

## РИТМОИНОТРОПНЫЕ ОТНОШЕНИЯ В ПАПИЛЛЯРНОЙ МЫШЦЕ СЕРДЦА СУСЛИКА КАК ОТРАЖЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЖИВОТНЫХ В ТЕЧЕНИЕ ГОДОВОГО ЦИКЛА

© 2019 г. О.В. Накипова, А.С. Аверин, Л.С. Косарский, Д.А. Игнатъев

*Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН»,*

*142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3*

Поступила в редакцию 28.06.2019 г.

После доработки 28.06.2019 г.

Принята к публикации 08.07.2019 г.

Проведено исследование особенностей зависимости силы сокращения (изометрический режим, 30°C) от частоты стимуляции (0,1–4,0 Гц) в папиллярных мышцах правого желудочка сердца суслика *Spermophilus undulatus* в группах животных летнего (июнь–июль) и осеннего (октябрь–ноябрь) периодов, а также периода гибернации, включающих животных, активных между баутами спячки; входящих в спячку ( $T_{\text{сердца}} \sim 30^\circ\text{C}$ ); спящих и пробуждающихся ( $T_{\text{сердца}} \sim 30^\circ\text{C}$ ). Показано, что вне зависимости от функционального состояния животных, характер зависимости силы сокращения от частоты стимуляции (ритмоинотропия) в папиллярных мышцах сердца суслика в основных проявлениях относится к отрицательному типу: сила сокращения на высоких частотах (от 1,0 до 4,0 Гц) всегда меньше ее величины на низких частотах (в области 0,1 Гц). При этом в каждой группе животных можно выделить два типа ритмоинотропии: с относительно слабой (тип 1) и с выраженной (тип 2) частотной зависимостью. В обоих типах ритмоинотропии может присутствовать слабая положительная компонента (обусловленная ростом силы сокращения): у типа 1 – в области частот стимуляции от 0,2 до 0,5 Гц (она появляется только у животных периода гибернации – активных между баутами и спящих или входящих в состояние спячки, т.е. стремящихся к снижению активности), а у типа 2 – в области высоких частот стимуляции (свыше 1,0 Гц), с наибольшей выраженностью у животных периодов возобновления функциональной активности – пробуждающихся в сезон спячки и у весенних при окончательном пробуждении. Полученные данные указывают на то, что процесс формирования определенного типа ритмоинотропии в сердце зимоспящих сусликов предшествует изменениям функционального состояния животных в течение годового цикла.

*Ключевые слова:* сердце, папиллярные мышцы, сократимость, ритмоинотропные отношения, гибернирующие животные, суслик.

DOI: 10.1134/S0006302919050193

Частота сердцебиений является жизненно-важным модулятором функции сердца и относится к разновидности врожденных механизмов, впервые описанных Н.Р. Bowditch в 1871 г. [1], интерес к изучению которых до сих пор не потерял свою актуальность. Зависимость силы сокращения от частоты стимуляции (ритмоинотропные отношения) представляет собой важный механизм в сердце животных и человека, обеспечивающий его способность увеличивать силу сокращения и сердечный выброс [2–9]. Известно, что характер ритмоинотропии зависит от вида и возраста животных, типа миокардиальной ткани,

трансформируется при изменениях температуры и в условиях патологий [8,10–14]. В сердце большинства видов млекопитающих в области частот стимуляции от 0,5 до 4,0 Гц в норме зависимость «частота – сила» (ЧС) положительная: увеличение частоты стимуляции приводит к значительному увеличению силы сокращений. При патологии зависимость ЧС приобретает на начальных стадиях двухфазную форму: слабо положительную в области низких частот стимуляции от 0,5 до 1,5 Гц, переходящую в отрицательную при более высоких частотах (до 4,0 Гц). По мере углубления процесса, в частности в условиях сердечной недостаточности, зависимость ЧС становится полностью отрицательной [8,9,13,14–16]. В сердце крыс

*Сокращения:* зависимость ЧС – зависимость «частота – сила».

и мышцей зависимость ЧС также имеет двухфазный характер, однако с принципиально иной частотной зависимостью: выраженной отрицательной в области низких частот стимуляции (до 1,0 Гц) и слабо положительной — в области высоких частот (1,0–4,0 Гц) [1,2,17,18]. При изучении механизмов патологических изменений в миокарде особый интерес исследователей привлекают животные, сердце которых имеет отличный от положительного характер ритмоинотропии, в силу чего крысы и мыши оказались наиболее часто используемыми в сравнительных исследованиях.

Интерес к изучению особенностей ритмоинотропии у зимоспящих животных был инициирован в середине 1980-х годов работами [19,20], авторы которых впервые исследовали характер зависимости ЧС в сердце бурундука (*Tamias sibiricus*) и обнаружили, что в диапазоне частоты стимуляции 0,5–2,0 Гц у активных животных летнего периода она имеет положительную направленность, а у спящих становится отрицательной, подобно патологическому миокарду. Этот факт впервые указал на возможность использования сердца зимоспящих животных в качестве модели для изучения механизмов, лежащих в основе формирования отрицательного типа ритмоинотропии. Попытки ряда исследователей повторить опыты на зимоспящих животных, предпринятые в 1980-х годах, дали крайне неоднозначные результаты [21,22]. Тем не менее к началу наших исследований сохранилось представление о том, что зависимость ЧС сердца зимоспящих животных в активном летом состоянии подобна обычным млекопитающим и имеет положительную направленность, а в состоянии зимнего оцепенения — становится отрицательной.

Уже первые исследования, проведенные нами на сусликах *Spermophilus undulatus*, внесли существенную коррекцию в эти первоначальные представления. Мы не обнаружили в чистом виде выраженного положительного типа ритмоинотропии в сердце суслика в диапазоне частот стимуляции от 0,1 до 1,0 Гц, оказавшейся отрицательной не только у спящих, но и у активных животных как летнего, так и зимнего периодов [23–25]. Тем не менее было обнаружено принципиальное иное различие в проявлении ритмоинотропии сердца сусликов сезона гибернации и летнего активного периода. Оно заключалось в том, что у сусликов, находившихся в состоянии глубокого оцепенения, как и у этих же животных, бодрствующих в короткий период пробуждения между баутами спячки, отмечалось появление положительной компоненты в области низких частот стимуляции (от 0,1 до 0,5 Гц) при сохранении ее отрицательной направленности в диапазоне до 1,0 Гц, что придавало зависимости ЧС двухфаз-

ный характер [25], чрезвычайно сходный с вышеописанным для условий патологии у высших млекопитающих и человека [4,14–16,26–29]. Это и определило наш интерес к более детальному изучению особенностей ритмоинотропных отношений в сердце типичного представителя гетеротермных млекопитающих — якутского суслика *S. undulatus*. Гибернационный период зимоспящих, длящийся с середины октября по март, не является непрерывным процессом, он состоит из многократно повторяющихся баутов спячки, разделяемых короткими периодами активности (от 12 до 14 ч). Баут спячки включает в себя процесс вхождения в спячку, собственно спячку и процесс пробуждения, сопровождающийся гигантским изменением температуры тела (от 1°C до 36°C) и частоты сердечных сокращений (от 3–5 ударов в минуту до 360–420 ударов в минуту) [30–39]. В настоящей работе были исследованы шесть групп сусликов — активные животные летнего, осеннего и зимнего периодов, спящие животные, а также животные, входящие в состояние спячки и пробуждающиеся в период гибернации. Вход в спячку был исследован на его начальном этапе, а пробуждение — на завершающем, но и в том и в другом случае при температуре сердца вблизи 30°C. Таким образом в настоящей работе, наряду с исследованиями стационарных состояний летней активности и зимнего оцепенения, было уделено особое внимание переходным состояниям вхождения животных в спячку и выхода из нее.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на папиллярных мышцах правого желудочка сердца якутских сусликов *Spermophilus undulatus* в шести группах животных: летнего (июнь–июль,  $n = 19$ ) и осеннего (октябрь–ноябрь,  $n = 16$ ) периодов, а также периода гибернации, включающего активные между баутами спячки (через 12 ч после пробуждения с частотой сердечных сокращений 150–200 уд/мин,  $T_{\text{тела}} \sim 36^\circ\text{C}$ ,  $n = 12$ ); входящих в спячку ( $T_{\text{сердца}} 30^\circ\text{C}$ ,  $n = 7$ ); спящих (на шестые сутки спячки с частотой сердечных сокращений 3–5 уд/мин,  $T_{\text{тела}} \sim 4\text{--}6^\circ\text{C}$ ,  $n = 8$ ); искусственно пробужденных ( $T_{\text{сердца}} \sim 30^\circ\text{C}$ ,  $n = 7$ ).

Активных животных предварительно наркотизировали эфиром. Выделенное сердце помещали в раствор Тироде (20°C) следующего состава (в мМ):  $\text{Na}^+$  — 150;  $\text{K}^+$  — 4,0;  $\text{Ca}^{2+}$  — 1,8;  $\text{Mg}^{2+}$  — 1,0;  $\text{HCO}_3^{2-}$  — 13,0;  $\text{HPO}_4^-$  — 1,8;  $\text{Cl}^-$  — 148,4, глюкоза — 11,0, pH 7,4. Раствор аэрировали газовой смесью  $\text{O}_2$  (96%) +  $\text{CO}_2$  (4%). Выделение папиллярных мышц, стимуляцию и измерение амплитуды со-

крашения в изометрическом режиме проводили по ранее описанной методике [23] при температуре перфузирующего раствора  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . Диаметр папиллярных мышц варьировал от 0,6 до 1,0 мм, а длина — от 1,0 до 3,0 мм. Для исследования их механической активности использовали стандартную автоматизированную установку на основе персонального компьютера и плат АЦП—ЦАП (L-Card 154 и L-Card E14-440). Механическую активность мышц регистрировали с помощью механотрона 6X-2M. В начале каждого опыта препарат стимулировали прямоугольными импульсами частотой 0,3 Гц в течение 1 ч.

Стационарную зависимость «частота—сила» в изометрическом режиме регистрировали в интервале частот стимуляции от 0,01 до 4,0 Гц. Силу сокращения  $F$  папиллярной мышцы определяли как отношение силы изометрического сокращения к поперечному сечению несокращающейся мышцы. При построении зависимости ЧС величину стационарной амплитуды для каждой из частот стимуляции в исследуемом диапазоне выражали в процентах по отношению к ее величине на частоте стимуляции 0,1 Гц, принимаемой за 100%.

Достоверность полученных результатов оценивали с помощью пакета программ Statistica 6.0 (по уровню значимости  $p < 0,05$ ). Данные представлены как средние значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Известно, что физиологический диапазон частот для сердца суслика варьирует в широких пределах — от 3–5 уд/мин (в спячке, при ректальной температуре  $1\text{--}4^\circ\text{C}$ ) до 360–420 уд/мин (в процессе пробуждения в сезон спячки) [30,31,40–43]. На рис. 1 в сравнительном плане представлены результаты исследований зависимости силы сокращения от частоты стимуляции (в диапазоне, охватывающем физиологический — от 0,1 до 4,0 Гц), проведенных на папиллярных мышцах сердца сусликов летнего (июнь — начало июля), осеннего (конец сентября — начало ноября) и зимнего (декабрь — март) периодов. Отметим, что вне зависимости от функционального состояния животных характер зависимости ЧС в папиллярной мышце сердца суслика в основных проявлениях относится к отрицательному типу — сила сокращения на высоких частотах (от 1,0 до 4,0 Гц) всегда меньше ее величины на низких частотах (в области 0,1 Гц). При этом в каждой функциональной группе животных можно выделить два типа зависимости ЧС, имеющих ряд отличительных особенностей. Как следует из графиков, представленных на рис. 1, разные типы ритмоинотро-

пии значительно отличаются по величине спада ( $\Delta F$ ) силы сокращения при увеличении частоты стимуляции от 0,1 до 0,5 Гц. Зависимость ЧС с менее выраженным наклоном кривой ( $\Delta F \leq 40\%$ ) обозначена нами как тип 1; зависимость с более выраженной крутизной спада ( $\Delta F \geq 50\%$ ) — как тип 2.

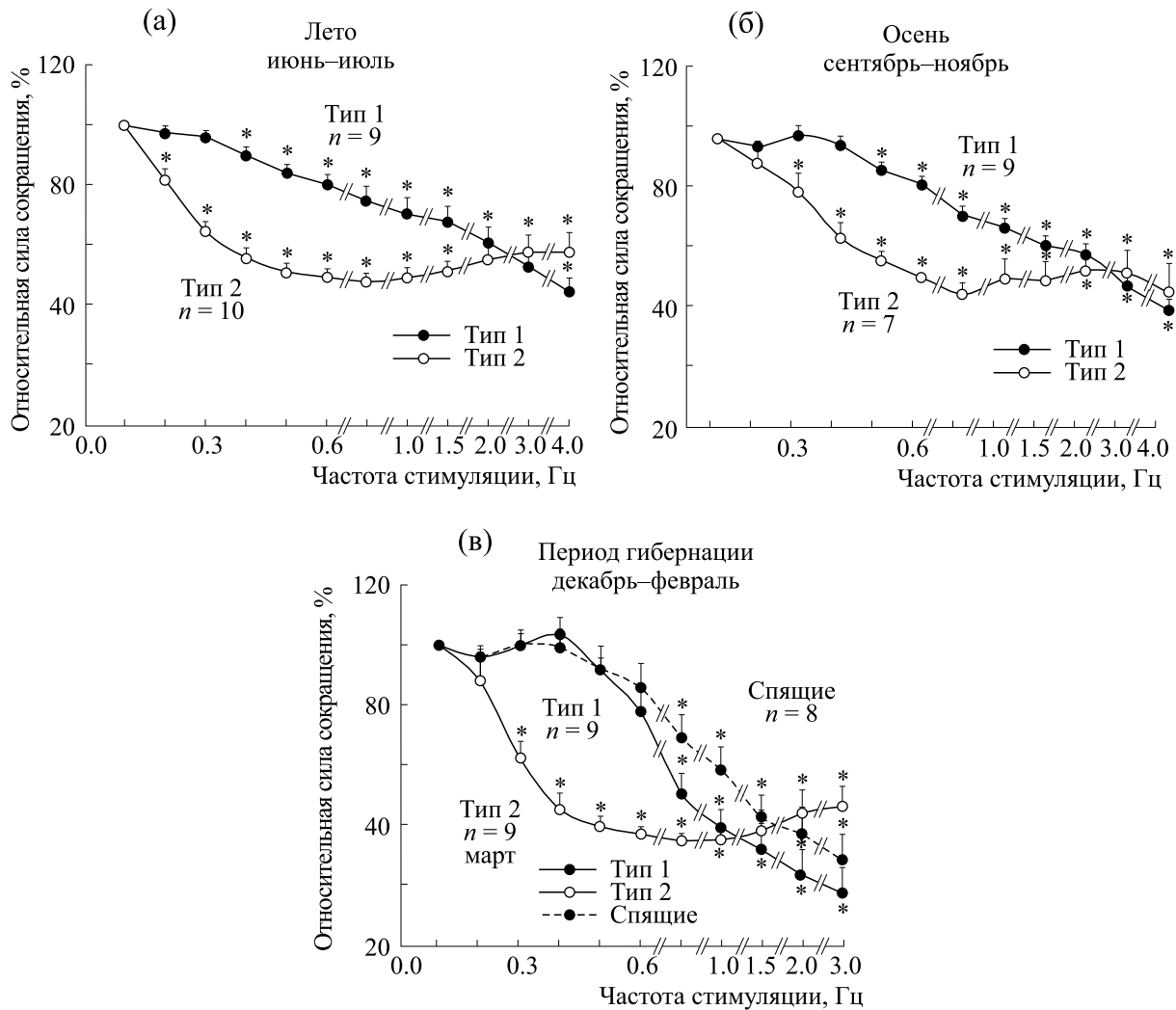
Другим отличительным признаком выделенных типов ритмоинотропии является наличие слабой положительной компоненты (обусловленной ростом силы сокращения) в узкой области частот стимуляции, местоположение которой меняется в зависимости от сезона активности и функционального состояния животных.

У сусликов с типом 1 ритмоинотропии в осенний период отмечается появление положительной компоненты в области низких частот стимуляции (от 0,2 до 0,5 Гц), которая сохраняется в течение всего периода гибернации (с октября по март). Для сусликов с типом 2 ритмоинотропии характерно наличие положительной компоненты в области высоких частот стимуляции (свыше 1,0 Гц), наиболее выраженной в период весеннего пробуждения. В папиллярных мышцах сердца спящих сусликов при  $30^\circ\text{C}$  во всех случаях зарегистрирован первый тип ритмоинотропии со слабой положительной компонентой в области низких частот стимуляции (выделено пунктиром на рис. 1), сходный с первым типом ритмоинотропии в папиллярных мышцах активных сусликов.

Другим отличительным признаком выделенных типов ритмоинотропии является наличие у второго типа слабой положительной компоненты в области частот стимуляции свыше 0,5 Гц. Подобный тип ритмоинотропии практически никогда не регистрируется у спящих и активных между баутами сусликов (рис. 1в).

Обращает на себя внимание то, что в группах летних и осенних сусликов количество животных с разными типами ритмоинотропии примерно поровну. А в группах сусликов периода гибернации преобладает первый тип, независимо от функционального состояния животных (как у активных между баутами, так и у спящих) (рис. 1в). В папиллярных мышцах сердца спящих сусликов при  $30^\circ\text{C}$  во всех случаях зарегистрирован первый тип ритмоинотропии со слабой положительной компонентой в области низких частот стимуляции (выделено «пунктиром» на рис. 1в), сходный с первым типом ритмоинотропии в папиллярных мышцах активных между баутами сусликов в период глубокой спячки.

Второй тип ритмоинотропии начинает появляться у межбаутных активных животных только в конце февраля — начале марта, т.е. к окончанию сезона гибернации (рис. 1в). В этот же период он



**Рис. 1.** Статистические кривые двух типов зависимости силы сокращения от частоты стимуляции в папиллярных мышцах сердца сусликов: (а) – активных летних ( $n = 19$ ); (б) – активных осенних ( $n = 16$ ); (в) – животных в период гибернации, активных между баутами спячки ( $n = 12$ ) и спящих (пунктирная линия,  $n = 8$ ) ( $30^{\circ}\text{C}$ ,  $1,8 \text{ mM Ca}^{2+}$ ). По оси ординат – сила стационарного изометрического сокращения в % по отношению к частоте стимуляции на  $0,1 \text{ Гц}$ , принимаемой за 100%; по оси абсцисс – частота стимуляции, Гц. Данные представлены как средние значения  $\pm$  ошибка среднего (\* – достоверное отличие от значения при частоте стимуляции  $0,1 \text{ Гц}$ ,  $P < 0,05$ ).

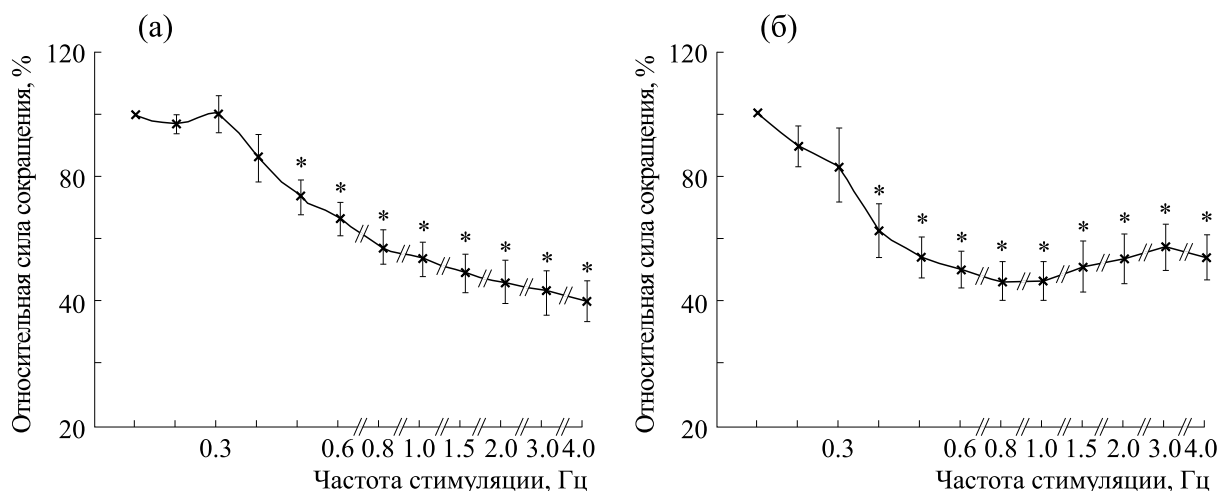
может появляться и у спящих животных (данные не приводятся).

На рис. 2 представлены типы зависимости ЧС, зарегистрированные в папиллярных мышцах животных на начальных стадиях вхождения в спячку (рис. 2а) и на поздних стадиях пробуждения (рис. 2б) при температуре сердца, в том и в другом случае близкой к  $30^{\circ}\text{C}$ . Можно видеть, что у сусликов, входящих в состояние спячки, зависимость ЧС имеет отрицательную направленность со слабой положительной компонентой в области частот стимуляции от  $0,1$  до  $0,4 \text{ Гц}$  (рис. 2а), что позволяет отнести ее к первому типу, свойственному животным периода гибернации (см.

рис. 1в). В папиллярных мышцах пробуждающихся животных (рис. 2б) зависимость ЧС имеет двухфазный характер, сходный с описанным выше для папиллярных мышц со вторым типом ритмоинотропии (рис. 1).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На момент начала наших исследований считалось, что зависимость ЧС в сердце зимоспящих животных, как у большинства млекопитающих в норме, имеет положительную направленность и только в состоянии спячки становится отрицательной [19,20]. По результатам наших ранее



**Рис. 2.** Зависимости силы сокращения от частоты стимуляции в папиллярных мышцах сердца сусликов: (а) — входящих в состояние спячки ( $n = 6$ ), (б) — пробуждающихся ( $n = 6$ ) при температуре сердца, близкой в обоих случаях к  $30^{\circ}\text{C}$ . Данные представлены, как средние значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего (\* — достоверное отличие от значения при частоте стимуляции 0,1 Гц,  $P < 0,05$ ).

опубликованных работ, выполненных в диапазоне частот стимуляции от 0,1 до 1,0 Гц, зависимость ЧС в папиллярных мышцах сердца сусликов, независимо от их функционального состояния, имеет отрицательную направленность [23–25], что согласуется с результатами недавно опубликованной работы [44], выполненной на изолированном сердце тринадцатиполосного суслика (*Ictidomys tridecemlineatus*), перфузируемом по Лангендорфу. Авторы данной работы зарегистрировали в сердце как летних активных, так и зимних спящих животных (при  $37^{\circ}\text{C}$ ) снижение сократимости в ответ на увеличение частоты стимуляции от 4 до 10 Гц.

Принципиально новым результатом нашей работы является впервые обнаруженное нами в сердце активных сусликов разных сезонных периодов наличие двух типов ритмоинотропии с относительно слабой и выраженной частотной зависимостью в диапазоне от 0,1 до 1,0 Гц [25]. Исследование более широкого диапазона частот (от 0,1 до 4 Гц) в настоящей работе подтвердило наличие двух типов ритмоинотропии в группах летних и осенних животных и выявило во втором типе ритмоинотропии ранее не обнаруженное нами наличие положительной компоненты в диапазоне частоты стимуляции от 1 до 4 Гц. При более высоких частотах, свыше 4 Гц, зависимость становилась отрицательной, как и в работе [44]. Таким образом, новые данные, подтверждая основные выводы наших ранее выполненных работ, вносят существенные дополнения в представление о феноменологических особенностях ритмоинотропных явлений в сердце зимоспящих животных.

Первый тип ритмоинотропии имеет преимущественно отрицательную направленность во всей области исследованных частот, а второй тип — двухфазную: резко-отрицательную в области низких частот стимуляции и положительную в области высоких частот (свыше 1,0 Гц). По внешним проявлениям обнаруженный нами в сердце суслика первый тип ритмоинотропии (с менее выраженной частотной зависимостью) сходен с особенностями ритмоинотропии миокарда обычных млекопитающих и человека при сердечной недостаточности [8,9,13–16]. Сердце суслика с двухфазным типом ритмоинотропии (тип 2) обнаруживает сходство с особенностями сердца крыс и мышей [1,2,17,18].

Основной вопрос, который возникает при анализе полученных результатов, касается причин наличия двух типов ритмоинотропии у животных летнего и осеннего периодов. В отношении осеннего периода ситуация представляется достаточно понятной. Известно, что подготовка к спячке у зимоспящих начинается задолго до наступления периода гибернации. В течение октября и до середины ноября суслики входят в состояние так называемой «пробной спячки» (периодически впадают в оцепенение на двое-трое суток, температура их тела при этом снижается незначительно) [31,33,37–39]. Считается, что такие кратковременные погружения в спячку стимулируют перестройку кальциевого гомеостаза миокардиальных клеток, играющего ключевую роль в адапционных изменениях сердца гибернирующих животных [29,45–50] и в процессах трансформации характера ритмоинотропии в условиях патологий у высших млекопитающих и человека [6,9,14–16]. Можно предположить, что

этот процесс является одной из причин наличия двух типов ритмоинотропии у животных осеннего периода и появления положительной компоненты зависимости ЧС в области низких частот стимуляции, наиболее физиологичных для периода зимней спячки.

Наличие двух типов ритмоинотропии (рис. 1а) в группе летних сусликов, находящихся вне гибернационного периода с его сложными функциональными перестройками, на первый взгляд, кажется странным. Однако, по нашим наблюдениям, в жаркое лето часть сусликов в условиях вивария способна входить в сонное состояние, с понижением температуры до 25–26°C. Легкая провокация пробуждает животных, инициируя повышение температуры тела в течение 30–35 мин до 36–37°C [31,40–43]. Не исключено, что первый тип ритмоинотропии у летних животных (рис. 1а), напоминающий таковой у животных периода гибернации (рис. 1в), может быть свойственен сусликам, находящимся в состоянии летней спячки или входящим в нее. С подобной возможностью согласуются и литературные данные, указывающие на то, что ряд гетеротермных животных [51,52], в том числе и суслики [53], при летней жаре в сухие сезоны действительно способны впадать в летнюю спячку (эстивацию).

Следует отметить, что при внешнем сходстве первого типа ритмоинотропии сусликов летнего и гибернационного периода у последних существует одна важная особенность – наличие фазы повышения силы сокращений (положительной компоненты зависимости) в узкой полосе частот от 0,1 до 0,4 Гц (рис. 1б,в). Таким образом, эта особенность наблюдается только у сусликов, спячка которых проходит при отрицательной температуре внешней среды и проявляется только поздней осенью и зимой; в спячке летних животных это характерное явление не отмечается.

Напротив, наличие положительной компоненты в области высоких частот стимуляции, характерное для второго типа ритмоинотропии, является, по-видимому, отличительным признаком животных в переходных состояниях, сопровождающихся повышением их функциональной активности после периодов относительного покоя. Поэтому в наиболее ярком виде особенности, свойственные данному типу ритмоинотропии, проявляются у кратковременно пробуждающихся (на завершающей стадии) сусликов в период гибернации (рис. 2б) или готовящихся к весеннему пробуждению животных (данные для месяца марта на рис. 1в). Создается впечатление, что формирование определенного типа ритмоинотропии в сердце зимоспящих предшествует изменениям функционального состояния животных.

Суммируя данные проведенных нами исследований, можно заключить, что появление слабо-выраженной положительной компоненты зависимости в области низких частот стимуляции является отличительным признаком животных периода гибернации и входящих в состояние спячки (стремящихся к снижению активности).

Напротив, наличие положительной компоненты в области высоких частот стимуляции является отличительным признаком переходных периодов, сопровождающихся повышением функциональной активности животных. Поэтому в наиболее ярком виде особенности, свойственные второму типу ритмоинотропии, проявляются у активных животных по мере приближения сезона весеннего пробуждения, самого сложного в жизни зимоспящих животных.

В плане установления возможных механизмов, лежащих в основе формирования различных типов ритмоинотропии, обнаруженных нами в сердце суслика, наиболее актуальным представляется изучение роли в этом процессе различных  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем, соотношение активности которых меняется в процессе изменения функционального состояния зимоспящих [45–50,55] и вносит определяющий вклад в формирование разных типов ритмоинотропии в норме и их трансформацию при патологиях у обычных млекопитающих и человека [1,2,6–9,14–16,19–22,55]. Выяснение механизмов физиологической трансформации характера ритмоинотропии в течение годового цикла животных гибернантов может иметь важное значение для понимания механизмов патологической трансформации ритмоинотропных отношений в условиях сердечной недостаточности и для разработки эффективных путей преодоления этой опасной патологии.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (в рамках научного проекта № 18-04-00764).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите животных (86/609/ЕЕС, 1986).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н. Р. Bowditch, Ber. Sachs Ges. Wiss. **23**, 652 (1871).
2. J. Koch-Weser, J. R. Blinks, Pharmacol. Rev. **15**, 601 (1963).
3. M. Endoh, Eur. J. Pharmacol. **500**, 73 (2004).

4. J. Palomeque, M. G. Vila Petroff, and A. Mattiazzi, *Heart Lung Circ.* **13** (4), 410 (2004).
5. P. M. L. Janssen, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **J. 299**, 1741 (2010).
6. M. M. Monasky and P. M. L. Janssen, *J. Comp. Physiol. B* **179**, 469 (2009).
7. Y. Xu, M. M. Monasky, N. Hiranandani, et al., *J. Appl. Physiol.* **21**, 20 (2011).
8. J. H. Chung, B. D. Canan, B. A. Whitson, et al., *Physiol. Rep.* **J. 6** (20), 13898 (2018).
9. E. Bovo, S. R. Mazurek, and A. V. Zima, *Pflugers Arch.* **470** (6), 959 (2018).
10. В. С. Мархасин, В. Я. Изаков и В. И. Шумаков, *Физиологические основы нарушения сократительной функции миокарда* (Наука, СПб. 1994).
11. О. Э. Соловьева, В. С. Мархасин и др., *Биофизика* **44** (2), 337 (1999).
12. С. А. Афанасьев, Д. С. Кондратьева, Л. П. Цапко и др., *Вестн. аритмологии* **55**, 56 (2009).
13. F. Somura, I. Hideo, M. Iwase, et al., *Circulation* **104** (6), 658 (2001).
14. G. Hasenfuss, H. Reinecke, R. Studer, et al., *Cardiol.* **91** (2), 17 (1996).
15. B. Pieske, L. S. Maier, D. M. Bers, et al., *Circ. Res.* **85**, 38 (1999).
16. J. Palomeque, M. V. Petroff, L. Sapia, et al., *J. Card. Fail.* **13** (2), 143 (2007).
17. V. J. Schouten and H. E. ter Keurs. *J. Mol. Cell Cardiol.* **23** (9), 1039 (1991).
18. B. D. Stuyvers, A. D. McCulloch, J. Guo, et al., *J. Physiol.* **544** (Pt 3), 817 (2002).
19. N. Kondo and S. Shibata, *Science* **225**, 641 (1984).
20. N. Kondo, *Circ. Res.* **59**, 221 (1986).
21. J. S. Charnock, W. F. Dryden, and R. J. Marshall, *Br. J. Pharmacol.* **78** (1), 151 (1983).
22. Z. Q. Zhou, W. F. Dryden, and L. C. H. Wang, *J. Therm. Biol.* **12** (2), 167 (1987).
23. О. В. Накипова, Л. А. Андреева, Н. А. Чумаева и др., *Биофизика* **47** (4), 735 (2002).
24. О. В. Накипова, Л. А. Андреева, Н. А. Чумаева и др., *Докл. РАН* **407** (4), 547 (2006).
25. O. V. Nakipova, N. M. Zakharova, L. A. Andreeva, et al., *Cryobiology* **55**, 173 (2007).
26. H. Reuter, C. Zobel, K. Brixius, et al., *Basic Res. Cardiol.* **94** (3), 159 (1999).
27. D. M. Bers, *Circ. Res.* **87**, 275 (2000).
28. L. S. Maier, D. M. Bers, B. Pieske, *J. Mol. Cell Cardiol.* **32**, 2249 (2000).
29. B. W. Johansson, *Cardiovasc. Res.* **31**, 826 (1996).
30. C. P. Lyman, J. S. Willis, A. Malan, et al., *Hibernation and torpor in mammals and birds* (Acad. Press, N.Y.—L., 1982).
31. Н. И. Калабухов, *Спячка млекопитающих* (Наука, М., 1985).
32. С. Г. Колаева, *Вестн. РАН* **63** (12), 1076 (1993).
33. Н. Г. Соломонов, *Эколого-физиологические характеристики природных гипометаболических состояний* (Пушино, 1992).
34. M. T. Andrews, *J. Exp. Biol.* **25**, 222 (2019).
35. M. T. Andrews, K. P. Russeth, and L. R. Drewes, *Am. J. Phys. Reg., Integr. Comp. Physiol.* **296**, 383 (2009).
36. C. W. Wu, K. K. Biggar, B. E. Luu, et al., *Physiol. Genom.* **48** (6), 388 (2016).
37. R. L. Russell, P. H. O'Neill, L. E. Epperson, and S. L. Martin, *J. Comp. Physiol. B* **180** (8), 1165 (2010).
38. M. J. Sheriff, C. T. Williams, et al., *J. Comp. Physiol. B* **182** (6), 841 (2012).
39. M. Wiersma, T. M. A. Beuren, E. L. de Vrij, et al., *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* **223**, 23 (2018).
40. Д. А. Игнатъев, Г. С. Сухова и В. П. Сухов, *Журн. общ. биологии* **62** (1), 66 (2001).
41. Д. А. Игнатъев, В. В. Воробьев и Г. С. Сухова, *Нейрохимия* **15** (3), 240 (1998).
42. Д. А. Игнатъев, Г. С. Сухова и В. П. Сухов, *Журн. эволюц. биохимии и физиологии* **28** (5), 582 (1992).
43. А. И. Ануфриев, *Экологические механизмы температурных адаптаций млекопитающих и зимующих птиц Якутии* (СО РАН, Новосибирск, 2013).
44. F. I. Heinis, K. L. Vermillion, M. T. Andrews, et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **309** (4), 368 (2015).
45. A. E. Alekseev, N. I. Markevich, A. F. Korystova, et al., *Biophys. J.* **70**, 786 (1996).
46. Yu. M. Kokoz, A. S. Grichenko, A. F. Korystova, et al., *Membr. Cell. Biol.* **14** (2), 277 (2000).
47. S. Q. Wang, E. G. Lakatta, H. Cheng, et al., *J. Exp. Biol.* **205**, 2957 (2002).
48. A. Yatani, S. J. Kim, R. K. Kudej, et al., *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* **286** (6), 2219 (2004).
49. K. M. Dibb, C. L. Hagarty, A. S. Loudon, et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **288** (3), 607 (2005).
50. X. C. Li, L. Wei, G. Q. Zhang, et al., *PLoS One* **6** (9), e24787 (2011).
51. T. Ruf, F. Geiser, *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* **90** (3), 891 (2015).
52. F. Hoelzl, C. Bieber, J. S. Cornils et al., *J. Comp. Physiol. B* **185** (8), 931 (2015).
53. W. T. Shaw, *Ecology* **6** (1), 75 (1925).
54. O. V. Nakipova, A. S. Averin, E. V. Evdokimovskii, et al., *PLoS One* **12**, e0177469 (2017).
55. A. Krishna, M. Valderrábano, P. T. Palade, et al., *Theor. Biol. Med. Model.* **10**, 54 (2013).

## Force-Frequency Relationship in the Ground Squirrel Papillary Heart Muscles Precedes Changes in the Functional State of Animals During an Annual Cycle

O.V. Nakipova, A.S. Averin, L.S. Kosarsky, and D.A. Ignatiev

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

This work focuses on the study of peculiarities of the dependence of contractile force (isometric mode, 30°C) on stimulation frequency (0.1–4.0 Hz) in the right ventricular papillary muscles isolated from the hearts of ground squirrels *Spermophilus undulatus* using groups of hibernating animals that are active in summer (June–July) and autumn (October–November) periods as well as hibernating animals during the hibernation season, including interbout euthermic period; entrance into torpor ( $T_{\text{heart}} \sim 30^\circ\text{C}$ ); torpor and interbout arousal ( $T_{\text{heart}} \sim 30^\circ\text{C}$ ). It is shown that regardless of the functional state of animals, the force-frequency dependence (rhythm-inotropic effect) in the ground squirrel papillary heart muscles is mostly negative: contractile force at high frequencies (from 1.0 to 4.0 Hz) is always less than that at low frequencies (around 0.1 Hz). At the same time, in each group of animals, 2 types of rhythm-inotropic effect are distinguished: the first effect has a rather weak (type 1) frequency dependence, the second a pronounced one (type 2). Both types of rhythm-inotropic effect may have a weak positive component (due to an increase in contractile force): in case of type 1 effect, it appears in the low frequency stimulation range (from 0.2 to 0.5 Hz) (only in animals during the hibernation season: interbout aroused and torpid or entered in a state of torpor—in which their metabolism slows), and type 2 effect is observed in the high frequency stimulation range (more than 1.0 Hz), mostly obvious in animals during the resumption of functional activities through interbout arousals, and in spring during exit from torpor. The data obtained indicate that the process of formation of a certain type of rhythm-inotropic effect in the heart of hibernating animals occurs before changes in the functional state of animals during an annual cycle.

*Keywords: heart, papillary muscles, contractility, force-frequency relationship, hibernating animals, ground squirrel*