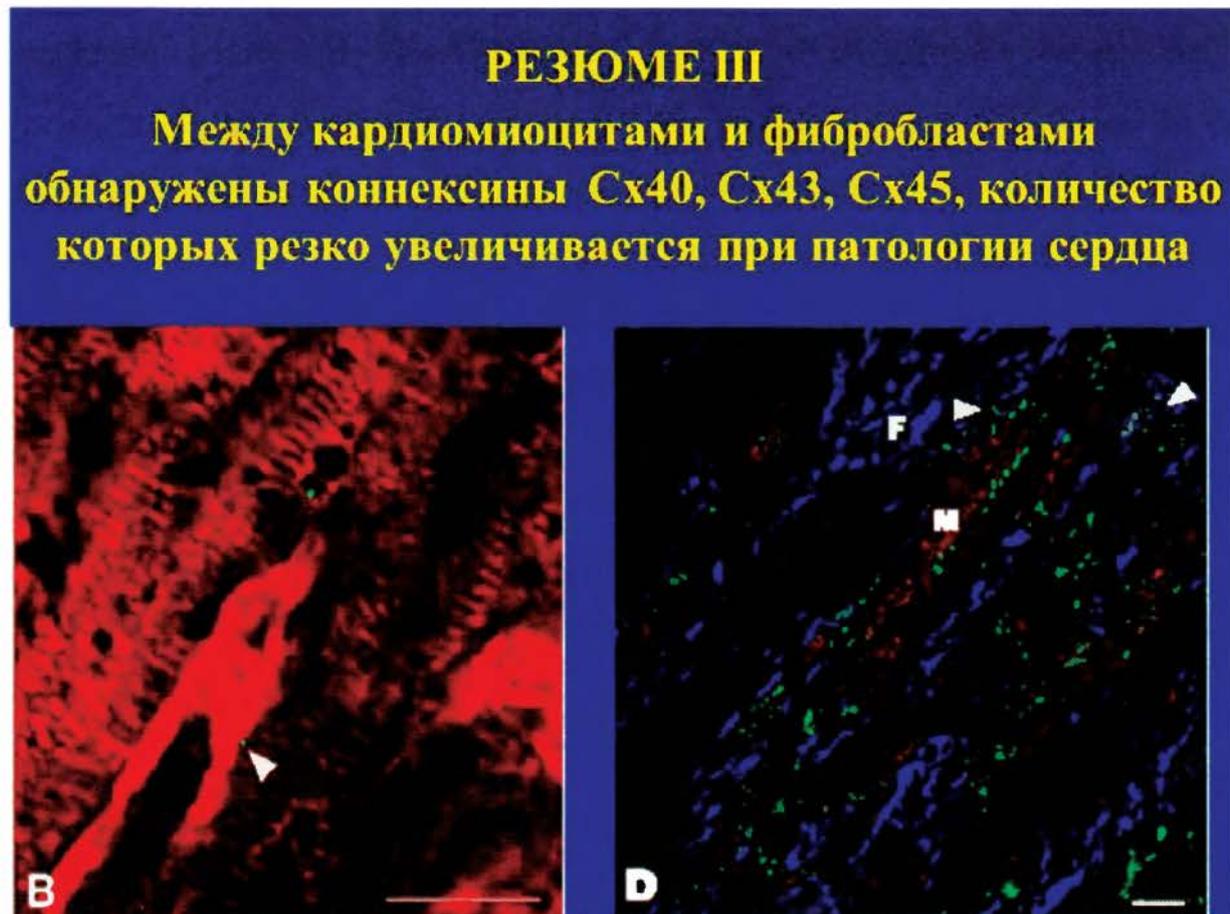


Рис.33

РЕЗЮМЕ III

- В сердце фибробласты контактируют друг с другом при помощи gap junctions. Межклеточное электротоническое взаимодействие фибробластов друг с другом было показано электрофизиологическими методами и доказано наличием коннексинов Сх40 и Сх45
- Межклеточное электротоническое взаимодействие фибробластов с кардиомиоцитами было косвенно показано электрофизиологическими методами и доказано наличием коннексина Сх45 между фибробластами и кардиомиоцитами.

2.5. Принцип работы сердца

На основании приведенных выше и других опубликованных данных был сформулирован принцип работы сердца в норме и патологии, схема которого приведена на рис.34.



Рис.34

2.6. Регуляция работы механоуправляемых каналов посредством NO

Первый вопрос, который встает в этом направлении – а возможно ли вообще регулировать работу механоуправляемых каналов? Для этого осуществлялся поиск соединений, открывающих или закрывающих

механоуправляемые каналы без деформации клетки. Впервые в Мире показать это удалось нашей рабочей группе.

На изолированных кардиомиоцитах в условиях регистрации методом patch-clamp мембранных токов через ионные каналы, активирующиеся растяжением клетки (MGCs), показано, что доноры оксида азота (SNAP и DEA-NO) вызывают их активацию и появление MG токов, блокируемых Gd^{3+} у недеформированных клеток, в то время как у растянутых клеток, где MGCs активированы, NO-доноры вызывают их инактивацию и ингибируют проводимость каналов (рис. 35).

Доноры NO открывают механоуправляемые каналы покоящейся клетки и закрывают у растянутой

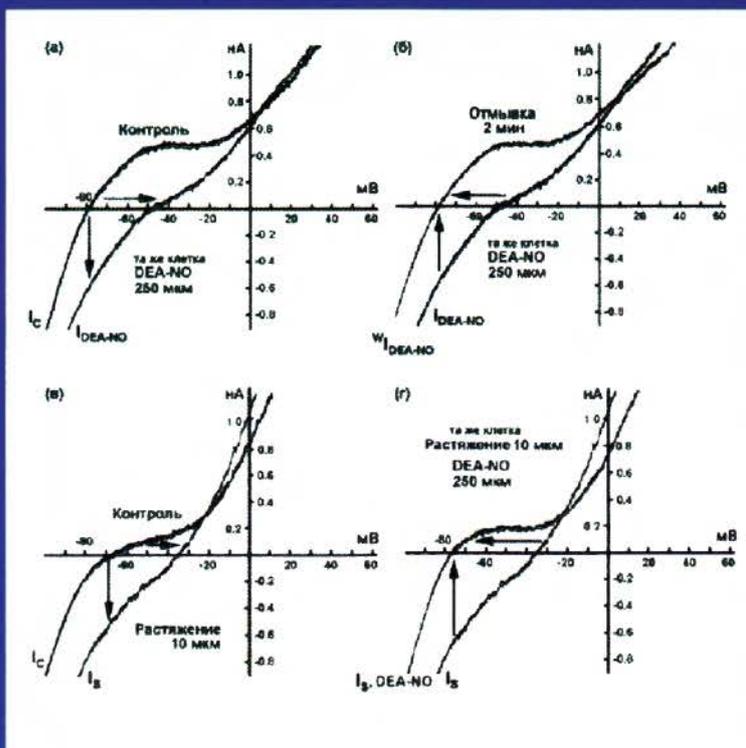


Рис.35

На препаратах правого предсердия крыс с использованием микроэлектродной техники показано, что доноры NO – SNAP и DEA-NO на фоне физиологического предрастяжения ткани вызывает изменение формы

фазы реполяризации потенциалов действия кардиомиоцитов по типу "hump-like" деполяризации с дальнейшим развитием аритмий (рис.36, левая панель). Гадолиний блокирует этот эффект, что доказывает участие механоуправляемых ионных каналов в развитии NO-индуцированных аномальностей. Увеличение концентрации SNAP или DEA-NO, а также растяжение ткани (приводящее к активации NO-синтазы), устраняет вызванную NO "hump-like" деполяризацию (рис.36, правая панель).

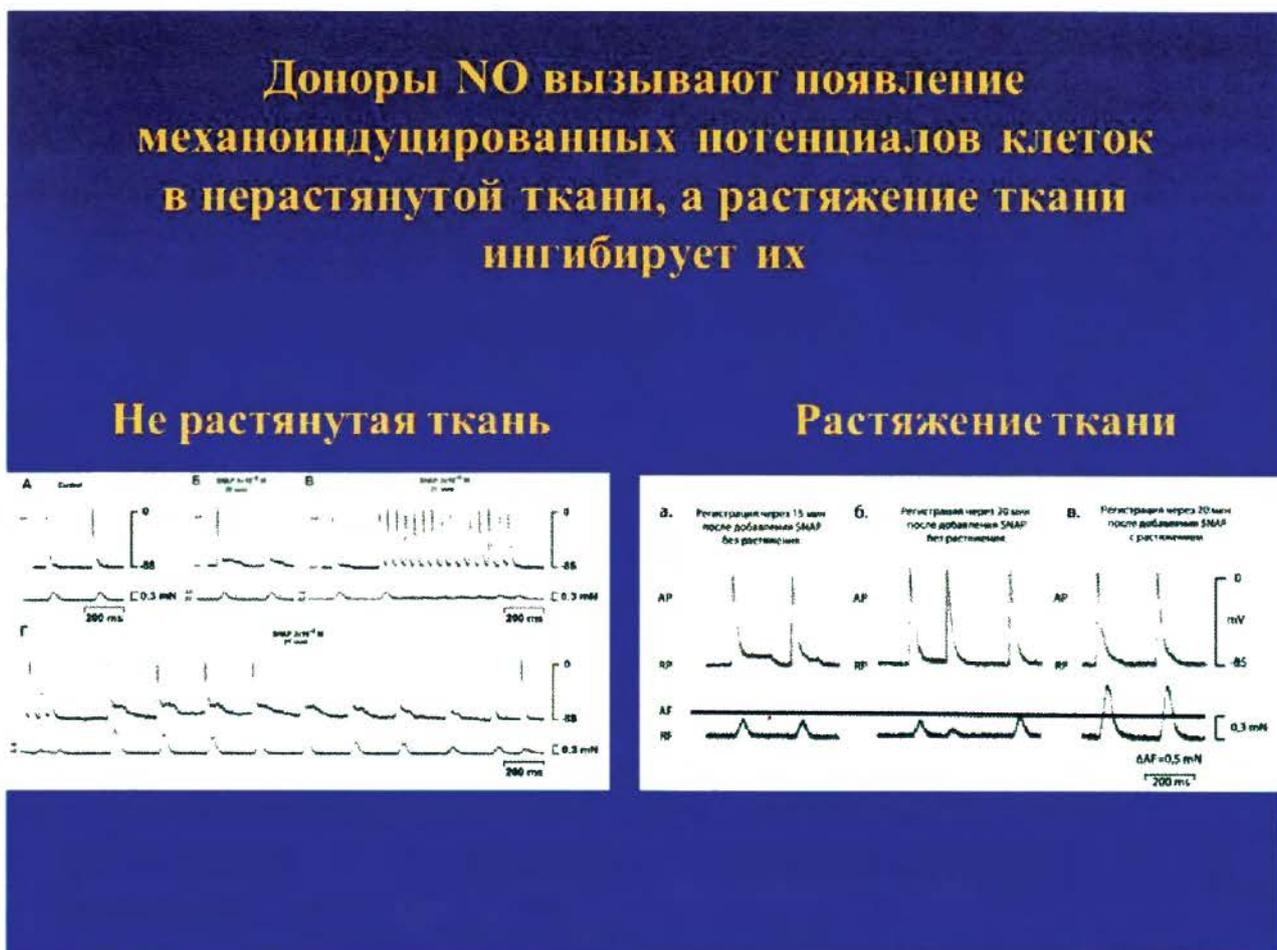


Рис.36

Таким образом, NO в низких концентрациях активирует механоуправляемые каналы кардиомиоцитов, приводя к механоиндуцированным аритмиям, а в высоких концентрациях инактивирует их.

На изолированных кардиомиоцитах мыши, крысы и морской свинки методом patch-clamp в конфигурации whole-cell изучали роль оксида азота в

регуляции токов через ионные каналы, активируемые растяжением клетки (mechanically gated channels: MGCs), в том числе катион-неселективные и K^+ -каналы – TRPC6, TREK1 (K2P2.1) и TREK2 (K2P10.1). Показано, что у недеформированной клетки связывание эндогенного оксида азота РТЮ необратимо смещает диастолический мембранный потенциал в негативную область, модулирует K_{ir} каналы, уменьшая I_{K1} , и блокирует MGCs. Перфузия клеток РТЮ на фоне растяжения приводит к полному ингибированию MG-токов (рис.37).

РТЮ, связывая NO, закрывает механо-управляемые ионные каналы у растянутой

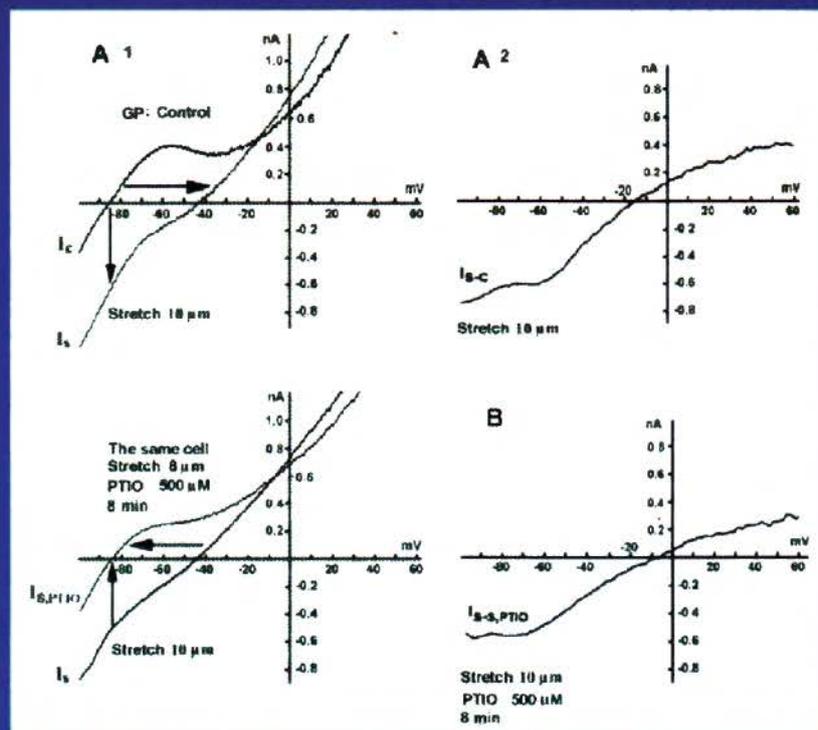


Рис.37

Ингибиторы NO-синтаз L-NAME и L-NMMA полностью блокируют MGCs (рис.38,А, левая панель). Растяжение кардиомиоцитов от мышей дикого типа, а также NOS1-/-- и NOS2-/--нокаутных приводит к появлению типичных для заданной величины растяжения MG-токов (рис.38,В1,В2, левая

панель). Напротив, растяжение кардиомиоцитов от NOS3^{-/-}-нокаутных мышей не вызывает появления MG-тока (рис.38, правая панель). Результаты свидетельствуют о роли NO в регуляции активности MGCs и демонстрируют, что NOS3 доминирует как источник NO в реализации ответа кардиомиоцитов на растяжение.

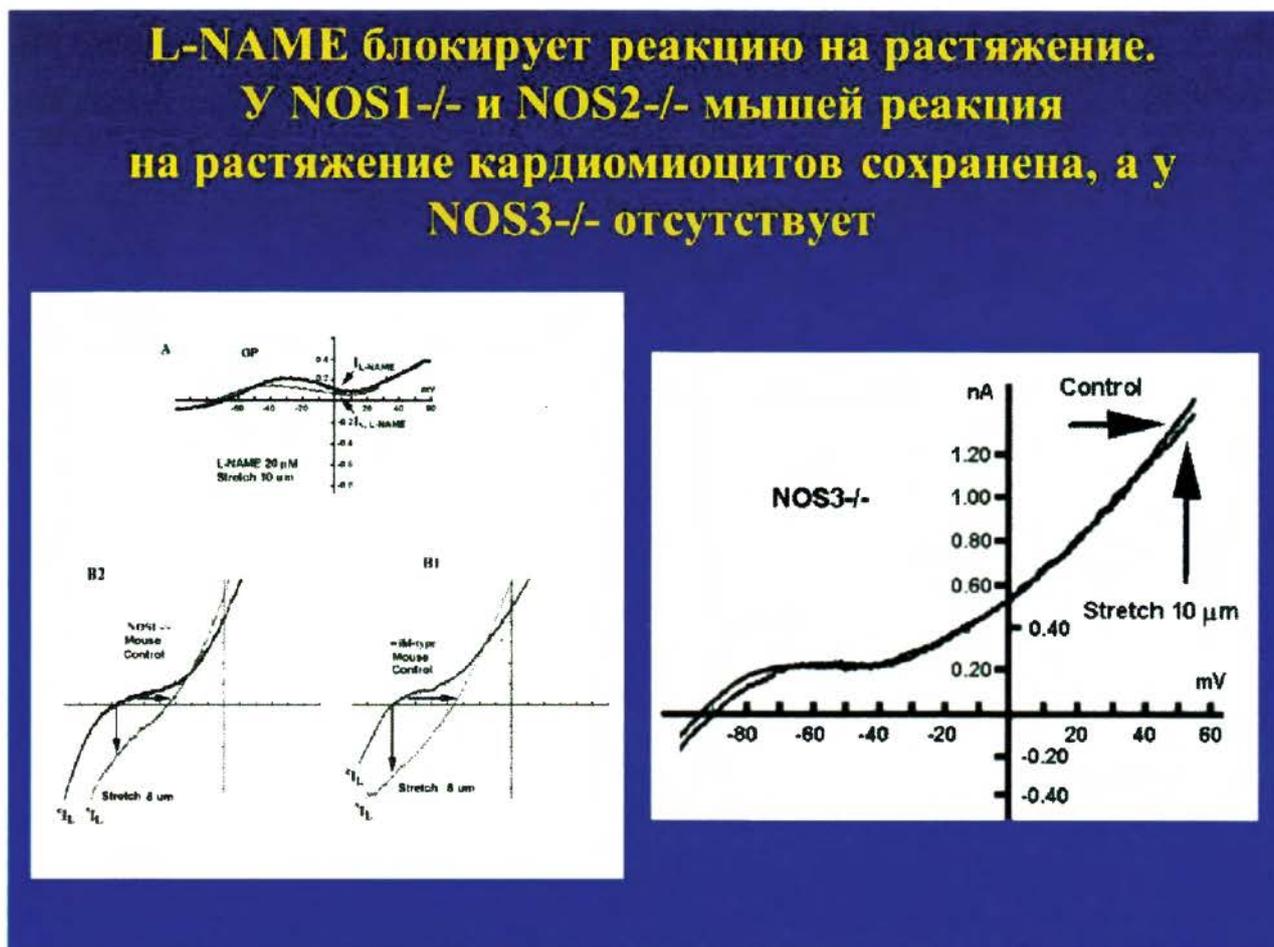


Рис.38

2.7. Регуляция работы механоуправляемых каналов посредством интерлейкинов

Данные о роли IL-1a, IL-2, IL-6, IL-8, IL-13, IL-16, IL-17a, IL-18, TNF, VEGF в формировании электрических abnormalities у клеток и у ткани сердца, переходящих в аритмии и фибрилляцию, в основе механизмов которых лежит работа ионных каналов, активирующихся растяжением

клетки (MGCs) были получены впервые в мире. Также впервые показан механизм влияния интерлейкинов на механоэлектрическую обратную связь в сердце. Так, например, увеличение концентрации IL-6 на фоне крайне малого растяжения ткани, приводит к фибрилляции (рис.39). Впервые были получены данные о натриевых осцилляциях при растяжении кардиомиоцитов. Также впервые в мире была показана корреляция концентрации ряда цитокинов, например, TNF- α , и частотой возникновения аритмий.

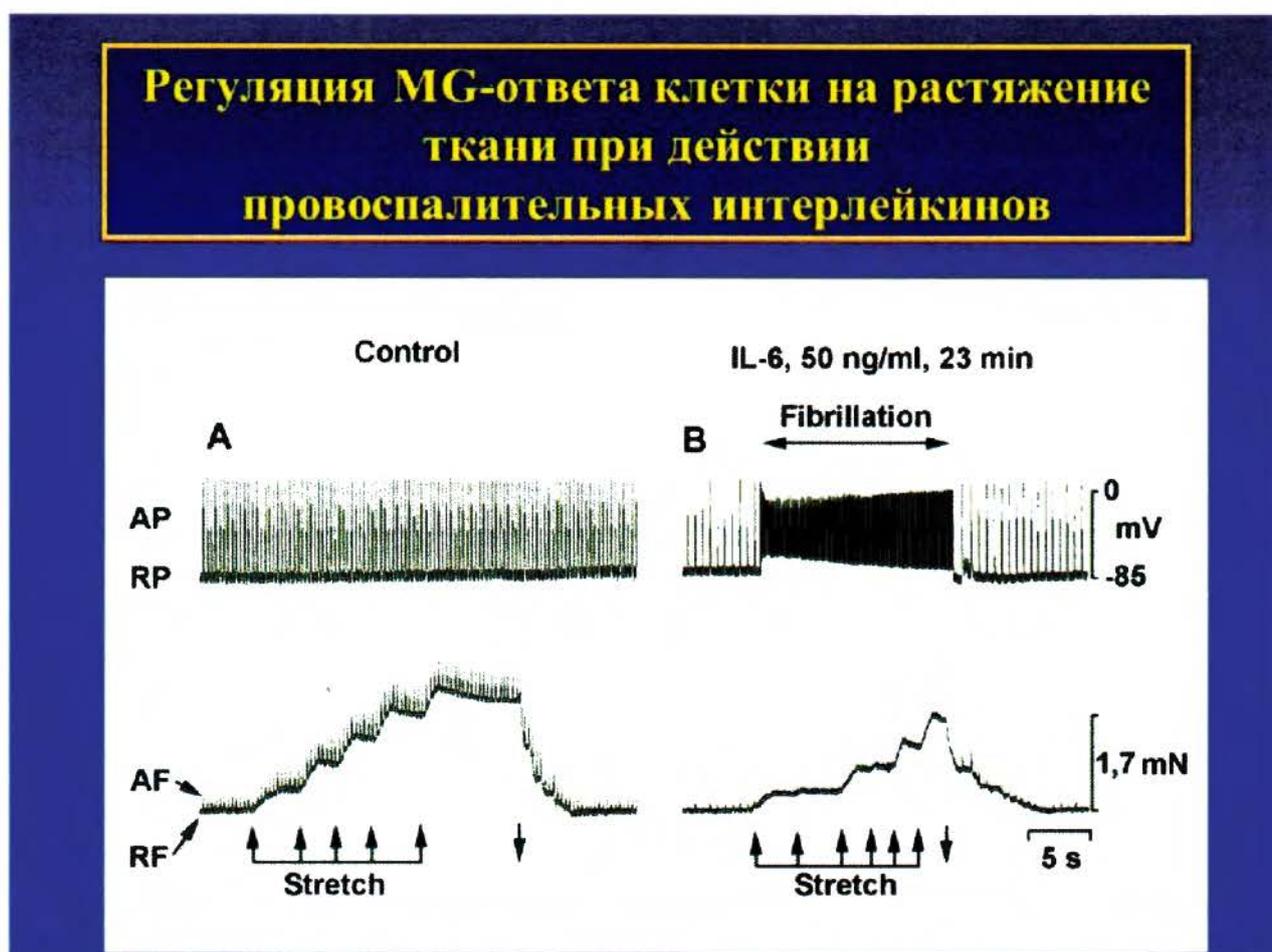


Рис.39

Основные публикации

Монографии

- Камкин А.Г.**, Ярыгин В.Н., Киселева И.С (2003) Механоэлектрическая обратная связь в сердце. «Натюрморт», Москва, 351 стр.
- Камкин А.Г.**, Киселева И.С (2008) Физиология и молекулярная биология мембран клеток Academia Publishing House Ltd. 586 стр.
- Kamkin A.**, Kiseleva I (2005) Mechanosensitivity in Cells and Tissues. Academia Publishing House Ltd., Moscow, 464 pp. (English)
- Kamkin A.**, Kiseleva I (2008) Mechanosensitive Ion Channels. «Springer», 381 pp.
- Kamkin A.**, Kiseleva I (2009) Mechanosensitivity of Nervous System «Springer», 347 pp.
- Kamkin A.**, Kiseleva I (2010) Mechanosensitivity of the Heart «Springer», 485 pp.
- Kamkin A.**, Kiseleva I (2011) Mechanosensitivity and Mechanotransduction «Springer», 371 pp.
- Kamkin A.**, Kiseleva I (2012) Mechanical Stretch and Cytokines «Springer», 236 pp.
- Kamkin A.**, Lozinsky I (2013) Mechanically Gated Channels and their Regulation «Springer», 429 pp.

Статьи

- Abramochkin DV, Lozinsky IT, **Kamkin A.** [Influence of mechanical stress on fibroblast-myocyte interactions in mammalian heart.](#) J Mol Cell Cardiol. 2014 Jan 2. pii: S0022-2828(13)00369-6.
- Abramochkin DV, Kuzmin VS, Mitrochin VM, Kalugin L, Dvorzhak A, Makarenko EY, Schubert R, **Kamkin A.** [TNF- \$\alpha\$ provokes electrical abnormalities in rat atrial myocardium via a NO-dependent mechanism.](#) Pflugers Arch. 2013 Dec;465(12):1741-52.
- Kamkin A.**, Lozinsky I (2013) Mechanically Gated Channels. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 6: vii-xiv.
- Abramochkin DV, Lozinsky I, **Kamkin A** (2013) Ion Channels in Cardiac Fibroblasts: Link to Mechanically Gated Channels and their Regulation. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 6:215-244.
- Makarenko EYu, Lozinsky I, **Kamkin A** (2013) The Role of Nitric Oxide in the Regulation of Ion Channels in the Cardiomyocytes: Link to Mechanically Gated Channels. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 6:245-262.
- Kamkin AG**, Makarenko Elu. [\[Mechanically gated cardiac ion channels and their regulation by cytokines\].](#) Usp Fiziol Nauk. 2012 Oct-Dec;43(4):3-44. Review. Russian.
- Kamkin A, Kiseleva I (2012) Cytokines and Mechanical Stretch of Different Tissues. Mechanosensitivity in Cells and Tissues, 5, vii-x.
- Kovalchuk LV, Khoreva MV, Nikonova A, Kazanski VE, Lozinsky I, Diakonova IN, **Kamkin A** (2012) Mechanical stretching of cells of different tissues: The role of mediators of innate immunity. Mechanosensitivity in Cells and Tissues, 5: 35-58.
- Kuzmin V.S., Abramochkin D.V., Mitrochin V.M., Tian B., Makarenko E.Yu., Kovalchuk L.V., Khoreva M.V., Nikonova A., Kalugin L., Lysenko N.N., Lozinsky I., Rozanov A., Arutyunov G., Kiseleva I., **Kamkin A** (2012) The Role of Proinflammatory Cytokines in Regulation of Cardiac Bioelectrical Activity: Link to Mechanoelectrical Feedback. Mechanosensitivity in Cells and Tissues, 5: 107-154.
- Abramochkin D.V., Makarenko E.Yu., Mitrochin V.M., Tian B., Kuzmin V.S., Kalugin L., Kovalchuk L.V., Khoreva M.V., Nikonova A., Lozinsky I., **Kamkin A** (2012) An Anti-inflammatory Cytokine Interleukin-13: Physiological Role in the Heart and Mechanoelectrical Feedback . Mechanosensitivity in Cells and Tissues 5: 155-164.

Mitrokhin VM, Makarenko Elu, Abramochkin DV, **Kamkin AG**. [\[Influence of interleukin-13 on bioelectrical activity of rat atrial cardiomyocytes in normal and stretch conditions\]](#). Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova. 2012 Jul;98(7):827-35. Russian.

Abramochkin DV, Makarenko EY, Mitrochin VM, Tian B, Kalugin LY, Sutyagin PV, **Kamkin AG**. [Effect of nitric oxide on mechanoelectric feedback in rat right atrium](#). Bull Exp Biol Med. 2012 May;153(1):32-5.

Kamkin A, Kiseleva I (2011) Basic Principles of Mechanosensing and Mechanotransduction in Cells. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 4, vii-xvi.

Kazanski V, **Kamkin A**, Makarenko E, Lysenko N, Lapina N, Kiseleva I (2011) The Role of Nitric Oxide in the Regulation of Mechanically Gated Channels in the Heart. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 4, 109-140.

Kamkin A, Scholz H, Kiseleva I (2011) Cardiac fibroblasts in normal and diseased heart: Single mechanically-gated ion channels, mechanosensitive currents and mechanically induced potentials in isolated cells and tissue. In: The Cardiac Fibroblast. Neil A. Turner (ed.) «Research Signpost». Pp. 127-142.

Kamkin A, Kiseleva I (2010) Mechanically Gated Channels and Mechanotransduction: The Contribution to Electrical Heterogeneity and Cardiac Abnormality. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 3, xi-xxxiii.

Lozinsky I, **Kamkin A** (2010) Mechanosensitive alterations of action potentials and membrane currents in healthy and diseased cardiomyocytes: Cardiac tissue and isolated cell. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 3, 185-238.

Kamkin A, Kiseleva I, Lozinsky I (2010) The role of mechanosensitive fibroblasts in the heart: Evidence from acutely isolated single cells, cultured cells and from intracellular microelectrode recordings on multicellular preparations from healthy and diseased cardiac tissue. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 3, 239-266.

Kamkin A, Kiseleva I, Theres H, Eulert-Grehn JJ, Wagner KD, Scholz H, Vetter R. [Enhanced L-type calcium currents in cardiomyocytes from transgenic rats overexpressing SERCA2a](#). Exp Clin Cardiol. 2010 Winter;15(4):e109-15.

Kazanski VE, **Kamkin AG**, Makarenko EY, Lysenko NN, Sutyagin PV, Kiseleva IS. [Role of nitric oxide in the regulation of mechanosensitive ionic channels in cardiomyocytes: contribution of NO-synthases](#). Bull Exp Biol Med. 2010 Dec;150(2):263-7. English, Russian.

Kazanski VE, **Kamkin AG**, Makarenko EY, Lysenko NN, Sutyagin PV, Bo T, Kiseleva IS. [Role of nitric oxide in activity control of mechanically gated ionic channels in cardiomyocytes: NO-donor study](#). Bull Exp Biol Med. 2010 Dec;150(1):1-5.

Sutyagin PV, **Kamkin AG**, Gurina OY. [Main regularities of mutual location of different pacemaker cells in the rat heart sinoatrial node](#). Bull Exp Biol Med. 2009 Sep;148(3):452-4. English, Russian.

Kamkin A, Kiseleva I (2009) Mechanosensitivity of the nervous system: nervous cells, receptors, biomechanic of tissue. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 2, xi-xviii.

Kamkin A, Kirischuk S, Kiseleva I. [Single mechano-gated channels activated by mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts from rats](#). Acta Physiol (Oxf). 2010 Jul 1;199(3):277-92.

Kondrat'ev DV, Kazanskiĭ VE, **Kamkin AG**. [\[The role of calcium in reaction of the heart for mechanical stress\]](#). Usp Fiziol Nauk. 2008 Jul-Sep;39(3):3-28. Review. Russian.

Dvorzhak A, Myakhar O, **Kamkin A**, Kirmse K, Kirischuk S. [Postsynaptically different inhibitory postsynaptic currents in Cajal-Retzius cells in the developing neocortex](#). Neuroreport. 2008 Aug 6;19(12):1213-6.

Kamkin A, Kiseleva I (2008) Mechanically gated channels and mechanosensitive channels. Mechanosensitivity in Cells and Tissues 1, xiii-xviii.

- Kamkin A**, Kiseleva I, Lozinsky I (2008) Experimental methods of studying of mechanosensitive channels and possible errors in data interpretation *Mechanosensitivity in Cells and Tissues* 1, 3-35.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS, Kirishchuk SI, Lozinskiĭ IT. [Voltage-gated calcium channels](#). *Usp Fiziol Nauk*. 2007 Jan-Mar;38(1):14-38. Review. Russian.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS, Kirishchuk SI, Lozinskiĭ IT. [\[Voltage-gated calcium channels\]](#). *Usp Fiziol Nauk*. 2006 Oct-Dec;37(4):3-33. Review. Russian.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Lozinsky I, Scholz H. [Electrical interaction of mechanosensitive fibroblasts and myocytes in the heart](#). *Basic Res Cardiol*. 2005 Jul;100(4):337-45.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Lozinsky I, Wagner KD, Isenberg G, Scholz H. [The Role of Mechanosensitive Fibroblasts in the Heart](#). In: **Kamkin A**, Kiseleva I, editors. *Mechanosensitivity in Cells and Tissues*. Moscow: Academia; 2005.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Wagner KD, Scholz H. [Mechano-Electric Feedback in the Heart: Evidence from Intracellular Microelectrode Recordings on Multicellular Preparations and Single Cells from Healthy and Diseased Tissue](#). In: **Kamkin A**, Kiseleva I, editors. *Mechanosensitivity in Cells and Tissues*. Moscow: Academia; 2005.
- Kamkin A**, Kiseleva I. [Mechanosensitivity of Cells from Various Tissues](#). In: **Kamkin A**, Kiseleva I, editors. *Mechanosensitivity in Cells and Tissues*. Moscow: Academia; 2005.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Wagner KD, Bohm J, Theres H, Günther J, Scholz H. [Characterization of stretch-activated ion currents in isolated atrial myocytes from human hearts](#). *Pflugers Arch*. 2003 Jun;446(3):339-46.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Isenberg G. [Ion selectivity of stretch-activated cation currents in mouse ventricular myocytes](#). *Pflugers Arch*. 2003 May;446(2):220-31.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Wagner KD, Lozinsky I, Günther J, Scholz H. [Mechanically induced potentials in atrial fibroblasts from rat hearts are sensitive to hypoxia/reoxygenation](#). *Pflugers Arch*. 2003 May;446(2):169-74.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Isenberg G, Wagner KD, Günther J, Theres H, Scholz H. [Cardiac fibroblasts and the mechano-electric feedback mechanism in healthy and diseased hearts](#). *Prog Biophys Mol Biol*. 2003 May-Jul;82(1-3):111-20. Review.
- Isenberg G, Kazanski V, Kondratev D, Gallitelli MF, Kiseleva I, **Kamkin A**. [Differential effects of stretch and compression on membrane currents and \[Na⁺\]_i in ventricular myocytes](#). *Prog Biophys Mol Biol*. 2003 May-Jul;82(1-3):43-56. Review.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Isenberg G. [Activation and inactivation of a non-selective cation conductance by local mechanical deformation of acutely isolated cardiac fibroblasts](#). *Cardiovasc Res*. 2003 Mar;57(3):793-803.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS, Iarygin VN. [\[Mechanosensitive ion channels\]](#). *Usp Fiziol Nauk*. 2002 Jul-Sep;33(3):3-37. Review. Russian.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Wagner KD, Pylaev A, Leiterer KP, Theres H, Scholz H, Günther J, Isenberg G. [A possible role for atrial fibroblasts in postinfarction bradycardia](#). *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Mar;282(3):H842-9.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS, Iarygin VN. [\[Ion mechanisms of the mechano-electrical feedback in myocardial cells\]](#). *Usp Fiziol Nauk*. 2001 Apr-Jun;32(2):58-87. Review. Russian.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Wagner KD, Scholz H, Theres H, Kazanski V, Lozinsky I, Günther J, Isenberg G. [Mechanically induced potentials in rat atrial fibroblasts depend on actin and tubulin polymerisation](#). *Pflugers Arch*. 2001 Jul;442(4):487-97.
- Gödecke A, Heinicke T, **Kamkin A**, Kiseleva I, Strasser RH, Decking UK, Stumpe T, Isenberg G, Schrader J. [Inotropic response to beta-adrenergic receptor stimulation and anti-adrenergic effect of ACh in endothelial NO synthase-deficient mouse hearts](#). *J Physiol*. 2001 Apr 1;532(Pt 1):195-204.

- Kamkin A**, Kiseleva I, Isenberg G. [Stretch-activated currents in ventricular myocytes: amplitude and arrhythmogenic effects increase with hypertrophy](#). Cardiovasc Res. 2000 Dec;48(3):409-20.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS. [\[Mechanoelectrical feedback in the healthy heart and in the heart with pathologies\]](#). Usp Fiziol Nauk. 2000 Apr-Jun;31(2):51-78. Review. Russian.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Wagner KD, Leiterer KP, Theres H, Scholz H, Günther J, Lab MJ. [Mechano-electric feedback in right atrium after left ventricular infarction in rats](#). J Mol Cell Cardiol. 2000 Mar;32(3):465-77.
- Kiseleva I, **Kamkin A**, Wagner KD, Theres H, Ladhoff A, Scholz H, Günther J, Lab MJ. [Mechanoelectric feedback after left ventricular infarction in rats](#). Cardiovasc Res. 2000 Jan 14;45(2):370-8.
- Wagner K, **Kamkin A**, Kiseleva I, Theres H, Scholz H, Günther J. [Effects of metoprolol and ramipril on action potentials after myocardial infarction in rats](#). Eur J Pharmacol. 2000 Feb 4;388(3):263-6.
- Kamkin A**, Kiseleva I, Wagner KD, Lammerich A, Bohm J, Persson PB, Günther J. [Mechanically induced potentials in fibroblasts from human right atrium](#). Exp Physiol. 1999 Mar;84(2):347-56.
- Kiseleva I, **Kamkin A**, Pylaev A, Kondratjev D, Leiterer KP, Theres H, Wagner KD, Persson PB, Günther J. [Electrophysiological properties of mechanosensitive atrial fibroblasts from chronic infarcted rat heart](#). J Mol Cell Cardiol. 1998 Jun;30(6):1083-93.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS. [\[Heart fibroblasts, the mechanism of the appearance of their potentials and their possible role in regulating cardiac work\]](#). Usp Fiziol Nauk. 1998 Jan-Mar;29(1):72-102. Review. Russian.
- Kiseleva I, **Kamkin A**, Kohl P, Lab MJ. [Calcium and mechanically induced potentials in fibroblasts of rat atrium](#). Cardiovasc Res. 1996 Jul;32(1):98-111.
- Kohl P, **Kamkin AG**, Kiseleva IS, Noble D. [Mechanosensitive fibroblasts in the sino-atrial node region of rat heart: interaction with cardiomyocytes and possible role](#). Exp Physiol. 1994 Nov;79(6):943-56.
- Kohl P, **Kamkin AG**, Kiseleva IS, Streubel T. [Mechanosensitive cells in the atrium of frog heart](#). Exp Physiol. 1992 Jan;77(1):213-6.
- Kiseleva IS, **Kamkin AG**, Kirkheis R, Kositskiĭ GI. [\[Intercellular electrotonic interactions in the cardiac sinus node in the frog\]](#). Dokl Akad Nauk SSSR. 1987;292(6):1502-5. Russian.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS, Kositskiĭ GI. [\[Role of ACTH fragments in regulating electrogenesis and electrotonic synaptic interaction of pond snail neurons\]](#). Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova. 1986 Jul;72(7):908-20. Russian.
- Kiseleva IS, **Kamkin AG**, Kositskiĭ GI. [\[Electrotonic connection between 2 adjacent cells in the frog atrium\]](#). Dokl Akad Nauk SSSR. 1986;291(3):735-7. Russian.
- Kamkin AG**, Kiseleva IS, Kushnareva GV, Kositskiĭ GI, Ponomareva-Stepnaia MA. [\[Regulation of electrotonic synaptic conduction between snail neurons by fragments of the active site of the ACTH molecule\]](#). Dokl Akad Nauk SSSR. 1986;287(5):1266-9.

БЛАГОДАРНОСТЬ ОСНОВНЫМ СОАВТОРАМ

Профессор Киселева И.С. (Россия)

Профессор Ярыгин В.Н. (Россия)

Профессор Пылаев А.С. (Россия)

Профессор Сутягин П.В. (Россия)

Профессор Ковальчук Л.В. (Россия)

Доцент Лозинский И.Т. (Россия)

Доцент Казанский В.Е. (Россия)

Доцент Макаренко Е.Ю. (Россия)

Доцент Лысенко Н.Н. (Россия)

Доцент Абрамочкин Д.В. (Россия)

Ст.н.сотр. Митрохин В.М. (Россия)

Аспирант Калугин Л.Ю. (Россия)

Professor Kohl P (UK)

Professor Noble D. (UK)

Professor Lab M.J. (UK)

Professor Persson P.B. (Germany)

Professor Scholz H. (Germany)

Professor Günther J. (Germany)

Professor Theres H. (Germany)

Professor Wagner K.D. (Germany)

Professor Isenberg G. (Germany)

Professor Kirischuk S. (Germany)

Professor Gallitelli M.F. (Germany)

Dr. Tian Bo (KHP)