

Автономная некоммерческая общеобразовательная организация «Московская областная школа-интернат естественно-математической направленности» имени П.Л. Капицы (АНОО«Физтех-лицей» им. П.Л. Капицы)

Научно-практическая конференция

«Старт в инновации»

Исследование возникновения аритмий на непроводимых фиброзных участках ткани *in vitro*

Автор:

Кантария Кристина, 8 В класс

Научный руководитель:

Щербина С.А.,

инженер

лаборатории биофизики возбудимых систем МФТИ

Оглавление

1. Введение	3
2. Литературный обзор.....	4
2.1. Сердечная недостаточность и ишемия	Ошибка! Закладка не определена.
2.2. Критерии отбора донорского сердца	Ошибка! Закладка не определена.
2.3. Постоперационные риски и длительное сохранение	Ошибка! Закладка не определена.
2.4. Оптическое картирование и стимулирующие электроды.....	7
3. Практическая часть	8
3.1. Методы и материалы исследования.....	8
3.2. Основные результаты работы.....	13
3.2.1. Моделирование непроводящих участков непроводящими структурами	13
3.2.2. Моделирование непроводящих участков с помощью механических повреждений	14
4. Заключение и выводы	15
5. Список литературы.....	16

1. Введение

Известно, что причиной около 30% всех смертей в мире являются сердечно-сосудистые заболевания. Одним из таких заболеваний является ишемическая болезнь сердца (ИБС). Острое течение ИБС – инфаркт миокарда, при котором возникает непроводящий фиброзный рубец. На таких участках может возникать аритмия из-за нарушений проводимости поврежденного участка и возникшей разницы в проведении между участками. Фатальность таких нарушений работы сердца объясняется тем, что сбой сердечного ритма не может быть восстановлен без срочного внешнего вмешательства (дефибрилляция). Так как сердечная ткань взрослого человека не способна к регенерации, инфарктные рубцы (или другие повреждения ткани) являются необратимыми, и не могут быть удалены хирургическим или любым другим вмешательством: следовательно, наличие рубца означает постоянную угрозу возникновения смертельных аритмий.

Наиболее опасной формой желудочковой аритмии является желудочковая фибрилляция - в этом случае работа сердечной мышцы является рассогласованной, что практически полностью останавливает прокачку крови в сердечно-сосудистой системе человека. За согласованную работу клеток, составляющих сердечную ткань (кардиомиоцитов) отвечает так называемая волна возбуждения: каждый кардиомиоцит способен к активному ответу на внешний электрический стимул, меняя разность потенциалов на обкладках мембраны, а также передать этот импульс к соседним клеткам. Локальное возбуждение кардиомиоцитов в сердце обеспечивается так называемыми пейсмейкерными клетками (или же кардиостимулятором), а импульс продолжает распространяться последовательно по всем кардиомиоцитам, пока не достигнет края сердечной ткани. После возбуждения каждый кардиомиоцит восстанавливает исходное значение разности потенциала на обкладках мембраны (потенциал покоя, около -80mV). Разность потенциала на мембране возбужденной клетки достигает пикового значения около 20mV , что является сигналом для запуска внутриклеточных процессов, отвечающих за механическое сокращение клеток. Когда разность потенциалов достигает определенного значения (ближе к 0mV), в мембране клетки временно активируются

потенциал-зависимые калиевые каналы: это белковые каналы, пронизывающие мембрану клетки, при открытии которых ионы кальция, находящиеся в окружающем растворе, могут попасть внутрь клетки. Когда в клетку попало достаточное количество ионов кальция, запускается цепочка процессов, приводящих к активации белков сократительного аппарата клетки – к локальному мышечному сокращению. Таким образом, при работе сердечной ткани происходит два процесса: первое, это проведение волны возбуждения по всем сердечным клеткам, второе – следующее за ним механическое сокращение сердечной мышцы. Ритмическая работа сердца обеспечивается активностью упомянутых пейсмейкерных клеток: в среднем, новое возбуждение сердечной ткани происходит каждую секунду в тех случаях, когда человек находится в спокойном состоянии (60 уд/мин), и до 3 раз в секунду (180 уд/мин) при повышении нагрузки (например, при физической активности). Если сердечная ткань имеет участок, который не способен передать возбуждение (не состоит из таких же кардиомиоцитов), то возможна ситуация, когда волна возбуждения начнёт непрекращающееся движение вокруг этого участка – такое явление называется реентри (от англ. re-entry, повторный проход).

Таким образом, непроводимые участки являются неустранимой причиной повышенного риска возникновения желудочковой фибрилляции, которая возникает внезапно, и может стать причиной быстрой смерти человека. Непроводимые участки возникают в следствие определенных патологий или при отмирании части кардиомиоцитов. Умершие кардиомиоциты замещаются фибробластами, которые не проводят возбуждение, как кардиомиоциты. На таких участках может возникать аритмия из-за нарушений проводимости поврежденного участка и возникшей разницы в проведении между участками. Возникающая на поврежденном участке аритмия, в дальнейшем, приводит к нарушению насосной функции сердца, прогрессированию ишемии и, как следствие, смерти в течении нескольких минут. Эффекты, возникающие около таких непроводимых участков, я и решила изучать в представленной работе.

Целью работы - изучение эффектов проведения около смоделированных *in vitro* непроводимых фиброзных участков.

Задачи:

- Получение моделей непроводимых (фиброзных) участков на культуре кардиомиоцитов
- Выявление условий возникновения спиральных волн около непроводящих участков разной природы

2. Литературный обзор

2.1. Сердце и волна возбуждения

Основной работы сердца является его ритмичное сокращение. Его обеспечивает волна возбуждения – электрохимическая волна, которая берет свое начало в

сिनотриальном узле сердца и обеспечивает согласованное сокращение предсердий и желудочков. При нарушении распространения волны возбуждения по сердцу предсердия и желудочки начинают сокращаться несогласованно, что приводит к возникновению аритмии. Подобные изменения ритма можно увидеть на электрокардиограмме (ЭКГ), которая позволяет оценить работу человеческого сердца в норме (рис. 1) и патологии.

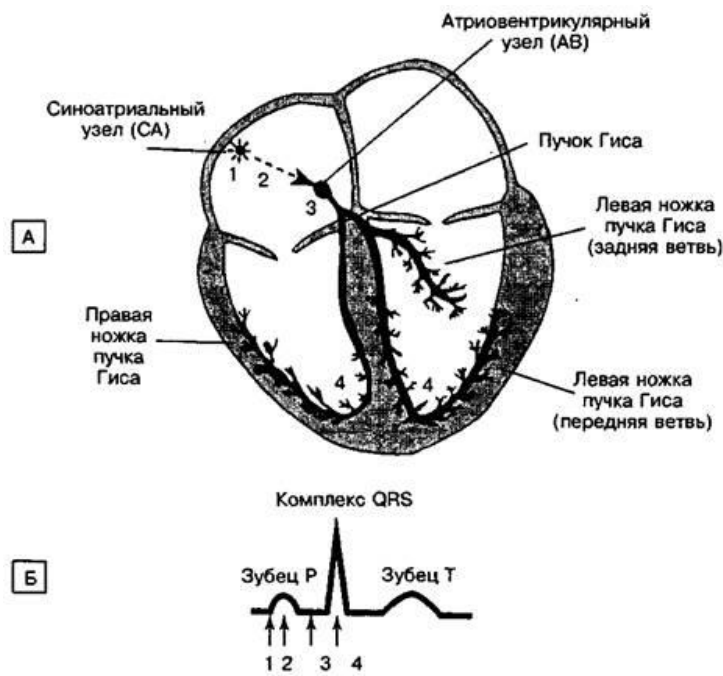


Рисунок 1. Волна возбуждения в сердце. А. Электрический импульс начинается в синоатриальном узле (1), затем он пересекает предсердие (2). После задержки в атриоventрикулярном узле (3) импульс проходит через пучок Гиса и далее в правую и левую ножки пучка Гиса (4). Последние разделяются на волокна Пуркинье, которые стимулируют сокращение желудочков. Б. Соответствующие проведению возбуждения записи сигнала ЭКГ: (1) синоатриальный узел разряжается (заряд слишком мал, чтобы образовать зубец на ЭКГ); (2) зубец P вызван деполяризацией предсердия; (3) задержка в атриоventрикулярном узле; (4) деполяризация желудочков приводит к образованию комплекса QRS. Зубец T отражает реполяризацию желудочков.

Одной из особенностей работы сердца является автоматия – способность самостоятельно генерировать свое возбуждение, приводящее к сокращению. Более того, такая активность является ритмичной, регулярная активность пейсмейкерных клеток позволяют сердцу сокращаться даже в случае извлечения его из организма. Устойчивость такой автоматии подкрепляется и тем, что пейсмейкерная система является многоуровневой.

Кардиомиоциты - это особый вид мышечных клеток, которые могут выполнять не только сократительную функцию, но и передавать сигнал друг другу подобно нервным клеткам. Внутри клетки и снаружи разный ионный состав, при этом вне клетки - большая концентрация ионов натрия и ионов кальция и маленькая концентрация калия, а внутри клетки - наоборот. Из-за того что мембрана обладает сравнительно высокой проницаемостью для калия и его концентрация по обе стороны мембраны различная, в состоянии покоя мембрана кардиомиоцита имеет ненулевой потенциал: около -80 мВ [1].

При электрической стимуляции кардиомиоцита, происходит деполяризация клеточной мембраны - потенциал на ней становится менее негативным. Ионные каналы, проводимость которых зависит от мембранного потенциала, открываются. Это приводит к дальнейшей деполяризации, сокращению клетки и передаче волны возбуждения (потенциала действия - ПД) соседним клеткам. Волну возбуждения на клеточном уровне можно характеризовать как такую передачу ПД.

2.2. Аритмии и реентри

В патологических условиях волны возбуждения могут быть заблокированы в ограниченных областях, вращаться вокруг этих зон и повторно вводить сайт исходного возбуждения в повторяющиеся циклы. Это явление носит название реентри или «спиральная волна». Первые наблюдения этого явления в возбудимых средах были еще в начале прошлого века (Mayer 1908 на *Sycho medusa cassiopeia* и Mines 1913 на предсердной и желудочковой сердечных тканях различных животных). С тех пор, лежащие в основе реентри механизмы были дополнены и уточнены. Традиционно, реентри подразделялось на два вида: анатомическое, если существует четкая связь между путем возникновения реентри и структурой ткани, в которой оно появляется, и функциональное, когда эта связь не может быть определена явно и реентри возникает в случайной области ткани. В то же время, оба перечисленных вида реентри могут сосуществовать, и, кроме того, иметь общие биофизические принципы, лежащие в основе их возникновения.

В данной работе будут рассмотрены прежде всего анатомические препятствия, таких как: постинфарктные рубцы. Такие препятствия характеризуются отсутствием проводимости, так как часто формируются фибробластами. Замещение мертвых кардиомиоцитов фибробластами называется фиброзом.

2.3. Модели исследования аритмий

Инфаркты и локальные ишемии оставляют свой след на сердечной ткани в виде мертвых участков клеток, неспособных проводить сигнал синусового ритма, что часто приводит к тахикардиям и к смерти. Моделирование таких ситуаций *in vitro*, а также изучение сердечной мышцы на различных уровнях организации, постепенно дает представление о возможных медицинских решениях данных проблем [3]. Существует несколько основных моделей для изучения сердечной мышцы: модель одиночной клетки, модель конфлюэнтного монослоя, препараты (тонкие срезы) сердца и препарат Лангендорфа.

Важным методом в развитии экспериментальных систем *in vitro* было использование конфлюэнтного монослоя клеток кардиомиоцитов. Эта система уменьшила структурные сложности, которыми обладает сердце живого организма при 3D распространении волн. Система конфлюэнтного монослоя дает преимущество, когда в качестве цели исследования стоит попытка понять фундаментальные свойства распространения волн возбуждения в сердечной ткани. Метод клеточной культуры,

который берется за основу при создании модели конфлюэнтного монослоя, является сложным процессом, при помощи которого клетки выращивают в контролируемых условиях, как правило, за пределами их естественной среды обитания, в инкубаторах с определенным содержанием CO₂ и с фиксированной температурой. Метод выращивания монослоев на плоском пластике известен как двумерная (2D) клеточная культура, который был разработан еще в 1885 году Вильгельмом Роу. В научной литературе различают два вида клеточных культур: первичную (выделенную непосредственно из органа живого организма) и вторичную или, так называемые, выведенные клеточные линии (зачастую получаемые из опухолей и способные непрерывно пролиферировать) [3]. В данной работе будут использованы культуры клеток неонатальных кардиомиоцитов крысы, как первичная культура, а также линии индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека.

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки уникальны своей способностью к самообновлению и дифференцировки во все типы тканей. Само состояние плюрипотентности, как и в эмбриональных стволовых клетках, поддерживается сложной системой специфичных генных сетей и сигнальных молекул. Именно паттерн экспрессии и эпигенетика начинает меняться при спонтанной или вынужденной дифференцировке ИПСК, пока не установятся соответствующие транскриптом и эпигеном нового конкретного типа клеток. Кардиомиоциты получают по пути из мезодермального зародышевого листка [6].

2.4. Оптическое картирование и стимулирующие электроды

Оптическое картирование – это высокочувствительный метод визуализации процессов в ткани с помощью различных флуоресцентных красителей или естественной флуоресценции. С помощью данного метода можно с высоким временным и пространственным разрешением увидеть распространение волны возбуждения в сердце. Для таких целей используются стимулирующие электроды и потенциал или кальций зависимые красители. В данной работе был использован кальций зависимый флуоресцентный краситель, регистрирующий выброс кальция в клетке (fluo-4).

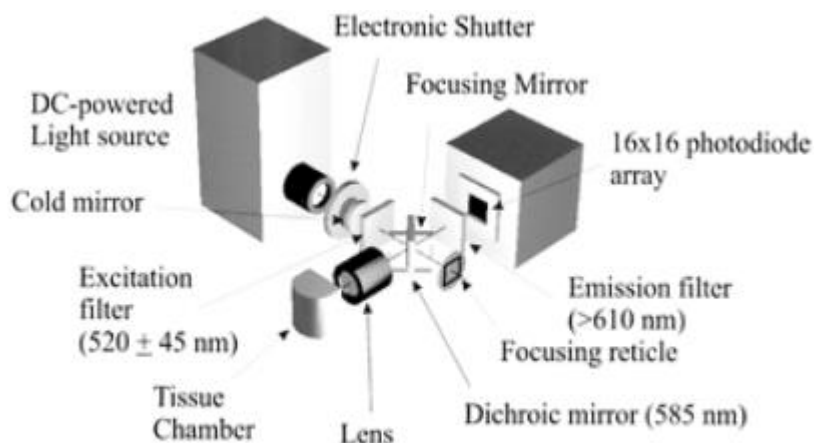


Рисунок 3. - Схема установки по оптическому картированию. Иллюстрация взята из статьи: Rohr S., Scholly D. M., Kleber A. G. «Patterned growth of neonatal rat heart cells in culture. Morphological and electrophysiological characterization» [4]

3. Практическая часть

3.1. Методы и материалы исследования

В данной работе использовались следующие методы:

- Ведение клеточных культур: неонатальных кардиомиоцитов крысы
- Ведение клеточных культур: дифференцированных из ИПСк кардиомиоцитов человека
- Оптическое картирование с системой стимулирующих и регистрирующих электродов
- Работа с полимерными материалами и микроманипулятором для моделирования непроводящих участков

Для реализации цели работы был составлен следующий план эксперимента:

- Моделирование контрольных экспериментов без непроводимых участков. Получение культуры неонатальных кардиомиоцитов крысы и ведение монослоев дифференцированных человеческих кардиомиоцитов
- Моделирование непроводимых участков с помощью полимера
- Моделирование непроводимых участков с помощью механических повреждений культуры ткани

В данной работе использовались сердца лабораторных новорожденных крыс. Все операции проводились с помощью стерилизованных хирургических инструментов. Существует множество протоколов по выделению первичной культуры неонатальных кардиомиоцитов, которые отличаются между собой используемыми реагентами и

техники выделения. В данной работе использовался протокол, в основе которого лежит протокол выделения первичной культуры крысиных неонатальных кардиомиоциты компании Worthington, модифицированный под специфику работы в лаборатории для большей производительности.

Выделение проходило в два дня, на третий день менялась питательная среда клеток.

Первый день:

Для получения неонатальных кардиомиоцитов используются крысята возраста от 1 до 4 дней, реагенты рассчитаны для работы с 10 крысятами за одно выделение.

Все процессы происходят в стерильном ламинаре, поверхности и содержимое которого обрабатываются ультрафиолетом. Все инструменты (ножницы, пипетки) автоклавируются, используемые среды и реагенты для выделения хранятся в стерильном состоянии, перед занесением в ламинар упаковки с инструментами, перчатки, емкости со средами и т.д. обрабатываются 70% этанолом.

Первый день следует начинать после 18 часов вечера ввиду долгого процесса трипсинизации (16 часов), который целесообразно проводить ночью. Первый день выделения клеток происходит на льду.

1. В ламинар помещается емкость со льдом для поддержания низкой температуры всех реагентов.
2. Заранее подготавливаются и помещаются на лед две пробирки емкостью 50 мл, в них заливается 7-10 мл и 30 мл охлажденной среды HBSS соответственно, две чашки Петри диаметром 60 мм, две пастеровские или серологические пипетки на 5 мл, распакованный набор инструментов для выделения, ватные тампоны смоченные в 70% растворе спирта.
3. Крысенка берется за спину, натягивая кожу на шее и животе, грудную клетку и шею обрабатывают спиртовым тампоном, заносят в ламинар, после чего производится декапитация хирургическими ножницами.
4. Другими ножницами вскрывается и раздвигается грудная клетка, хирургическим пинцетом вынимается сердце и помещается в 7 мл HBSS.
5. Данная процедура проводится по очереди со всеми крысятами.
6. Из пробирки с сердцами аккуратно сливается среда, чтобы сердца оказались в минимальном количестве жидкости, заливаются 10 мл HBSS.
7. В чашку Петри заливается 2 мл HBSS, и каждое сердце посредством пастеровской пипетки с минимальным количеством жидкости переносится в чистую среду HBSS для очищения от крови.
8. В наклоненной во льду чашке Петри с чистой средой HBSS у каждого сердца по отдельности убирают остатки артерий и вен, часть предсердия (примерно 1/3 от всего сердца), вентрикулярная часть вскрывается для удаления остатков крови из желудочков.

9. Вентрикулярные части сердец переносятся в новую чашку Петри с 2 мл чистой среды HBSS.

10. На следующем этапе сердца подвергаются измельчению глазными хирургическими ножницами до фракции размером 1-2 мм, объем среды HBSS доводится до 9 мл.

11. К измельченным сердцам добавляется 1 мл приготовленного раствора трипсина (см. пункт 3.1.3)

12. Чашка Петри с кусочками сердечной ткани на 16 часов убирается в холодильник на 4 °C для трипсинизации.

Второй день:

Перед началом второго дня за час до работы необходимо достать из холодильника на 4 °C среды L15 и DMEM 10% и поставить на водяную баню 37 °C. Раствор коллагеназы (пункт 3.1.3) достается с -20 °C для разморозки. Второй день необходимо начинать после 16 часов трипсинизации ткани.

1. Трипсинизированные кусочки сердечной ткани аккуратно собираются с помощью пипетки Пастера и переносятся в пробирку с 10 мл L15, раствор тщательно тритурируется для ингибирования трипсина.

2. Среда аккуратно сливается, чтобы клетки оставались с минимальным количеством жидкости, далее раствор доводится до содержания 5 мл L15, 2 мл кусочков сердец и 0,5 мл 0,1% раствора коллагеназы.

3. Пробирку помещают в водяную баню-шейкер на 37 °C от 45 минут до 1 часа, на 100 оборотов в минуту для коллагенизации. Каждые 10 минут, не открывая, необходимо легко взбалтывать пробирку для предотвращения сбивания клеток в комок.

4. Пробирка снова помещается в ламинар, 10 раз производится процесс трипурирования стеклянной серологической пипеткой на 5 мл со скоростью 1 мл/с.

5. Далее жидкость с клетками фильтруется через CellStrainer на 70 мкм в новую пробирку. В пробирку добавляется 5 мл L15, после чего процедура проводится еще раз.

6. Пробирка с клеточной суспензией помещается с идентичным противовесом в центрифугу на 40g на 4 минуты.

7. Чтобы отделить пригодные к дальнейшей работе клетки, зрительно определяются осевшие на дне пробирки клетки, отцентрифугированная надосадочная жидкость медленно вбирается и сливается. Путем добавления L15 суспензия доводится до объема в 1 мл и тритурируется.

8. По каплям, для предотвращения кальциевого шока у клеток, в пробирку добавляется 10 мл DMEM 10. (среда Лейбовица не содержит кальция, в отличие от среды DMEM)

9. Поскольку в суспензии содержится некоторое количество фибробластов (а часто это 50% или больше), для повышения концентрации кардиомиоцитов производится преплейтинг. Клеточная суспензия помещается в культуральный флакон («матрас») с площадью дна в 75 см² и ставится на час в CO₂- инкубатор. Фибробласты, имея большое сродство к адгезии на поверхности флакона и не нуждаясь в специальной белковой подложке, как это требуется кардиомиоцитам, за час в большинстве оседают и прикрепляются ко дну, тогда как кардиомиоциты остаются в суспензии.

10. Суспензия с кардиомиоцитами сливается в новую пробирку, в «матрас» к фибробластам добавляется 10 мл DMEM 10, фибробласты убираются в CO₂- инкубатор.

11. В суспензии с кардиомиоцитами проходит подсчет живых клеток. Для этого 10 мкл суспензии смешиваются с 10 мкл краски Trypan Blue, из смеси забирается 1 мкл и помещается в расчерченную пластинку для подсчета клеток.

12. С помощью ручного счетчика подсчитывается количество клеток в 1 мкл суспензии и умножается на 1000 для получения концентрации клеток в 1 мл.

13. Клетки готовы к посадке на образцы. Посадка должна проходить сразу после выделения клеток во избежание их осаждения на стенки пробирки и уменьшения их концентрации в суспензии. Посадка производится по соответствующему протоколу.

Третий день.

Спустя 24 часа после посадки клеток среда меняется на менее насыщенную сывороткой.

1. Предварительно, не менее чем за час до начала работы, среда DMEM 5 помещается в водяную баню на 37°C

2. Образцы переносятся из CO₂- инкубатора в ламинар. В каждом образце по очереди полностью сливается прежняя среда.

3. Сразу же среда заменяется на аналогичное количество DMEM 5, во избежание повреждения клеток.

Культивирование дифференцированных из ИПСК человеческих кардиомиоцитов проводилось в строжайшей стерильности. Каждые 3 дня проводилась смена среды на RPMI/B27, которая содержит в добавке инсулин. Протокол работы с такими клетками назван GiWi, согласно соответствующей статье [6].

Приготовление фибронектина.

Фибронектин – это белок, который сильно повышает адгезию выделенных кардиомиоцитов из суспензии к образцу.

Приготовление раствора фибронектина.

1. 1 мг порошка человеческого фибронектина смешивается со 100 мкл дистиллированной воды

2. Данный раствор аликвотируется по 100 мкл
3. Ставится для хранения в холодильник на -20

Для покрытия образцов:

1. Аликвота размораживается
2. В пробирке на 15 мл смешивается 11 мл PBS и аликвота, пипетируется для равномерной пространственной концентрации белка в растворе
3. Раствором покрывается предварительно стерилизованное стекло и ставится в инкубатор на 37°C. На данные стекла будут посажены выделенные неонатальные кардиомиоциты.

Моделирование непроводимых структур проводилось на основе полидиметилсилоксана или PDMS. Приготовление PDMS осуществлялось следующим способом:

- Добавить 1 грамм фермента на 10 грамм базы PDMS
- Тщательно размешать фермент в течение 5 минут до его равномерного распределения в базе
- Поставить в печь на 70 °C примерно на полтора часа до полной полимеризации субстанции

Картирование проводилось в особой жидкости, в растворе солей Тирода, который содержит: NaCl 0,8%, KCl 0,02%, CaCl₂ 0,02%, NaHCO₃ 0,01%, MgCl₂ 0,01%, NaH₂PO₄ 0,005%, Глюкоза 0,1%. В данной работе использовалась готовая покупная смесь. Оптическое картирование и используемый флуоресцентный краситель описан выше. С помощью генератора импульсов и системы электродов культуре подавался электрический сигнал с определенной частотой. Производилась регистрация критической частоты, то есть частоты, на которой волна либо не улавливалась культурой ткани, либо возникали спиральные волны, реентри.

В данной работе проводилась обработка видеозаписей с оптического картирования. Каждый отснятый при оптическом картировании файл представляет собой последовательность изображений, снятых с определенной частотой, фактически образующих видеоряд. Каждый кадр представлен в градациях выбранной гаммы с заданным заранее разрешением. Для определения скорости волны в среде по получаемой серии изображений используется пространственно-временная развертка: на всех изображениях серии снимков выбирается фиксированная линия (например, на рисунке 29a вертикальная линия Y), строится зависимость значения яркости для пикселя, принадлежащего данной линии, от номера кадра. Более ярким пикселям соответствует более высокий уровень внутриклеточного кальция, в общем случае темные клетки – невозбужденные, а светлые – возбужденные (повышение внутриклеточного кальция,

связывающегося с красителем). Фактически, получается новая фотография, называемая разверткой, по вертикальной оси откладывается интенсивность пикселей на выбранной линии, а со сдвигом по горизонтальной оси показывается тот же участок в последующие моменты времени. Размерность горизонтальной оси, таким образом, это количество кадров.

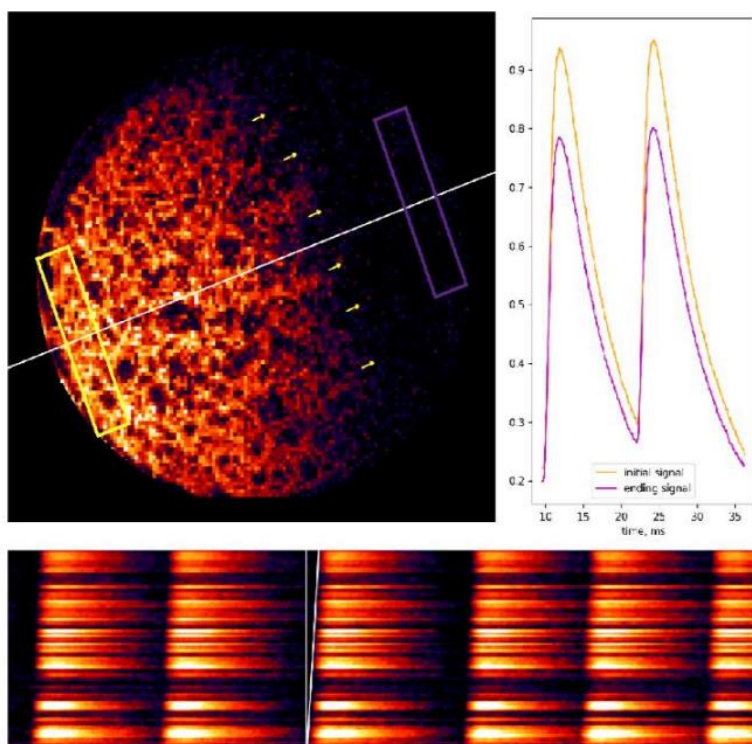


Рисунок 4. Построение пространственно-временной развёртки проведения волны возбуждения по монослою кардиомиоцитов.

3.2. Основные результаты работы

3.2.1. Моделирование непроводящих участков непроводящими структурами

Несмачиваемый полимер подходит для создания непроводимых искусственных участков. Было смоделировано несколько типов таких препятствий: круги разного диаметра (рисунок 5) и уголки (рисунок 6). Для кругов разного диаметра были зарегистрированы возникающие однонаправленные блоки около данного препятствия, что и является простейшей моделью реентри. На уголках волна реентри появлялась при остром угле. На таком препятствии волна проходила до стимулирующей электродом частоты 2,5 Гц включительно.

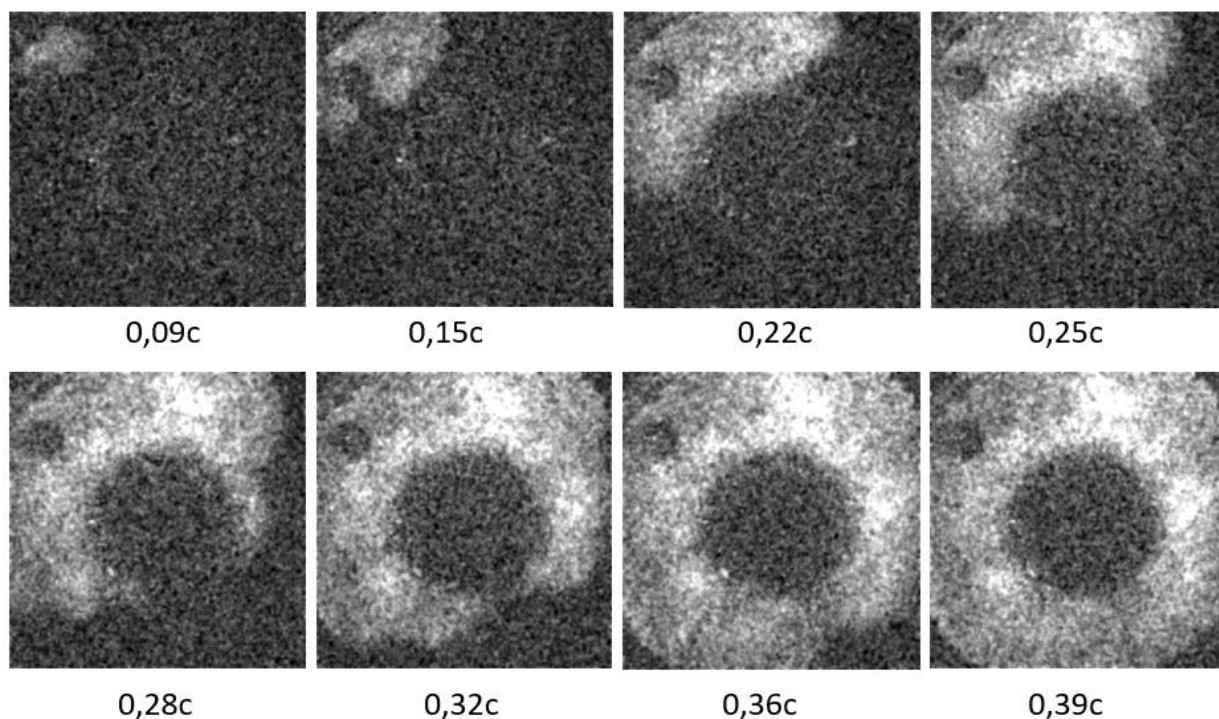


Рисунок 5. Моделирование препятствий различной формы с помощью полимера PDMS.

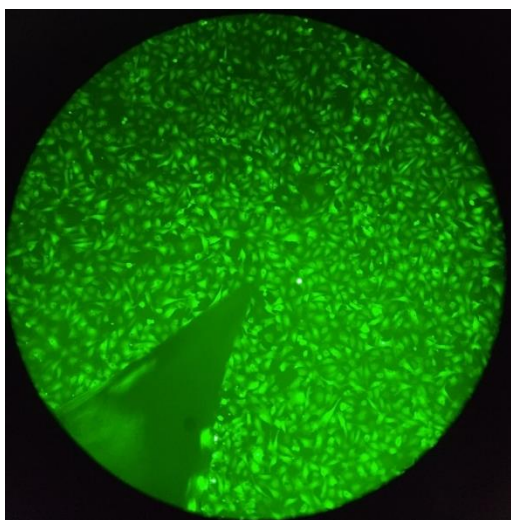


Рисунок 6. Моделирование монослоя с углом из полимера.

3.2.2. Моделирование непроводящих участков с помощью механических повреждений

Моделирование непроводящих участков также производилось с помощью микроманипулятора. В таких случаях реентри появлялось на культуре ткани человеческих кардиомиоцитов при стимулирующей частоте порядка 2 Гц. В таких ситуациях происходил отрыв от острого препятствия, но иногда этого не происходило и культура просто не улавливала задаваемый ритм (рисунок 7). Вероятность возникновения реентри составляла примерно 1/7.

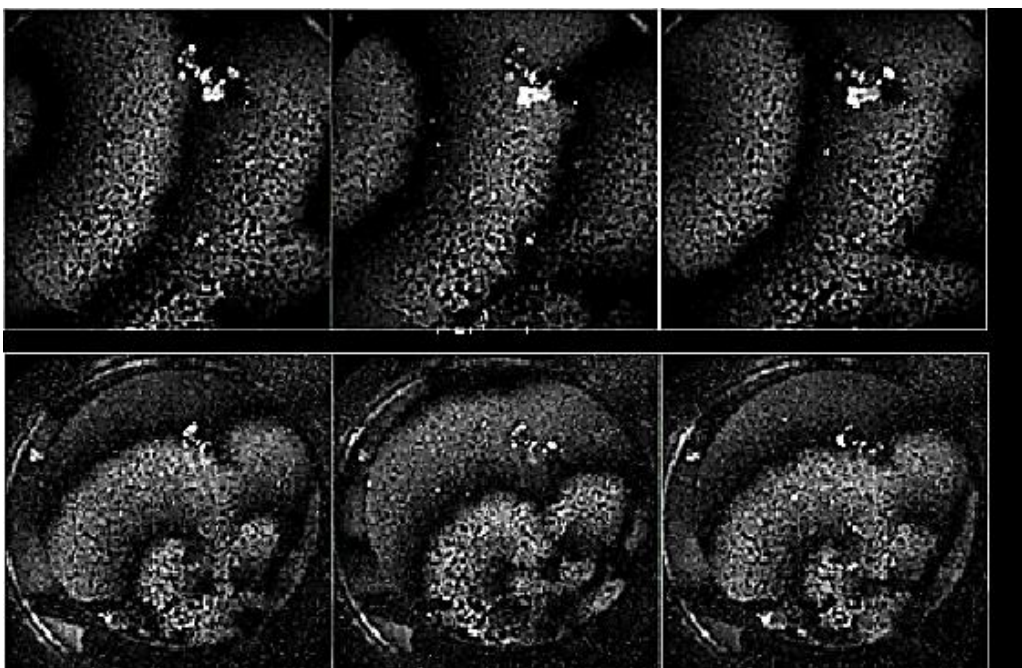


Рисунок 7. Правильное проведение волны возбуждения (сверху). Образование спиральной волны на препятствии (снизу).

Часто отрыв реентри не происходил из-за толщины препятствия. Чтобы отрыв произошел, препятствие должно было быть шириной порядка 100 мкм.

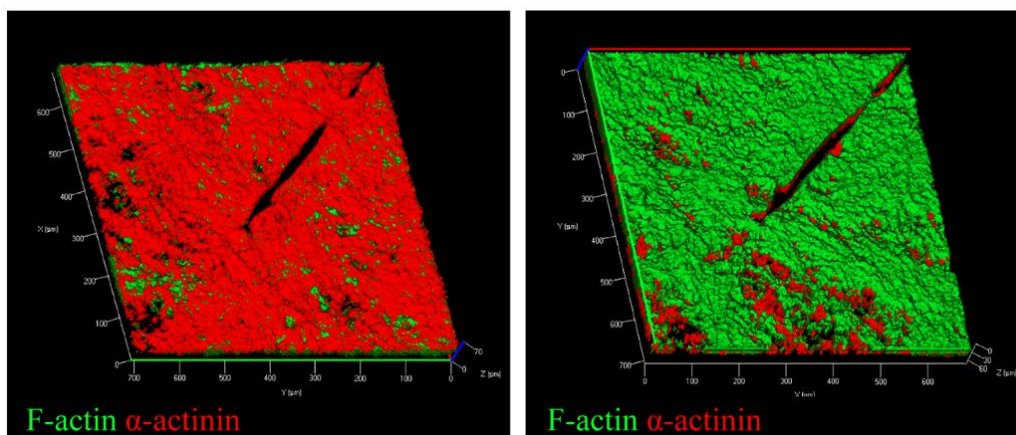


Рисунок 8. Искусственное препятствие на культуре человеческих дифференцированных кардиомиоцитов, где α -актинин - специфичный маркером кардиомиоцитов.

4. Заключение и выводы

В данной работе:

- Было проведено исследование возникновения спиральных волн реентри на модели непроводимых фиброзных участков сердечной ткани *in vitro*.
- Были смоделированы монослои кардиомиоцитов с непроводящими участками.

Данная работа представляет собой исследование условий возникновения аритмий на фиброзных участках. Моделирование непроводящих участков на сердечной ткани, представленное в работе, позволяет не только изучать характер непроводимых зон и постинфарктных рубцов, но и проводить тестирование для подбора индивидуального лечения пациентов.

5. Список литературы

1. Mehra R. Global public health problem of sudden cardiac death. *J Electrocardiol.* 2007;40: S118–22.
2. Kléber AG, Rudy Y. Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiol Rev.* 2004;84: 431–488.
3. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. «Molecular biology of the cell» // 6th edition – P. 25-1392
4. Rohr S., Scholly D. M., Kleber A. G. «Patterned growth of neonatal rat heart cells in culture. Morphological and electrophysiological characterization»
5. K. Agladze, M. W. Kay, V. Krinsky, and N. Sarvazvan «Interaction between spiral and paced waves in cardiac tissue»// *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology.* – July 2007. – vol. 293. – pp. H503-13.
6. Lian X. et al. Directed cardiomyocyte differentiation from human pluripotent stem cells by modulating Wnt/ β -catenin signaling under fully defined conditions // *Nature protocols.* – 2013. – Т. 8. – №. 1. – С. 162.

