



УКРАЇНА

(19) UA (11) 12154 (13) U  
(51) МПК (2006)  
A61B 10/00  
G09B 23/28 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛЮВАННЯ АРИТМІЙ СЕРЦЯ

1

2

(21) u200507877

(22) 08.08.2005

(24) 16.01.2006

(46) 16.01.2006, Бюл. № 1, 2006 р.

(72) Мороз Василь Максимович, Липницький Тарас  
Миколайович, Клеток Олександра Олексіївна

(73) ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І.ПИРОГОВА

(57) Спосіб експериментального моделювання аритмій серця, що включає активацію повільних кальцієвих каналів кофеїном та підвищення концентрації кальцію в плазмі крові, який **відрізняється** тим, що перед внутрішнім введенням кофеїну швидкі натрієві канали блокують етацизином (1 мг/кг).

Корисна модель належить до медицини, зокрема до кардіології, і стосується доклінічного дослідження ефективності антиаритмічних препаратів.

Об'єктивність результатів доклінічного дослідження ефективності нових антиаритмічних препаратів в значній мірі залежить від використання науково обґрунтованої експериментальної моделі аритмій серця, для ініціації яких застосовуються кардіотоксини з високим спорідненням до певних іонних каналів або рецепторів серцевих міоцитів. В експериментальній кардіології кардіотоксини з селективною дією на окремі іонні канали використовуються також для тонкого фармакологічного аналізу патогенних механізмів виникнення аритмій серця. Так, для активації натрієвих каналів та провокації  $\text{Na}^+$ -залежних аритмій серця у експериментальних тварин широко використовуються аконітин і вератрин, а для блокади натрієвих каналів - тетродотоксин. Специфічних активаторів сарколемальних кальцієвих каналів немає, але широко застосовуються верапаміл та ділтиазем, які надійно блокують їх функцію.

У відповідності з концепцією «Сицилійського гамбіту», найбільш поширеним патогенетичним механізмом формування ектопічних аритмій серця вважається циркуляція хвилі збудження (re-entry), яка може бути залежною від  $\text{Na}^+$ - або  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів клітинної мембрани. Очевидно, що ефективність антиаритмічних засобів слід оцінювати в залежності від іонної основи порушень ритму серця, що не завжди враховується в експериментальних дослідженнях і може бути причиною помилкових висновків. Отже, при доклінічному дослідженні

антиаритмічних препаратів раціонально використовувати таку експериментальну модель аритмій серця, в якій заздалегідь точно визначений іонний тип формування аритмій серця, виникаючий під впливом апробованих доз аритмогенного кардіотоксину або високих доз біологічно активних катіонів ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ).

В клінічних умовах не виключена також можливість ятрогенної дисфункції іонних каналів, оскільки немає доступних клінічних методів визначення патологічне активованих іонних каналів. Відомо, що індивідуальний вибір антиаритмічного препарату для хворого проводиться по емпіричному принципу, тобто по методу „проб і помилок“, що часто призводить до фармакологічної блокади іонних каналів, які „неповинні“ в появі аритмій серця. На практиці це проявляється або неефективністю терапії аритмій серця, або небезпечними аритмогенними ефектами.

При локальні гіпополяризації мембран у хворих з гострими коронарними синдромами в першу чергу активуються швидкі  $\text{Na}^+$ -канали, що призводить до появи  $\text{Na}^+$ -залежних порушень ритму серця. Якщо при них призначити антиаритмічні засоби, які блокують  $\text{Ca}^{2+}$ -канали, виникає внутріклітинний дисбаланс іонів з високою концентрацією іонів  $\text{Na}^+$ . Експериментальні дослідження на тваринах підтвердили, що при такому іонному дисбалансі виникають „агресивні“ форми аритмій серця, які в більшості випадків призводять до смерті тварин. Отже, для ефективного та безпечного лікування порушень ритму серця необхідно застосовувати принцип диференційованого лікування аритмій в залежності від того, які іонні канали па-

(19) UA (11) 12154 (13) U

тологічне активовані та які з них необхідно блокувати антиаритмічними препаратами.

Очевидно, що для експериментального дослідження ефективності блокаторів кальцієвих каналів необхідна така модель аритмії серця, при якій активуються тільки повільні кальцієві канали мембран, а натрієві канали не приймають участі в процесі аритмогенезу.

Відомий класичний спосіб моделювання  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних аритмій серця, який застосовується до теперішнього часу [Н.В.Каверина, З.П.Сенова. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых в качестве средств для профилактики и лечения нарушенного ритма сердца. - М.: МЗ. - 1981. - С.71], полягає в тому, що тварині внутрішньовенно вводять 10% розчин хлориду кальцію в дозі 200-250 мг/кг на протязі 2-х секунд. Раптове підвищення концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в плазмі крові призводить до звільнення великої кількості катехоламінів з клітин симпатичної нервової системи та підвищення чутливості до них адрено-рецепторів міокарду. При цьому активується аденилатциклаза, що сприяє синтезу цАМФ та активації кальцієвих каналів сарколеми. Підвищення цитозольної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  призводить або до порушення провідності імпульсів, або до появи  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних аритмій серця (політопної екстрасистоїї, «пірует»-тахікардії та ін.). Але концентрація іонів  $\text{Ca}^{2+}$  через декілька хвилин стає нормальною, і тому ініційовані аритмії серця продовжуються лише 1-2хв., після чого спонтанно відновлюється правильний синусовий ритм. При збільшенні дози хлориду кальцію виникає фібриляція шлуночків серця і/або асистолія. Отже, недоліком способу слід вважати короткочасність перебігу аритмій, що унеможливило дослідження лікувальних властивостей антиаритмічних препаратів. Відтак хлоридкальцієва модель аритмій використовується лише для дослідження попереджувальної (профілактичної) дії антиаритмічних засобів, які вводять тваринам до внутрішньовенної інфузії хлориду кальцію. Крім того, можливість провокації аритмій та їх патогенетична форма в значеній мірі залежить від швидкості внутрішньовенних вливань розчину хлориду кальцію: повільна інфузія не провокує аритмію серця, а надто швидко - блискавично ініціює фібриляцію шлуночків або асистолію, що значно затрудняє оцінку результатів експерименту та її об'єктивність. Ще одним суттєвим недоліком кальцієвої моделі аритмій є одночасна активація і натрієвих каналів, про що свідчить антиаритмічна ефективність блокаторів натрієвих каналів (наприклад, новокаїнамід).

В основу корисної моделі «Спосіб експериментального моделювання аритмій серця» поставлене завдання створити  $\text{Ca}^{2+}$ -залежну аритмію шляхом внутрішньовенного введення фармакологічних засобів, які блокують натрієві канали та активують кальцієві канали. Поставлене завдання здійснюється шляхом попереднього введення в черевну порожнину 10% розчину хлориду кальцію з метою підвищення концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в плазмі крові та міжклітинній рідині. Через 3-4хв. блокують сарколемальні натрієві канали шляхом внутрішньовенного

введення етацизину, а через 2 хв. в вену повільно вводять розчин кофеїну-бензоат натрію (300 мг/кг) з метою активації повільних кальцієвих каналів плазматичних мембран та  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів саркоплазматичного ретикулулу. ЕКГ реєструють безперервно до нормалізації синусового ритму. Таким чином, при підвищеній концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в крові швидкі натрієві канали блокуються етацизином, що суттєво зменшує цитозольну концентрацію іонів  $\text{Na}^+$ , після чого введений кофеїн активує повільні  $\text{Ca}^{2+}$ -канали плазматичних мембран, а також вихід кальцію із саркоплазматичного ретикулулу. Очевидно, що в клітинах раптово підвищується вміст іонів  $\text{Ca}^{2+}$  при відносно низькій концентрації іонів  $\text{Na}^+$ , що призводить до внутріклітинного іонного дисбалансу та ініціює порушення ритму серця.

Спосіб здійснюється таким чином: експериментальну тварину наркотизують нембуталом (35 мг/кг в черевну порожнину), фіксують і реєструють ЕКГ в 2-му відведенні від кінцівок, після чого в черевну порожнину вводять 10% розчин хлориду кальцію в дозі 500 мг/кг. Через 3хв. в стегнову вену поступово вводять 0,25% розчин етацизину в дозі 1 мг/кг до появи на ЕКГ ознак внутрішньолуночкової блокади (збільшення тривалості комплексу QRS). Через 1хв. реєструють ЕКГ, і в вену повільно вводять 20% розчин кофеїну-бензоат натрію в дозі 300 мг/кг. При прискореній інфузії розчину кофеїну у тварин з'являються судоми і можлива раптова смерть. При цьому у всіх щурів виникають короточасні АВ-блокади II-III ступеню та екстрасистолічна аритмія серця, яка періодично переходить в епізоди шлуночкової тахікардії. Розчин досліджуваних антиаритмічних препаратів вводять в вену через 1хв. після реєстрації порушень ритму серця. Після інфузії антиаритмічного препарату постійно реєструють ЕКГ на протязі 2-3хв. або до відновлення стійкого синусового ритму.

Безперечним доказом появи  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних аритмій є висока антиаритмічна ефективність верапамілу при абсолютній неефективності блокаторів натрієвих каналів. При умові точного дозування аритмогенних препаратів порушення ритму серця реєструються на протязі 7-10хв. Після внутрішньовенного введення верапамілу аритмії серця купуються та відновлюється синусовий ритм через 1хв., що свідчить про можливість застосування моделі аритмій для лікування аритмій серця (на відміну від хлоридкальцієвої аритмії).

Приклад. Наркотизованому розчином нембуталату (35 мг/кг вводиться в черевну порожнину) щурові вагою 200 г після реєстрації ЕКГ в II відведенні від кінцівок в черевну порожнину введено 1 мл 10% розчину хлориду кальцію. Через 3хв. на ЕКГ зареєстровані високі зубці Т з гострою верхівкою. На 4хв. в стегнову вену введено 0,2 мл 0,25% розчину етацизину. Через 1хв. на ЕКГ зареєстрована брадикардія і поширення комплексу QRS (до 0,06с при 0,03с на вихідній ЕКГ), що обумовлено внутрішньолуночковою блокадою. Наявність блокади свідчить про надійну блокаду натрієвих каналів. Через 2хв. в вену повільно введено 0,3 мл 20% розчину кофеїну-бензоату натрію, після чого синусова брадикардія зменшується, ширина комплексу QRS не змінюється. Через 1хв. на ЕКГ зареєстро-

вана повна АВ-блокада, на фоні якої появилась групова екстрасистолічна аритмія з короткими епізодами шлуночкової тахікардії. негайно проведена інфузія 0,2мл 0,025% розчину верапамілу. Через 1хв. відновився синусовий ритм без ектопічних аритмій серця. На ЕКГ зареєстрована лише синусова брадикардія та АВ-блокада I ст. На протязі 10хв. експерименту зберігався синусовий ритм і АВ-блокада I ступеню, що характерно для сумачії

фармакологічних ефектів етацизину та верапамілу.

Спосіб експериментального моделювання  $Ca^{2+}$ -залежних аритмій серця простий, відтворюється у 95% тварин і може застосовуватись для оцінки антиаритмічної ефективності антагоністів кальцію та інших лікарських засобів. Спосіб рекомендується для практичного використання в лабораторіях експериментальної кардіології.