

И.Р.Ефимов, А.Т.Самбелашвили, В.Н.Никольский

## ПРОГРЕСС В ИЗУЧЕНИИ МЕХАНИЗМОВ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ СЕРДЦА (ЧАСТЬ 1)

*Case Western Reserve University, Кливленд, США, Институт Теоретической и Экспериментальной  
Биофизики, РАН, Пущино, Россия*

*Рассматривается роль бидоменной модели, представляющей сердечную мышцу в виде двух взаимопроникающих внутриклеточного и внеклеточного пространств, и оптического картирования в изучении фундаментальных механизмов точечной стимуляции сердца.*

**Ключевые слова:** электрическая стимуляция сердца, бидоменная модель, оптическое картирование, потенциал действия, деполяризация

*Discussed is the role of the bi-domain model considering the myocardium as a system of two interpenetrative intracellular and extracellular spaces and of the optic mapping in studying the basic mechanisms of point cardiac pacing.*

**Key words:** electrical cardiac pacing, bi-domain model, optic mapping, action potential, depolarization.

Несмотря на значительный прогресс в кардиологии, нарушения ритма сердца являются одной из основных причин внезапной сердечной смерти. Клинический арсенал предупреждения и лечения аритмий включает фармакологические и хирургические методы. Однако, за последние полвека к ним добавилась и выдвинулась на ведущее место электрическая стимуляция (ЭС) сердца, ставшая одним из важнейших терапевтических методов восстановления нормального кровообращения. Миллионы людей в настоящее время живы благодаря имплантированным стимуляторам и дефибрилляторам, мировая годовая имплантация которых приближается к 300 тыс. и 100 тыс., соответственно.

Кроме того, ЭС является важнейшим методом клинических и фундаментальных исследований электрофизиологических (ЭФ) механизмов функции сердца. Каждое сокращение сердца запускается электрическим импульсом, генерирующимся в синусовом узле и распространяющимся в виде незатухающей волны деполяризации клеток сердца, соединённых в непрерывный синцитий. Нарушения возникновения или распространения волны деполяризации миокарда является наиболее частой непосредственной причиной смерти.

Исследования фундаментальных механизмов ЭС имеют длинную историю, насчитывающую более трёх столетий [1-3]. Однако, до недавнего времени эти исследования были затруднены отсутствием адекватных теоретических и экспериментальных методов, позволявших предсказывать и измерять трансмембранный потенциал во время ЭС. Классические электродные методы, разработанные в XIX и XX столетиях, и оставшиеся единственным методом исследований в фундаментальных и клинических лабораториях, не позволяли вести измерения трансмембранного потенциала из-за артефактов возникающего во время ЭС. Параллельно с экспериментальными сложностями, теоретические концепции ЭС и дефибрилляции также не могли объяснить многих эмпирически установленных фактов.

Необходимые адекватные экспериментальные и теоретические методики появились лишь в последние два десятилетия XX века. Это экспериментальная мето-

дика – флуоресцентное картирование трансмембранного потенциала с помощью потенциал-чувствительных красителей [4], которая нечувствительна к внешнему электрическому полю [5, 6], и теоретическая методика, основанная на формализме бидоменных моделей [7-11].

Эта работа является первой частью обзора, которая формулирует наше понимание роли бидоменной модели и оптического картирования в изучении фундаментальных механизмов точечной (эндокардиальной или эпикардиальной) ЭС сердца. Обзор будет продолжен в двух дополнительных статьях, которые сформулируют наше понимание механизмов аритмогенеза, вызванного электрическим стимулом (часть 2) и механизмов дефибрилляции (часть 3).

### **1. Физиология возбуждения сердечного синцития**

В рамках бидоменной модели, сердечный синцитий можно представить в виде двух трехмерных пространств: внутриклеточного и внеклеточного. Эти два пространства соединены между собой пассивным током через сопротивление мембраны и активными ионными токами, зависящими от трансмембранного потенциала и времени. В покое, между двумя пространствами существует разница потенциалов, известная как потенциал покоя, равная -80-90 мВ. Для возникновения и распространения волны возбуждения необходима начальная деполяризация сердечной мембраны в сравнительно небольшой группе клеток. Такая деполяризация может быть вызвана путём внутриклеточной или внеклеточной ЭС. При внутриклеточной ЭС в ходе экспериментов используется микроэлектрод, который вводится внутрь клетки (сердечная клетка имеет характерный диаметр 10-20 микрометров). Очевидно, что этот метод ЭС неприменим в клинической ситуации. Внеклеточная ЭС достигается путём импульса тока, распространяющегося во внеклеточной плазме. Однако этот импульс также вызывает изменение потенциала во внутриклеточном пространстве и таким образом меняет трансмембранный потенциал, вызывая деполяризацию.

Начальная надпороговая деполяризация вызывает активацию натриевых каналов, начинающую генерацию

потенциала действия. Эта локальная деполяризация диффундирует в соседние клетки и вызывает новую деполяризацию, открывающую натриевые каналы уже в этих соседних клетках. И так далее. Таким образом запускается триггерная волна возбуждения, известная так же как автоволна [12]. Точечные ионные механизмы деполяризации на клеточном уровне известны достаточно детально и описаны во многих прекрасных обзорах и монографиях [13]. Однако пространственные механизмы деполяризации до последнего времени оставались малоизученными. Бидоменная модель и оптическое картирование позволили значительно продвинуть исследование именно пространственных механизмов ЭС.

### 1.2. Бидоменная модель миокарда и функция активации

Бидоменная модель получила в последнее время широкое распространение в качестве основного подхода при теоретическом и численном исследовании макроскопических электрических явлений в сердечной ткани. Эта модель основана на представлении сердечной мышцы в виде двух взаимосвязанных пространств – внутриклеточного и внеклеточного, каждое из которых имеет различные коэффициенты проводимости вдоль и поперек направления волокон [7-11, 14]. В отличие от предыдущих подходов, бидоменный формализм не игнорирует внеклеточного пространства, которое обычно полагалось эквипотенциальным и заземленным. Бидоменный подход рассматривает неоднородные состояния электрического поля во внеклеточном пространстве, без чего невозможно решить задачу внеклеточной ЭС.

Состояние бидоменной системы описывается внутриклеточным  $\phi_i$  и внеклеточным  $\phi_e$  потенциалами как функциями на некоторой пространственной области  $\Omega$ . Искомой переменной является трансмембранный потенциал, определенный как разность  $V_m = \phi_i - \phi_e$ . Бидоменная модель заключается в следующей паре уравнений реакции-диффузии:

(1)

$$\nabla \cdot (\boldsymbol{\epsilon}_e \nabla \phi_e) = -I_m - I_o \quad \text{на } \Omega \quad (2)$$

здесь через  $\boldsymbol{\epsilon}_i$  и  $\boldsymbol{\epsilon}_e$  обозначены тензоры внутриклеточной и внеклеточной проводимости соответственно,  $I_m$  – объемная плотность трансмембранного тока,  $I_o$  – объемная плотность тока ЭС.

Трансмембранный ток представлен в виде суммы емкостного, ионного токов и тока электропорации [15, 16]:

$$I_m = \beta \left( C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + I_{ion}(V_m, t) + G(V_m, t) \cdot V_m \right) \quad (3)$$

где  $\beta$  – отношение поверхности миоцита к его объему,  $C_m$  – емкость трансмембранного конденсатора на единицу поверхности мембраны миоцита,  $G(V_m, t)$  – трансмембранная проводимость вследствие электропорации. Последний член, как правило, описывается эмпирическим дифференциальным уравнением первой степени, отражающим процессы образования и заживления пор в мембране.

Алгоритм вычисления ионного тока  $I_{ion}(V_m, t)$  зависит от конкретной модели сердечной клетки. Существует значительное количество таких моделей, от простых и менее точных [17] до более сложных и более адекватных Luo-Rudy phase I [18], Luo-Rudy phase II [19, 20]. В

основе все эти модели описывают свойства различных ионных каналов в рамках формализма Ходжкина-Хаксли [21]. С математической точки зрения – это системы обыкновенных дифференциальных уравнений первой степени с коэффициентами, зависящими от значения трансмембранного потенциала.

Особую роль в бидоменной теории ЭС занимает так называемая функция активации [22, 23]. Эта функция представляет собой «движущую силу» вызывающую положительную или отрицательную поляризацию клеточной мембраны во время ЭС. Исходя из уравнений бидомена (1)-(2) и концепции функции активации [22], можно показать, что [23] причиной электрической активации сердечной мышцы могут быть как неоднородности внешнего электрического поля, так и неоднородности внутриклеточной проводимости сердечной мышцы.

Важно подчеркнуть, что до недавнего времени неоднородности самой сердечной ткани не принимались во внимание и возбуждение клеток связывалось в основном с градиентом внеклеточного потенциала, который рассматривался в качестве единственного параметра, способного предсказывать результат дефибрилляции. Так множество фундаментальных и клинических исследований полагали, что для успешной дефибрилляции достаточно обеспечить во всех областях сердца градиент внеклеточного потенциала больше 5 В/см [24], что считалось достаточным для ЭС всего сердца. Однако, как показывали недавние теоретические и экспериментальные исследования, оба фактора могут играть важную роль в ЭС [25].

### 1.3. Флуоресцентное оптическое картирование

Не будет преувеличением сказать, что прогресс в биологии второй половины 20-го века в значительной части был обусловлен изобретением и широким применением флуоресцентных методов исследования на всех уровнях живой ткани: молекулярном, клеточном, тканевом, органа и всего организма. Флуоресцентные методы позволяют измерять различные параметры живой системы с беспрецедентной чувствительностью и специфичностью. Так, современные методы позволяют обнаруживать присутствие единичных молекул в сложных физиологических системах, измерять концентрации ионов и электрические потенциалы внутри и на мембранах клеточных органелл во время сложных физиологических процессов.

Исследования ЭС и дефибрилляции не является исключением. Флуоресцентные методы исследований электрической активности поистине революционизировали электрофизиологию сердца за последние 10 лет. В англоязычной литературе существует множество прекрасных обзоров и книг по флуоресцентным методам. В частности среди наиболее свежих обзоров необходимо отметить несколько прекрасных сборников, составленных ведущими лабораториями мира в этой области [26-28]. Русскоязычная литература по оптическим исследованиям в области электрофизиологии сердца, к сожалению, не столь обширна [29].

Оптические измерения трансмембранного потенциала были задуманы американским исследователем проф. Larry Cohen. Идея была основана на свойствах специально синтезированных молекул-флуорофоров,

которые, связавшись с клеточной мембраной, способны поглощать и излучать свет с эффективностью, зависящей от величины электрического поля, в котором находится эта молекула. Таким образом осветив сердце, прокрашенное флуорофором, можно оптически измерить кинетику трансмембранного потенциала по изменениям интенсивности или длины волны флуоресценции. Более того, используя современные методы двумерной регистрации света, можно составлять карты изменения трансмембранного потенциала на поверхности сердца [30, 31]. Оптическая природа измерений позволяет изменять пространственное разрешение картирования сигналов путём простой замены оптического увеличения. В настоящее время картирование трансмембранного потенциала осуществляется в широком диапазоне пространственного масштаба: от единичной клетки [32] до целого сердца [31].

В наших исследованиях механизмов ЭС мы использовали экспериментальную модель ЭС на основе перфузируемого сердца кролика (см. рис. 1, этот и последующие рисунки расположены на вклейке). Описание препарата детально изложено во многих публикациях [33, 34]. Сердце кролика перфузировалось стандартным раствором Рингера по методу ретроградной перфузии, подававшейся через аорту в коронарные сосуды. Сердце прокрашивалось потенциал-чувствительным красителем di-4-ANEPPS, который добавлялся в раствор в концентрации от 1 до 20 mM/L в течение от нескольких минут до получаса в начале эксперимента.

В течение продолжительного эксперимента оптические сигналы ухудшались из-за отмывания красителя, что вызывало ухудшение отношения сигнал-шум. В таких случаях мы производили дополнительную подкраску сердца. Для устранения сокращений сердца, которые создают серьёзные трудности во время оптических измерений, в раствор Рингера добавлялся 15 mM/L 2,3-butanedione monoxime. Оптические измерения потенциала действия проводились в районе эпикарда вокруг стимулирующего электрода (см. рис. 1). Характерный размер области измерения (поля зрения оптики) был 4x4 или 5x5 мм.

Флуоресцентные измерения проводились по следующей схеме (см. рис. 2). Флуорофор di-4-ANEPPS (Molecular Probes, USA) возбуждался светом, который генерировался стабильным источником света постоянного тока, фильтровался интерференционным фильтром с полосой пропускания  $520 \pm 45$  нм, отражался дихроическим зеркалом с длиной волны пропускания  $>585$  нм и фокусировался линзой на объекте. После этого флуоресценция, генерируемая флуорофором, собиралась с помощью той же линзы, проходила опять через тоже самое дихроическое зеркало и дополнительно фильтровалась фильтром, пропускающим только длины волн выше 610 нм. Далее, флуоресценция регистрировалась матрицей из 256 фотодиодов, расположенных в виде квадрата 16x16 элементов. Фотодиоды генерировали ток, который обращался в напряжение, усиливался двумя каскадами 256-канального усилителя и оцифровывался для визуализации и обработки на компьютере. Более детально эта процедура описана в нашем недавнем обзоре на русском языке [29].

## **2. Механизмы поляризации мембраны во время точечной стимуляции**

### **2.1. Виртуальные электроды при точечной стимуляции миокарда: линейная модель**

Бидоменная модель сердечной ткани значительно углубила понимание механизмов ЭС сердца. В 1989 году группой проф. John Wikswo [35] была рассмотрена задача о точечной ЭС плоской двумерной модели сердечной ткани, подчиняющейся бидоменным уравнениям (1)–(2) с пассивными ионными токами. Было показано, что после приложения точечного стимула вблизи стимулирующего электрода образуются характерная картина смежных областей деполяризации и гиперполяризации как результат неравной анизотропии вне- и внутриклеточного пространств (см. рис. 3АВ). Этой характерной формы области поляризации в виде «собачьей кости» (dog-bone shape) не наблюдается в случае, если отношения проводимостей для этих внутри- и внеклеточного пространств одинаковое (случай равной анизотропии обоих пространств) – точка ЭС тогда просто окружена эллипсом равномерно спадающей деполяризации/гиперполяризации при катодном/анодном стимуле [36].

Таким образом, неравная анизотропия двух пространств обуславливает образование смежных областей противоположной поляризации, получивших название виртуальных анодов (гиперполяризация) и виртуальных катодов (деполяризация). Это определение виртуальных электродов справедливо для стимуляции электрическими полями любой пространственной конфигурации, а не только при точечной ЭС. Положительная часть функции активации соответствует виртуальному катоду, так как она приводит к деполяризации, в то время как отрицательная часть функции активации соответствует виртуальному аноду, вызывающему гиперполяризацию.

Описанные результаты предложили убедительное объяснение феномену анодной ЭС, которую не могли объяснить в рамках классической теории, основанной на кабельном уравнении. Согласно этой теории, анодная ЭС гиперполяризует ткань непосредственно под электродом, что ставило в тупик многие поколения исследователей, не понимавших, как гиперполяризация может вызвать в конечном итоге потенциал действия, наблюдавшийся экспериментально. Бидоменная теория показала, что одновременно с виртуальными анодом (гиперполяризацией) возле электрода существуют виртуальные катоды на некотором расстоянии от него вдоль направления волокон (см. светлые области на рис. 3В). Именно в этих областях развивается деполяризация, и, при достаточной интенсивности стимула, возможно достижение порога возбуждения с последующей активацией сердечной мышцы.

Гипотеза виртуальных электродов получила блестящее подтверждение в экспериментах с использованием флуоресцентных красителей для картирования трансмембранного потенциала на поверхности эпикарда во время монополярной (см. рис. 3) [37–39] и биполярной (см. рис. 4) ЭС [33, 40]. Этот совместный успех бидоменной модели и флуоресцентной техники дал толчок интенсивным исследованиям ЭС и дефибрилляции в рамках данной концепции. В частности, было показано теоретически, что для пассивной модели геометрия вир-

туальных электродов не зависит от силы тока, а определяется лишь значениями проводимостей, характеризующих среду [41]. Отношение максимумов значения трансмембранного потенциала в областях противоположной полярности равно 10:1, но быстро снижается до 3:1 с увеличением размера стимулирующего электрода [42]. Именно последнее отношение анодного к катодному порогов возбудимости при точечной ЭС наблюдается в эксперименте. Вычисления на основе бидоменной модели в трех измерениях с учетом наличия омывающей стенки сердца жидкости (крови) показали, что жидкость ослабляет эффект виртуальных электродов, снижая анизотропию вследствие высокой проводимости крови [36]. Однако, требуется провести математическое моделирование ЭС на более реалистических геометриях миокарда.

## **2.2. Нелинейная модуляция виртуальных электродов**

Виртуальные электроды были предсказаны на основе линейной пассивной бидоменной модели. Рассмотрение ЭС как динамического процесса с учетом нелинейных свойств ионных каналов вносит значительные дополнения в первоначально простую картину. Реакция ткани на ЭС становится асимметричной в случае токов различной полярности. Например, для слабых подпороговых стимулов, приложенных в период диастолы, центральная область виртуального катода значительно больше по размеру, чем область виртуального анода во время анодной ЭС (см. рис. 5) [43]. Этот феномен обусловлен нелинейностью калиевых каналов  $I_{K1}$ , ответственных за поддержание трансмембранного потенциала покоя. Подобная асимметрия, но уже в сторону усиления гиперполяризации, наблюдается при ЭС во время фазы плато, когда основную роль играют кальциевые ионные каналы [44-46]. Механизмы ионной модуляции изменений трансмембранного потенциала при ЭС до сих пор еще плохо понятны и являются темой текущих исследований нашей лаборатории.

## **3. Механизмы генерации ответа на стимул в виде распространяющегося потенциала действия**

### **3.1. Два механизма стимуляции: «make» и «break»**

Прикладывая электрический импульс к сердечной ткани, которая находится в различных состояниях возбудимости или рефрактерности, соответствующих различным фазам потенциала действия, можно заметить, что активация вследствие приложенного импульса происходит либо в начальный момент включения импульса, либо в момент сразу после его отключения (см. рис. 6) [47].

Эти два режима, известные около полувека, как «make»- и «break»- возбуждение соответственно (make and break- excitation) (см. рис. 6) были недавно объяснены как теоретически [48], так и экспериментально [37], в рамках бидоменной модели.

Make-режим имеет место в случае, когда катодный или анодный импульс прикладывается к полностью возбудимой ткани, находящейся в периоде диастолы (см. схему в правом верхнем углу рис. 6). При достаточном уровне деполяризации в области виртуального

катода клетки достигают порога и вызывают рождение волны активации (см. рис. 7AB). Эта волна более вытянута вдоль направления волокон при анодной make-активации, а при катодной имеет более круговую форму. Белые линии на рис. 7 показывают последовательность распространения фронтов возбуждения при make-стимуляции.

Если электрический импульс приложен к сердечной ткани в состоянии рефрактерности, то никакого фронта возбуждения не возникнет в момент включения импульса (см. рис. 7CD). Однако, в области виртуальных анодов, которая относительно гиперполяризована, произойдет re-активация клеток, вызывающая восстановление возбудимости. После отключения импульса эти клетки возбуждятся в результате диффузии потенциала из близлежащих деполяризованных областей виртуальных катодов, создавая таким образом субстрат для первоначального распространения волны возбуждения. К тому времени, когда волна пройдет через области виртуальных анодов, изначально рефрактерная ткань станет возбудимой снова и волна продолжит распространяться во всех направлениях.

Таким образом, при make-возбуждении активация происходит от виртуальных катодов сразу в момент после приложения стимула, а при break-возбуждении волна начинает распространяться по виртуальным анодам непосредственно после выключения стимула.

### **3.2. Устранение break-возбуждения с помощью выпрямителя тока**

В наших недавних экспериментах мы подтвердили данные лаборатории Wikswo о возможности make и break возбуждения [33]. Более того, мы сумели объяснить также наблюдения Hoffman [47], который показал, что break возбуждение возможно не только после длинного стимула, длящегося более ста миллисекунд, начиная с рефрактерной фазы, но и при относительно коротких диастолических стимулах (см. рис. 8C).

В нашей недавней публикации [33] мы показали, что сильные надпороговые катодные импульсы вызывают возникновение и распространения фронта возбуждения по всему периметру центральной области деполяризации в форме «собачьей кости». Однако понижение интенсивности стимула до около-пороговой привело к возникновению фронта возбуждения только в области гиперполяризации, что соответствует break-возбуждению, как оно описано Wikswo для длинных систолических импульсов. Вместе с тем Hoffman привёл наблюдения, которые также могут быть объяснены break-возбуждением, но при коротких диастолических импульсах. В этом есть некоторый парадокс, так как наблюдения Hoffman не подтверждены независимыми исследованиями.

Наше дальнейшее изучение этого вопроса привело к подтверждению наблюдений Hoffman (см. рис. 8AB). Однако, измерения формы импульса тока и напряжения, производимого генератором тока, показали что форма импульса тока бифазная. Импульс не прекращается с выключением генератора. За ним следует экспоненциальный разряд противоположного знака, возникающей из-за поляризации стимулирующего электрода. Рис. 9 иллюстрирует, что в данном случае break-возбуж-

дение является следствием поляризации электрода, и может быть устранено с помощью выпрямителя тока, предотвращающего возникновения пикового импульса тока во время отключения источника. Выпрямитель тока в наших исследованиях был сделан из единичного диода, который предотвращал вход тока в выход генератора, находящегося в неактивном состоянии. Таким образом парадокс Hoffman был разрешён. Он является следствием свойств поляризующихся материалов из которых изготовлен стимулирующий электрод.

Этот эффект имеет важное клиническое значение, так как аналогичные измерения формы импульса наблюдаются на клинических электродах. Мы записали значительные пики тока во время отключения импульса с использованием электрода фирмы Medtronic (см. рис.

10). Этот «разряд» поляризации после выключения тока электрода вызывает уменьшение анодного порога возбуждения, так как катодное break-возбуждение имеет более низкий порог чем анодное make-возбуждение.

#### **Заключение**

Теоретические и экспериментальные исследования ионных и пространственных механизмов возбуждения сердца под воздействием электрических импульсов получили значительное развитие в последнее десятилетие, благодаря широкому применению бидоменной теории и флуоресцентной методики записи трансмембранного потенциала. Более глубокое понимание фундаментальных механизмов возбуждения необходимо для создания более совершенных имплантируемых стимуляторов и синхронизаторов возбуждения сердца.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

- Swammerdam J., *Biblia Naturae*. Leyden: H.Boerhaave; 1738.
- Galvani L. *De Vibribus Electricitatis in Motu Musculari. Commentarius. De Bononiesi Scientarium et Ertium Instituto atque Academia Commentarii* 1791;7:363-416.
- Hoffa M., Ludwig C. *Einige Neue Versuche Uber Herzbewegung. Zeitschrift Rationelle Medizin* 1850; 9: 107-44.
- Davila H.V., Salzberg B.M., Cohen L.B., Waggoner A.S. *A Large Change in Axon Fluorescence That Provides a Promising Method for Measuring Membrane Potential. Nat New Biol* 1973; 241 (109): 159-60.
- Dillon S.M. *Optical Recordings in the Rabbit Heart Show That Defibrillation Strength Shocks Prolong the Duration of Depolarization and the Refractory Period. Circulation Research* 1991;69(3):842-56.
- Efimov I.R., Cheng Y.N., Biermann M. et al. *Transmembrane Voltage Changes Produced by Real and Virtual Electrodes During Monophasic Defibrillation Shock Delivered by an Implantable Electrode. Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 1997;8:1031-45.
- Muler A.L., Markin V.S. *Electrical Properties of Anisotropic Neuromuscular Syncytia. I. Distribution of the Electrotonic Potential. Biofizika* 1977; 22 (2): 307-12.
- Muler A.L., Markin V.S. *Electrical Properties of Anisotropic Neuromuscular Syncytia. II. Distribution of a Flat Front of Excitation. Biofizika* 1977; 22 (3): 518-22.
- Muler A.L., Markin V.S. *Electrical Properties of Anisotropic Neuromuscular Syncytia. III. Steady State of the Front of Excitation. Biofizika* 1977; 22 (4): 671-5.
- Tung L. *A bidomain model for describing ischemia myocardial DC potentials. Ph.D. dissertation. Massachusetts Institute of Technology; 1978.*
- Henriquez C.S. *Simulating the Electrical Behavior of Cardiac Muscle Using the Bidomain Model. Crit Rev Biomed Eng* 1993; 21: 1-77.
- Krinsky V.I., Biktashev V.N., Pertsov A.M. *Autowave Approaches to Cessation of Reentrant Arrhythmias. Ann N Y Acad Sci* 1990; 591: 232-46.
- Noble D. *The Initiation of the Heartbeat. Oxford: Clarendon Press; 1975.*
- Geselowitz D.B., Miller W.T. 3. d. *A Bidomain Model for Anisotropic Cardiac Muscle. Ann Biomed Eng* 1983; 11 (3-4): 191-206.
- DeBruin K.A., Krassowska W. *Electroporation and Shock-Induced Transmembrane Potential in a Cardiac Fiber During Defibrillation Strength Shocks. Ann. Biomed Eng* 1998; 26 (4): 584-96.
- Skouibine K., Trayanova N., Moore P. *A Numerically Efficient Model for Simulation of Defibrillation in an Active Bidomain Sheet of Myocardium. Math.Biosci.* 2000; 166 (1): 85-100.
- Beeler G.W., Reuter H. *Reconstruction of the Action Potential of Ventricular Myocardial Fibres. J.Physiol.(Lond.)* 1977; 268 (1): 177-210.
- Luo C.H. and Rudy Y. *A Model of the Ventricular Cardiac Action Potential: Depolarization, Repolarization, and Their Interaction. Circ Res* 1991; 68 (6): 1501-26.
- Luo C.H. and Rudy Y. *A Dynamic Model of the Cardiac Ventricular Action Potential. I. Simulations of Ionic Currents and Concentration Changes. Circ Res* 1994; 74 (6): 1071-96.
- Luo C.H. and Rudy Y. *A Dynamic Model of the Cardiac Ventricular Action Potential. Ii. Afterdepolarizations, Triggered Activity, and Potentiation. Circ Res* 1994; 74 (6): 1097-113.
- Noble D. *The Initiation of the Heart Beat. Advancement of Science* 1966; 23 (114): 412-8.
- Rattay F. *Ways to Approximate Current-Distance Relations for Electrically Stimulated Fibers [Published Erratum Appears in J Theor Biol 1987 Oct 21;128(4):527]. J Theor.Biol.* 4-7-1987; 125 (3): 339-49.
- Sobie E.A., Susil R.C., Tung L. *A Generalized Activating Function for Predicting Virtual Electrodes in Cardiac Tissue. Biophysical Journal* 1997; 73 (3): 1410-23.
- Frazier D.W., Wolf P.D., Wharton J.M. et al. *Stimulus-Induced Critical Point. Mechanism for Electrical Initiation of Reentry in Normal Canine Myocardium. J.Clin.Invest.* 1989; 83 (3): 1039-52.
- Knisley S. B., Trayanova N., Aguel F. *Roles of Electric Field and Fiber Structure in Cardiac Electric Stimulation. Biophys.J* 1999; 77 (3): 1404-17.
- Optical mapping of cardiac excitation and arrhythmias. Armonk, NY: Futura Publishing; 2002.*
- Mason W.T. *Fluorescent and Luminescent Probes for Biological Activity: A practical Guide to Technology for Quantitative Real-Time Analysis. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1999.*
- Mason W.T., *Fluorescent and Luminescent Probes for*

- Biological Activity: A practical Guide to Technology for Quantitative Real-Time Analysis. San Diego: Academic Press; 1993.
29. Efimov I.R., Sidorov V.Y. Optical Mapping of the Cardiac Electrical Activity. *Kardiologiya* 2000; 40 (8): 38-52.
  30. Dillon S., Morad M.A. A New Laser Scanning System for Measuring Action Potential Propagation in the Heart. *Science* 1981; 214 (4519): 453-6.
  31. Efimov I.R., Huang D.T., Rendt J.M., Salama G. Optical Mapping of Repolarization and Refractoriness From Intact Hearts. *Circulation* 1994; 90 (3): 1469-80.
  32. Windisch H., Ahammer H., Schaffer P. et al. Optical Multisite Monitoring of Cell Excitation Phenomena in Isolated Cardiomyocytes. *Pflugers Archiv - European Journal of Physiology* 1995; 430 (4): 508-18.
  33. Nikolski V.P., Sambelashvili A.T., Efimov I.R. Mechanisms of Make and Break Excitation Revisited: Paradoxical Break Excitation During Diastolic Stimulation. *Am.J Physiol Heart Circ.Physiol* 2002; 282(2) :H565-H575.
  34. Efimov I.R., Cheng, Y.N., Biermann M., et al. Transmembrane Voltage Changes Produced by Real and Virtual Electrodes During Monophasic Defibrillation Shock Delivered by an Implantable Electrode. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 1997; 8: 1031-45.
  35. Sepulveda N.G., Roth B.J., Wikswo J.P. Current Injection into a Two-Dimensional Anisotropic Bidomain. *Biophysical Journal* 1989; 55 (5): 987-99.
  36. Latimer D.C. and Roth B.J. Effect of a Bath on the Epicardial Transmembrane Potential During Internal Defibrillation Shocks. *IEEE Trans.Biomed.Eng.* 1999; 46: 612-4.
  37. Wikswo J.P., Lin S.-F., Abbas, R. A. Virtual Electrodes in Cardiac Tissue: a Common Mechanism for Anodal and Cathodal Stimulation. *Biophysical Journal* 1995; 69: 2195-210.
  38. Neunlist M. and Tung L. Spatial Distribution of Cardiac Transmembrane Potentials Around an Extracellular Electrode: Dependence on Fiber Orientation. *Biophysical Journal* 1995; 68(6): 2310-22.
  39. Knisley S.B. Transmembrane Voltage Changes During Unipolar Stimulation of Rabbit Ventricle. *Circulation Research* 1995; 77 (6): 1229-39.
  40. Nikolski V., Efimov I.R. Virtual Electrode Polarization of Ventricular Epicardium During Bipolar Stimulation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000; 11 (5) :605.
  41. Henriquez C.S. Simulating the Electrical Behavior of Cardiac Muscle Using the Bidomain Model. *Crit Rev Biomed Eng* 1993; 21: 1-77.
  42. Patel S.G., Roth, B.J. How Electrode Size Affects the Electric Potential Distribution in Cardiac Tissue. *IEEE Trans.Biomed.Eng* 2000; 47 (9): 1284-7.
  43. Nikolski V.; Sambelashvili A.; Efimov I.R. Evidence of virtual electrode polarization during subthreshold stimuli. *Circulation* 104[17], II-4. 2001. Ref Type: Abstract
  44. Zhou X., Smith W.M., Rollins D.L., Ideker R.E. Transmembrane Potential Changes Caused by Shocks in Guinea Pig Papillary Muscle. *Am J Physiol* 1996; 271: H2536-46.
  45. Fast V.G., Rohr S., Ideker R.E. Nonlinear Changes of Transmembrane Potential Caused by Defibrillation Shocks in Strands of Cultured Myocytes. *Am.J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278 (3): H688-H697.
  46. Efimov I.R. A Shocking Experience: Ionic Modulation of Virtual Electrodes in Defibrillation. *Circulation Research* 9-15-2000; 87(6): 429-30.
  47. Hoffman B.F., Cranefield P.F. *Electrophysiology of the Heart*. New York: McGraw-Hill; 1960.
  48. Roth B.J. A Mathematical Model of Make and Break Electrical Stimulation of Cardiac Tissue by a Unipolar Anode or Cathode. *IEEE Trans Biomed Eng* 1995; 42 (12): 1174-84.