



УКРАЇНА

(19) UA (11) 12157 (13) U  
(51) МПК (2006)  
A61B 17/94

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

### ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

#### (54) СПОСІБ МОДУЛЯЦІЇ РЕПОЛЯРИЗАЦІЇ МЕМБРАН ТА ПОТЕНЦІАЛУ СПОКОЮ КАРДІОМІОЦИТІВ

1

2

(21) u200507882

(22) 08.08.2005

(24) 16.01.2006

(46) 16.01.2006, Бюл. № 1, 2006 р.

(72) Мороз Василь Максимович, Липницький Тарас  
Миколайович

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

(57) Спосіб модуляції реполяризації мембран та потенціалу спокою кардіоміоцитів, що включає корекцію електролітного складу крові та гіпополяризацію клітинних мембран, який відрізняється тим, що внутрішньовенно вводять розчин хлориду кальцію в загальноприйнятих дозах.

Корисна модель відноситься до медицини, зокрема до кардіології, і стосується кардіопротекторних засобів.

Ритмічна електрична активність серця обумовлена циклічними змінами мембранного потенціалу клітин міокарду внаслідок періодичної зміни трансмембранних потоків іонів  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$ , що визначає ефективні ритмічні скорочення серця. Як і в інших спонтанно збудливих клітинах, потенціал спокою кардіоміоцитів визначається градієнтом концентрації іонів  $\text{K}^+$  в цитозолі клітин і в міжклітинній рідині, а раптова зміна потенціалу в фазу деполяризації залежить від градієнту концентрації іонів  $\text{Na}^+$ .

При патологічних станах трансмембранна крива потенціалу дії в фазу деполяризації (фаза 0) в більшості випадків змінюється мало, в той же час процес реполяризації (фази 1 та 3) надзвичайно вразливий до різних змін внутрішньо- і позаклітинних концентрацій вказаних вище катіонів. Особливе значення мають тривалість і форма кривої потенціалу дії в фазу 3, оскільки в кінцеву фазу реполяризації формується крива потенціалу спокою, що має пряме відношення до збудливості кардіоміоцитів, активації ектопічного аномального автоматизму та провідності імпульсів, а відтак до виникнення аритмій і блокад серця.

У відповідності з класичними основами електрофізіології серця кінцева фаза реполяризації (фаза 3) формується внаслідок виходу із клітин іонів  $\text{K}^+$ , внаслідок чого в цитозолі клітин накопичується певну величину від'ємного заряду (-80 - -95 мВ) за рахунок багатоміанних аніонів та білків. Отже, в кінцевій фазі реполяризації формується потенціал спокою клітини, причому величина його

від'ємного значення має великий вплив на виникнення наступної деполяризації клітин міокарду. Якщо іонів  $\text{K}^+$  виходить з клітини в недостатній кількості (наприклад, при гіперкаліємії в ділянці ішемізованого міокарду), величина від'ємного заряду клітини зменшується, виникає гіпополяризація мембрани, а при заряді -60 мВ активуються швидкі натрієві канали і спонтанно виникає депольаризація, що у хворих проявляється екстрасистолічною аритмією або іншими порушеннями ритму. При зменшенні заряду в цитозолі кардіоміоцитів до -40 - -30 мВ активуються повільні кальцієві канали сарколеми, в клітинах провідної системи на ділянці Гіса-Пуркіньє швидка Надпровідність змінюється на повільну  $\text{Ca}^{2+}$ - провідність імпульсів, що проявляється появою вогнищ re-entry або/та блокадами серця.

Таким чином, при порушенні процесу реполяризації виникає внутріклітинний дисбаланс іонів, при якому в клітині залишається значна кількість позитивних іонів  $\text{K}^+$ , що призводить до появи гіпополяризації плазматичної мембрани та аритмій серця. Відомо, що раптова аритмічна смерть хворих ІХС може виникати при місцевій гіперкаліємії та гіпополяризації мембран, внаслідок чого розвивається внутріклітинний дисбаланс іонів та формується декілька вогнищ аритмогенезу по механізму re-entry. При внутрішньовенному введенні високих доз препаратів калію виникають крайні ступені гіпополяризації клітинних мембран, при яких інактивуються і натрієві та кальцієві канали, що призводить до кардіоплегії, яку використовують кардіохірурги при необхідності тимчасово зупинити роботу серця.

Відомо, що для корекції іонних механізмів ре-

UA (19) 12157 (11) 12157 (13) U

поляризації та внутріклітинного дисбалансу іонів використовуються активатори калієвих каналів сарколеми [Батушкін В.В. "Медикаментозна лікування життєнебезпечних аритмій: чи є альтернатива". Клінічна фармакологія, фізіологія, біохімія. Новітні досягнення в кардіології.- 1998.- №2.- С. 188-195], які прискорюють і збільшують вихід іонів  $K^+$  з кардіоміоцитів. Таким чином, зменшується ступінь гіпополяризації клітин, що нормалізує рівень їх від'ємного заряду та ритм серця. Недоліком активаторів калієвих каналів (дофетиліду, сема-тиліду, алмокалату) є недостатня антиаритмічна ефективність і значна кількість побічних ефектів, в зв'язку з чим активатори калієвих каналів не знайшли широкого застосування в клінічній практиці.

В основу корисної моделі «Спосіб модуляції реполяризації та потенціалу спокою кардіоміоцитів» поставлене завдання винайти фармакологічний препарат, який може зменшити ступінь гіпополяризації клітинних мембран та нормалізувати від'ємне значення потенціалу спокою. Поставлене завдання, згідно з винаходом, вирішується тим, що в якості модуляторів процесу реполяризації мембран використовуються препарати кальцію, які підвищують цитозольну концентрацію іонів  $Ca^{2+}$  та збільшують їх позитивні трансмембранні токи в кінцевій фазі реполяризації, зменшуючи ступінь гіпополяризації мембран.

Спосіб здійснюється таким чином: експериме-

нтальну тварину наркотизують нембуталом (40мг/кг в черевну порожнину), фіксують і реєструють ЕКГ в II відведенні від кінцівок, після чого в стегнову вену вводять мінімальну аритмогенну дозу хлориду калію, яка ініціює гіпополяризацію мембран і порушення ритму серця. Така доза хлориду калію визначена заздалегідь і для щурів складає 15мг/кг, яку вводять в вену в 1,5% розчині на протязі 2с. Аритмії серця реєструють на ЕКГ безперервно до повної нормалізації синусового ритму. Через 5хв. після нормалізації ритму серця тваринні внутрішнє повільно вводять 5% розчин хлориду кальцію в дозі 100мг/кг, а через 0,5хв. - мінімальну аритмогенну дозу хлориду калію, реєструючи безперервно ЕКГ. При цьому записується нормальний ритм серця без порушення ритму, що свідчить про відсутність гіпополяризації без порушення ритму, що свідчить про відсутність гіпополяризації мембран, незважаючи на інфузію аритмогенної дози хлориду калію.

Участь іонів  $Ca^{2+}$  в формуванні кінцевої фази реполяризації та їх вплив на гіпополяризацію мембран і ритм серця досліджена нами в експериментах на 45 лабораторних щурах, у яких гіпополяризацію мембран кардіоміоцитів і порушення ритму серця моделювали внутрішнім болюсним введенням 1,5% розчину хлориду калію в мінімальних аритмогенних дозах. Результати експериментів приведені в таблиці.

Таблиця

Результати дослідження антиаритмічної ефективності хлориду кальцію при гіперкаліємії

№№ Груп	Фарм. препарати та їх дози	n	Порушення ритму серця				
			АВ-I-II	АВ-III	Внутрішл. блокади	Шлун.ЕА	Кардіоплегія
1	Контрольна гр.	5	-	-	-	-	-
2	KCl 1,5%розч. 15мг/кг	10	3 (30±6%)	5 (50±8%)	10 (100%)	8 (80%)	-
3	KCl 1,5% 15мг/кг CaCl <sub>2</sub> 2,5% розч. 25мг/кг	10	2* (20±5%)	-	-	-	-
4	Верапаміл 0,025% 1,5мг/кг KCl 1,5% 15мг/кг	10	3** (30±6%)	7 (70±9%)	10 (100%)	9 (90±10%)	6 (60±8%)
5	CaCl <sub>2</sub> 5% 50мг/кг (попередження АС) KCl 1,5% 15мг/кг	10	3 (30±6%)	-	1 (10±3%)	-	-

Умовні позначення: АВ-I-II - атріовентрикулярні блокади I-II степеню; АВ- III -III - атріовентрикулярні блокади III ст.; Шлун.ЕА - шлуночкова екстрасистолічна аритмія; \* -  $p < 0,05$  в порівнянні з 2-ю групою; \*\* -  $p < 0,05$  в порівнянні з 3-ю групою.

Аналіз результатів досліджень показує, що в контрольній групі тварин внутрішнє болюсне введення 1мл фізіологічного розчину не змінило ритм серця та форму ЕКГ. У щурів 2-ї групи мінімальна аритмогенна доза хлориду калію ініціювала порушення серцевого ритму в 80% та порушення провідності в 100% тварин. Коли до аритмогенної дози хлориду калію прибавили розчин хлориду кальцію, у тварин 3-ї групи АВ-

блокади були зареєстровані лише в 20% щурів при збереженні синусового ритму у всіх 10 тварин, тобто гіпополяризація мембран не появилася. Але після блокади повільних кальцієвих каналів верапамілом (4-та група щурів) мінімальна аритмогенна доза хлориду калію визвала не тільки важкі порушення ритму та провідності практично у всіх 10 тварин, а і кардіоплегію, причому зупинка роботи серця продовжувалася 3-5с. Очевидно, що при

недостатній концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в кардіоміоцитах розвивається гіпополяризація мембран, настає короткочасна інактивація натрієвих і кальцієвих каналів, що унеможлиблює деполяризацію клітин. У щурів 5-ї групи профілактичне введення хлориду кальцію попередило порушення ритму в 70% експериментальних тварин.

Участь іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в реполяризації мембран і в формуванні потенціалу спокою підтверджують такі факти: а) підвищення внутріклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  запобігає виникненню порушень провідності та ритму серця при введенні аритмогенних доз хлориду калію; б) одночасне введення хлориду кальцію та хлориду калію в аритмогенній дозі не призводить до появи аритмій та блокад серця; в) блокада кальцієвих каналів сарколеми верапамілом підвищує аритмогенні ефекти гіперкаліємії.

Відомо також, що в кінці фази 3 реполяризації починають інтенсивно функціювати енергозалежні  $\text{Ca}^{2+}$  (АТФ)-канали, через які іони  $\text{Ca}^{2+}$  виводяться з клітини проти концентраційного градієнту. Отже, іони  $\text{Ca}^{2+}$  виводяться із клітин в кінцевій фазі реполяризації, причому з кожним іоном з кардіоміоцитів виводиться два позитивних заряди, що не може не вплинути на поляризації клітинних мембран і на від'ємному значенні потенціалу спокою, а відтак і на ритмі серця.

Приклад. Наркотизованому нембуталом

(35мг/кг в черевну порожнину) щурів вагою 200г після реєстрації вихідної ЕКГ в II відведенні в стенову вену введено 0,2мл 1,5% розчину хлориду калію за 2с, тобто мінімальна аритмогенна доза препарату. На ЕКГ через 4с виникла повна АВ-блокада, на фоні якої зареєстрована групова екстрасистолічна аритмія. Через 5с відновився синусовий ритм з екстрасистолією, яка ще реєструвалась на протязі 8с. Через 5хв. після відновлення правильного синусового ритму в вену повільно введено 0,4мл 5% розчину хлориду кальцію, після чого на ЕКГ зареєстровано поширення комплексу QRS (до 0,05с при 0,03с на вихідній ЕКГ), ритм серця не змінився. Через 30с в вену болюсно введено 0,2мл 1,5% розчину хлориду калію. Безперервна реєстрація ЕКГ не виявила порушення провідності та ритму серця. Результати експерименту: інфузія хлориду кальцію тварині попередила порушення ритму серця при введенні аритмогенної дози хлориду калію внаслідок модуляції іонного механізму кінцевої фази реполяризації мембран і формування нормального від'ємного значення потенціалу спокою серцевих міоцитів.

В клінічних умовах застосування препаратів кальцію може попереджувати порушення провідності та ритму серця при нирковій недостатності, при передозуванні препаратів калію та при інших причинах гіпополяризації мембран.