



Модели оценки новых противоаритмических препаратов

И.А. Илюшкина¹, А.Н. Берчатова^{1,2}, И.А.Дьяченко^{1,2}, Д.И. Ржевский^{1,2},
Г.А. Слащева^{1,2}, А.Н. Родионов^{1,2}, А.Н. Мурашев^{1,2}, В.А. Коршунов³

¹ — Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино

² — Пушкинский государственный естественный — научный институт, Пушкино

³ — Aab Cardiovascular Research Institute, University of Rochester School of Medicine & Dentistry, Rochester, NY, USA

Контактная информация: Дмитрий Иванович Ржевский rjevski@fibkh.serpukhov.su

В статье показаны 4 модели аритмии: адреналиновая, хлоридбариевая, хлоридкальциевая и аконитиновая. Данное сочетание моделей позволяет полноценно изучить широкий спектр противоаритмических препаратов и механизм их воздействия. Кроме того, в работе были подобраны основные параметры для изучения новых противоаритмических препаратов: было показано, что изучение графиков АД и ЭКГ, а также вариабельности периода сердечных сокращений — достаточная основа для первичного скрининга противоаритмических препаратов.

Ключевые слова: аритмия, АД, ЭКГ, вариабельность сердечных сокращений.

В эру глобализации, скорости, неопределенности и нестабильности жизни люди подвергаются все возрастающим нагрузкам и стрессу. Это неизбежно приводит к повышенному риску заболеваний сердечно-сосудистой системы. Аритмия до сих пор остается одной из основных причин заболеваемости и смертности. Аритмия — патологическая электрическая активность в сердечной мышце, которая может быть вызвана либо аномальным формированием, либо проведением электрического импульса, а также двумя этими причинами. Наиболее часто диагностируемые аритмии сопровождаются предсердной и/или желудочковой фибрилляцией [7]. Несмо-

тря на заметное снижение уровня смертности среди взрослого населения от заболеваний сердечно-сосудистой системы в течение последних 40–50 лет, они остаются наиболее распространенной причиной смерти в развивающихся странах [4]. Фибрилляция предсердий — одна из наиболее распространенных причин приступов аритмии среди взрослого населения, тогда как фибрилляция желудочков — основная причина внезапной коронарной смерти [2]. Противоаритмические препараты — первоочередная терапия для пациентов с пароксизмальной и хронической фибрилляцией предсердий. Предотвращение связанных с фибрилляцией предсердий

осложнений основывается на антитромботической терапии, контроле желудочкового ритма и адекватной терапии сопутствующих сердечных заболеваний. Однако доступная фармакологическая терапия имеет множество ограничений, среди которых недостаточная эффективность, как сердечная, так и внесердечная токсичность и риски проаритмических осложнений (антиаритмические агенты) и кровотечений (антикоагулянты). Таким образом, сохраняется постоянная потребность в новых лекарственных средствах, приборах и подходах для восстановления нормального сердечного ритма [6]. Антиаритмические препараты различаются по фармакологическим свойствам и механизмам действия, в связи с чем их делят на 4 класса [1, 8]. Т. к. неизвестно, к какому из классов относится новое соединение, то для адекватной оценки его антиаритмических свойств необходимо изучить антиаритмическую активность исследуемого препарата параллельно на нескольких моделях. Основными моделями аритмии, вызванной химическим путем, использованной в данной работе, были:

- *Аконитовая модель.* Аконитин модифицирует быстрые натриевые каналы в миокардиальных клетках. Если исследуемый препарат проявляет высокую активность на данной модели его относят к I классу антиаритмиков [1, 3].
- *Хлоридкальциевая модель.* Большие дозы кальция хлорида вызывают тяжелые нарушения сердечного ритма, заканчивающиеся обычно летальной фибрилляцией желудочков. На данной модели обычно проявляют активность соединения, относящиеся к I и IV классам антиаритмического действия [1].
- *Хлоридбариевая модель.* Хлорид бария угнетает кальциевую проводимость. Данная модель считается адекватной

для выявления веществ со свойствами класса III антиаритмического действия [1, 2].

- *Адреналиновая модель.* Быстрое внутривенное введение адреналина приводит к развитию желудочковой экстрасистолии и моно- или мультифокальной желудочковой тахикардии. Данная модель используется для отбора соединений со свойствами антиаритмиков II и IV классов [1, 5].

Материалы и методы

В данном эксперименте использовалось 60 самцов нелинейных крыс (Sprague Dawley) массой 400–500 г. Источник животных — НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН. Животные содержались в условиях вивария при постоянной температуре ($22 \pm 4^\circ\text{C}$) со стандартным свето-темновым циклом (12 ч свет / 12 ч темнота), с 10-ти-кратной сменой объема воздуха в комнате в час. Относительная влажность в комнате содержания животных составляла 30–70%. Корм и воду давали *ad libitum*. Животные содержались индивидуально в поликарбонатных клетках на подстиле; клетки были покрыты стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. В качестве подстила использовалась нехлорированная резаная автоклавированная бумага. Все процедуры с животными в исследовании были рассмотрены и утверждены институтской комиссией по уходу и использованию животных (IACUC) на предмет соответствия этическим принципам обращения с животными. Исследовательская организация отвечала требованиям утвержденного протокола исследования и стандартным операционным процедурам (СОП) лаборатории. Животные анестезировались (смесью кетамин + ксилазин

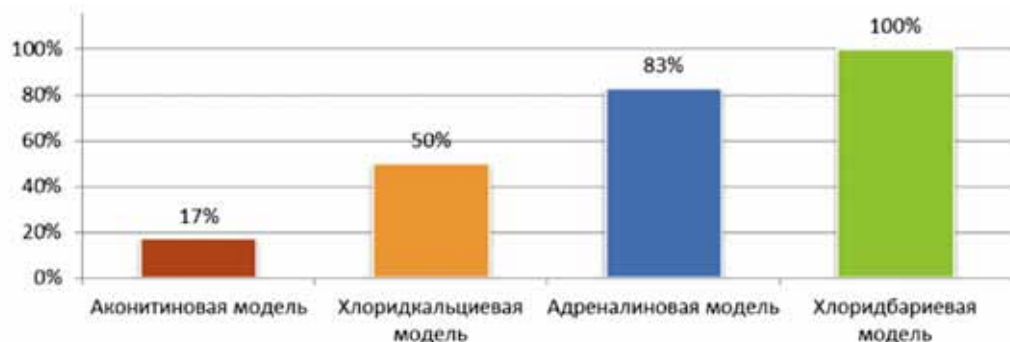


Рис. 1. Количество животных, выживших в эксперименте при различных видах аритмии (%).

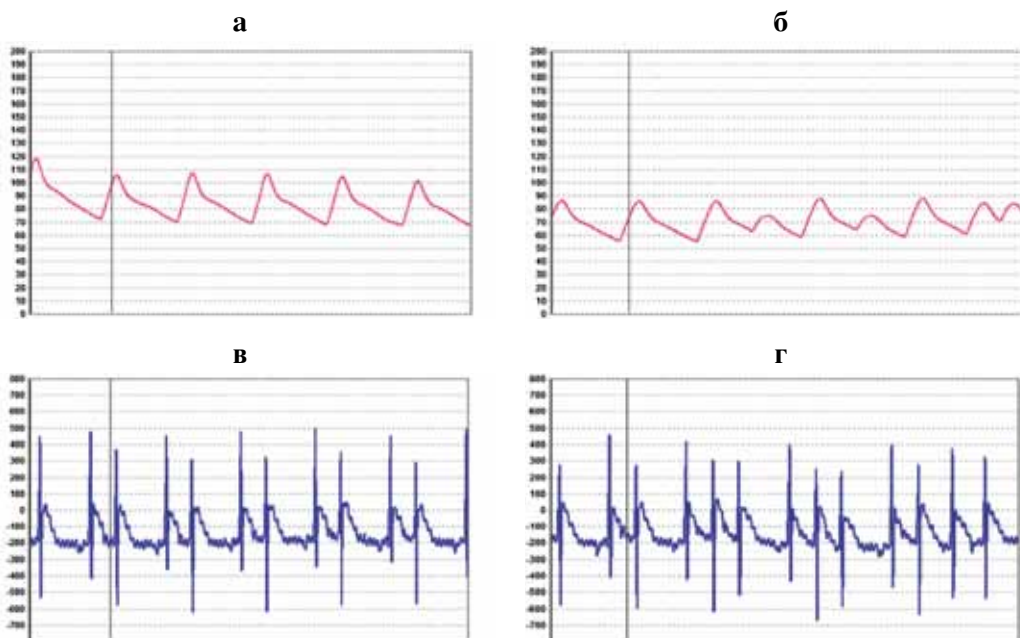


Рис. 2. Модель аритмии, развивающейся (на фоне) после введения аконитина:

- а — электрическая активность в миокарде в отсутствие механического сокращения (электрическая экстрасистолия) на кривой АД;
- б — экстрасистолия смешанного типа на кривой АД. Переход от аллоритмии к залповой экстрасистолии;
- в — электрическая активность в миокарде в отсутствие механического сокращения (электрическая экстрасистолия) на ЭКГ;
- г — экстрасистолия смешанного типа на ЭКГ. Переход от аллоритмии к залповой экстрасистолии.

(30–80 мг/кг + 5–10 мг/кг)) и подвергались операции по катетеризации яремной вены (для введения исследуемых веществ) и общей сонной артерии (для регистрации артериального давления и частоты сердечных сокращений), а также установке электродов в первом стандартном отведении. После проведения операции крысам вводили один из аритмогенных агентов (адреналин — 0,3 мг/кг, аконитин — 0,04 мг/кг, кальция хлорид — 65 мг/кг или бария хлорид — 8 мг/кг) в хвостовую вену и осуществляли регистрацию частоты сердечных сокращений (ЧСС) и электрокардиограммы (ЭКГ). Регистрация осуществлялась прямым методом при помощи установки «NemoDynamics»

в течение 2 ч после введения аритмогена, также регистрировалась смертность животных.

Результаты и их обсуждение

Выживаемость животных в эксперименте — важный показатель для оценки адекватности любой модели. Нами было выявлено, что аконитин вызывает наиболее сильные нарушения сердечного ритма, и здесь наблюдаются самая низкая выживаемость животных (17%). Более щадящими моделями оказались хлоридкальциевая и адреналиновая модели (50% и 83% соответственно). Самая высокая выживаемость (100%) была в хлоридбариевой модели (рис. 1). Помимо выживаемости

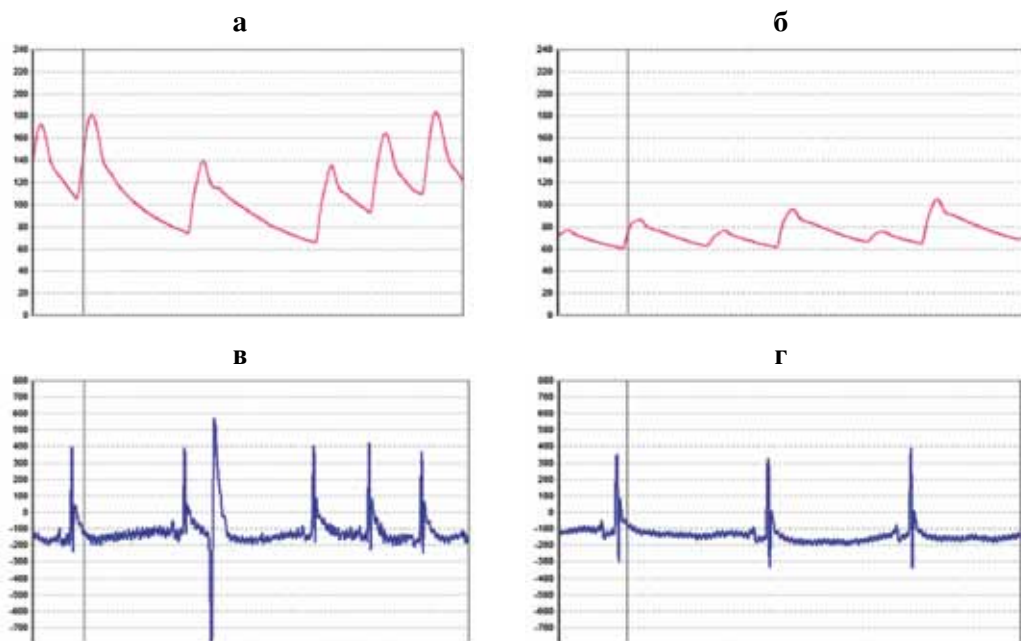


Рис. 3. Модель аритмии, возникающей после введения хлорида кальция:

- а — желудочковая экстрасистола на кривой АД;
- б — разобщенность в появлении электрических импульсов и механических ответов на кривой АД;
- в — желудочковая экстрасистола на ЭКГ;
- г — разобщенность в появлении электрических импульсов и механических ответов на ЭКГ.

животных, особое внимание уделялось патологическим нарушениям сердечного ритма на графиках АД и ЭКГ, которые были вызваны аритмогенными агентами. Для аконитина (рис. 2) характерна поли-топная экстрасистолия. Интересно проследить за тем, как она развивается: на первом этапе возникает электрическая экстрасистола, попадающая на рефрактерный период предыдущего цикла, из-за чего не возникает механического ответа. Далее количество экстрасистол растет, и после второго преждевременного электрического импульса уже появляется механический ответ (сердечная мышца сокращается). Затем экстрасистолия принимает залповый характер и может переходить в желудочковую тахикардию, что обычно заканчивается летально.

Хлорид кальция (рис. 3) вызывает брадикардию с желудочковыми экстрасистолами, которая может переходить затем в желудочковую тахикардию и при больших дозах заканчиваться фибрилляцией желудочков. Кроме того, нами было замечено, что хлорид кальция вносит некоторую разобщенность между электрическими импульсами и механическими сокращениями сердечной мышцы. Возникновение второго (неполноценного) сокращения, по-видимому, обусловлено механизмом действия кальция на миокард. Он, с одной стороны, оказывает прямой эффект на мембрану кардиомиоцитов, приводя к сдвигу влево кривой соотношения макс. скорости деполяризации и мембранного потенциала и увеличивая таким образом

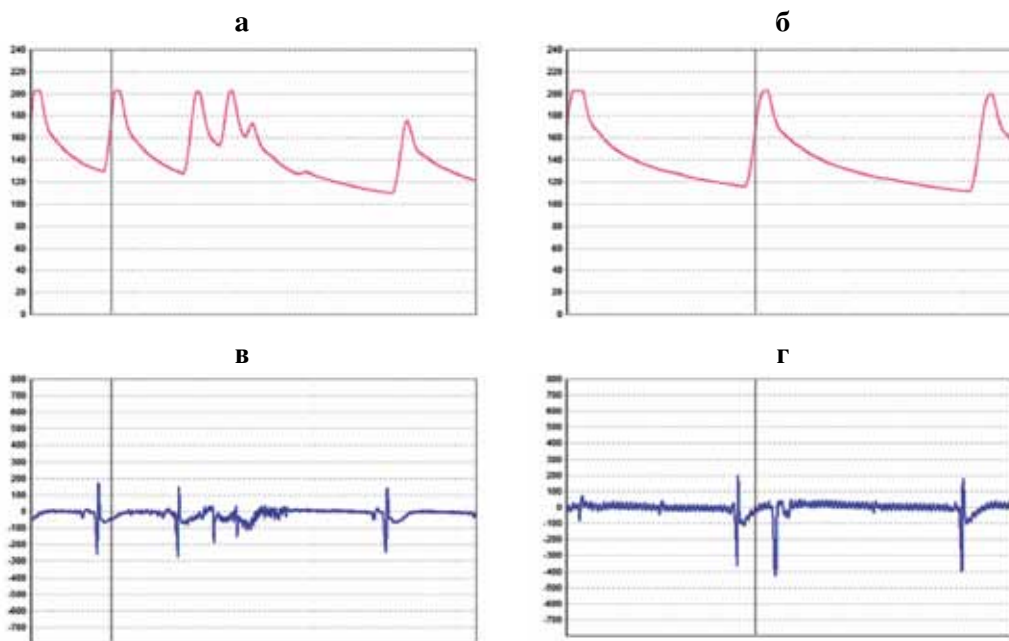


Рис. 4. Модель аритмии, возникающей после введения адреналина:

- а — экстрасистолия (двух- и трехгорбые графики) на кривой АД;
- б — желудочковая экстрасистолия на кривой АД в сочетании с атриовентрикулярной блокадой;
- в — экстрасистолия (двух- и трехгорбые графики) на ЭКГ;
- г — желудочковая экстрасистолия на ЭКГ в сочетании с атриовентрикулярной блокадой.

натриевую проводимость и процессы реактивации натриевых каналов, а с другой стороны, под влиянием больших доз хлорида кальция развивается асинхронизация восстановления возбудимости различных миокардиальных волокон. В добавление к прямому действию, хлорид кальция опосредованно путем активации симпатических влияний действует на миокард.

Для адреналина (рис. 4) характерно развитие желудочковых экстрасистол, после которых могут возникать неполноценные механические ответы (двух- или трехгорбые графики АД) и тахикардия.

После введения хлорида бария (рис. 5) развивается многофокальная аритмия с желудочковой экстрасистолией. Помимо изучения патологических изменений АД

и ЭКГ при введении различных аритмогенов, аритмия оценивалась качественно, путем подсчета эпизодов грубых нарушений сердечного ритма. Для количественной оценки была высчитана вариабельность периода сердечных сокращений. За вариабельность приняли стандартное отклонение различного числа циклов для исходного состояния и после введения одного из 4-х аритмогенных агентов. Данные о вариабельности сердечных сокращений представлены на рис. 6. Наибольшая вариабельность встречается в группе аконитиновой модели. Из диаграммы видно, что в адреналиновой и хлоридкальциевой моделях она ниже, и самая низкая — в хлоридбариевой. Эти данные коррелируют с данными о выживаемости животных в эксперименте.

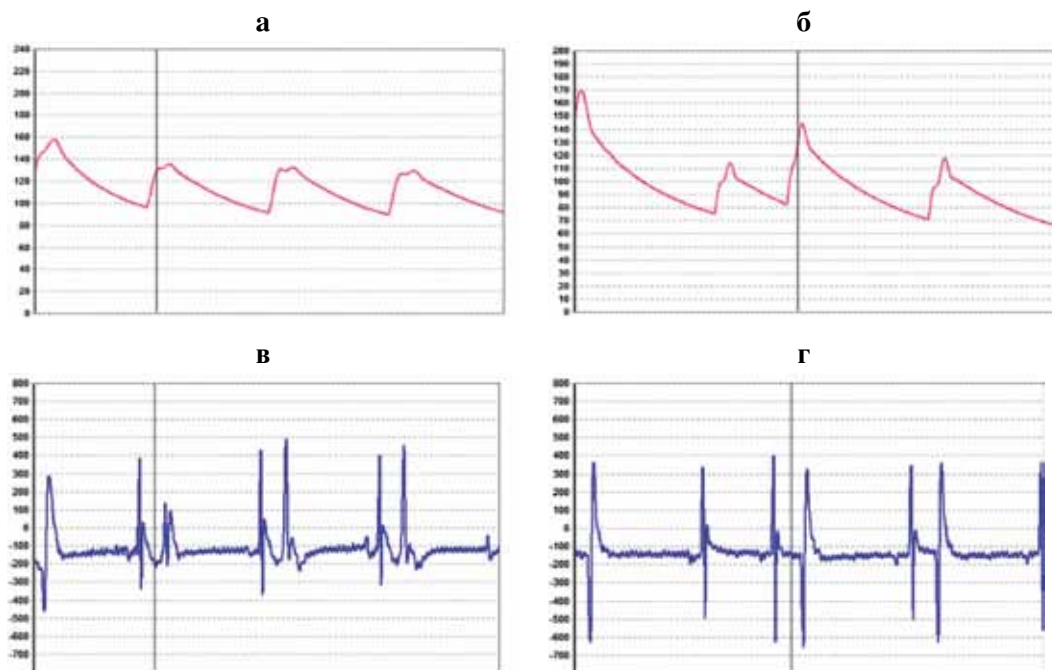


Рис. 5. Модель аритмии, возникающей после введения хлорида бария:

- а — полиморфная экстрасистолия на кривой АД;
- б — многофокальная аритмия с желудочковой экстрасистолией на кривой АД;
- в — полиморфная экстрасистолия на ЭКГ;
- г — многофокальная аритмия с желудочковой экстрасистолией на ЭКГ.

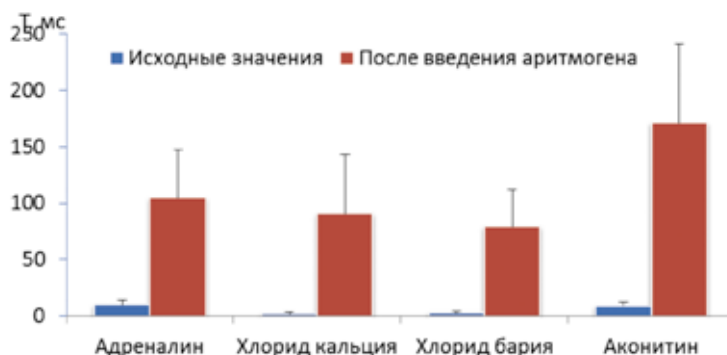


Рис. 6. Вариабельность периода сердечных сокращений.

Вывод

Нами было изучены 4 различных модели аритмии: адреналиновая, хлоридбариевая, хлоридкальциевая и аконитиновая. Данное сочетание моделей позволяет полноценно изучить широкий спектр противоаритмических препаратов и механизм их воздействия. Кроме того, в работе были подобраны основные необходимые параметры для изучения, обеспечивающие адекватное исследование новых противоаритмических препаратов: было показано, что изучение графиков АД и ЭКГ, а также вариабельности периода сердечных сокращений — достаточная основа для первичного скрининга противоаритмических препаратов.

Работа выполнена в рамках проекта «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы по Государственному контракту № 14.740.11.0923.

Список литературы

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под ред.

Хабриева Р.У. Медицина. 2005.

2. Antiarrhythmic and antioxidant activity of novel pyrrolidin-2-one derivatives with adrenolytic properties. Jacek Sapa, Alicja Nowaczyk, Katarzyna Kulig Naunyn-Schmied Arch Pharmacol. 2011.
3. **Grippe A.J., Johnson A.K.** Stress, depression, and cardiovascular dysregulation: A review of neurobiological mechanisms and the integration of research from preclinical disease models // Stress. 2009. 12(1): 1–21.
4. **Huikuri H.V., Castellanos A., Myerburg R.J.** Sudden death due to cardiac arrhythmias // N Engl J Med. 2001. Vol. 345. No. 20.
5. **Liu N., Denegr M., Ruan Y., Avelino-Cruz J.E., Perissi A., Negri P.A., Napolitano C., Coetzee W.A., Boyden P.A., Silvia G.** Short Communication: Flecainide Exerts an Antiarrhythmic Effect in a Mouse Model of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia by Increasing the Threshold for Triggered Activity. Circulation Research. 2011.

6. *Luc`a F., La Meir M., Rao C.M., Parise O., Vasquez L., Carella R., Lorusso R., Daniela B., Maessen J., Gensini G.F., Gelsomino S.* Pharmacological Management of Atrial Fibrillation: One, None, One Hundred Thousand // *Cardiology Research and Practice*. 2011.
7. *Markides V., Schilling R.J.* Atrial fibrillation: Classification, pathophysiology, mechanisms and drug treatment // *Heart*. 2003;89:939–943.
8. *Walker M.J.A.* Antiarrhythmic drug research // *British Journal of Pharmacology*. 2006. 147. S222–S231.

Model evaluation of new antiarrhythmic drugs

**I.A. Ilushkina, A.N. Berchatova, I.A. Dyachenko, D.I. Rzhevsky,
G.A. Slascheva, A.N. Rodionov, A.N. Murashev, V.A. Korshunov**

This article shows 4 models of arrhythmias: adrenaline, barium chloride, calcium chloride and aconitine. This combination of models allows to fully explore the wide range of antiarrhythmic drugs and to study the mechanism of their effects. In addition, in the main parameters for study of new antiarrhythmic drugs were selected: it has been shown that the study of blood pressure and ECG-charts, as well as variability in heart rate period — sufficient basis for primary screening of antiarrhythmic drugs.

Key words: arrhythmia, blood pressure, ECG, heart rate variability.