

Изучение противофибрилляторной активности соединения ЛМГ-124 и лаппаконитина гидробромида на модели реперфузионных аритмий у крыс

Столярук В.Н.¹, Цорин И.Б.¹, Вититнова М.Б.¹, Гусев В.П.¹,
Муринов Ю.И.², Юнусов М.С.², Крыжановский С.А.¹

¹ – ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва

² – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский Институт химии Российской академии наук (УФИХ РАН), г. Уфа

Резюме. Сравнительное изучение противофибрилляторной активности соединения ЛМГ-124 и эталонного препарата лаппаконитина гидробромида было выполнено на модели реперфузионных аритмий. Показано, что оба препарата проявляют антиаритмическую и противофибрилляторную активность, однако соединение ЛМГ-124 реализует своё действие в существенно меньшей дозе.

Ключевые слова: лаппаконитина гидробромида, ЛМГ-124, реперфузионные аритмии

The antifibrillatory activity study of the compound LMG-124 and lappaconitine hydrobromide on the reperfusion arrhythmias model

Stolyaruk V.N.¹, Tzorin I.B.¹, Vititnova M.B.¹, Gusev V.P.¹, Murinov Yu.I.², Yunusov M.S.², Kryzhanovskii S.A.¹

¹ – FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

² – FSBI «Ufa Institute of Chemistry of the Russian Academy of Sciences» (UIC RAS)

Resume. The antifibrillatory activity comparative study of the compound LMG-124 and the reference drug Lappaconitine hydrobromide was performed on the model of reperfusion arrhythmias. Both drugs are shown to exhibit antiarrhythmic and antifibrillatory activity, but the compound LMG-124 realizes its effect in a significantly lower dose.

Keywords: Lappaconitine hydrobromide, LMG-124, reperfusion arrhythmias

Автор, ответственный за переписку:

Крыжановский Сергей Александрович – д.м.н., заведующий лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8; тел.: +7 (495) 601-21-85; e-mail: SAK-538@yandex.ru

Введение

Размер инфаркта миокарда имеет важнейшее прогностическое значение у пациентов с острым коронарным синдромом и зависит не только от уровня окклюзии коронарной артерии, но и от длительности ишемии. В связи с этим, восстановление кровотока медикаментозным или хирургическим путём в максимально ранние сроки является основной стратегией лечения пациентов с острым инфарктом миокарда [1, 2]. Реперфузия призвана ограничить зону некроза, повысить выживаемость, препятствовать постинфарктному ремоделированию левого желудочка и предотвратить формирование сердечной недостаточности, т.е. минимизировать последствия острой ишемии. Однако, несмотря на это, она сама может вызывать дополнительное повреждение тканей и быть причиной возникновения злокачественных аритмий, в том числе и фибрилляции желудочков сердца [3, 4].

Важно отметить, что реперфузия может возникать и спонтанно, в быту, ещё до оказания пациенту медицинской помощи, вследствие эндогенного лизиса коронарного тромба, его реканализации, прекращения спазма коронарной артерии или усиления коллатерального кровотока в участке ишемии [5–7]

и стать причиной возникновения злокачественных нарушений сердечного ритма, которые могут быть купированы приёмом антиаритмического препарата.

В связи с вышесказанным, представляет определённый интерес выявление в спектре антиаритмической активности препаратов способности препятствовать развитию реперфузионного поражения сердца.

Целью исследования явилось сравнительное изучение противофибрилляторной активности соединения ЛМГ-124 и его прототипа лаппаконитина гидробромида в условиях ишемии-реперфузии.

Методы

Животные. Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 350–450 г, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая», которые имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Животные содержались в стандартных условиях вивария при контролируемом освещении (12 ч – свет/12 ч – темнота), с принудительной 16-кратной в час вентиляцией, постоянной температуре (21–23 °С)

и относительной влажности воздуха 40–70%, на подстилке из простерилизованных древесных стружек) в течение 10 сут до начала тестирования. Животные имели свободный доступ к воде и корму, и получали стандартный (ГОСТ Р50258-92) брикетированный корм ПК-120-1 (ООО Лабораторснаб, РФ). Условия содержания животных соответствовали приказу МЗ РФ № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.2016 г. и этическим нормам, изложенным в Правилах лабораторной практики (GLP) Хельсинкской декларации (2000). Работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур (СОП), принятых в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», соответствующих правилам Европейской Конвенции ETS 123.

Экспериментальная модель. В качестве экспериментальной модели была использована модель реперфузионных аритмий у крыс, которая воспроизводилась в соответствии с рекомендациями, изложенными в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [8] и принятыми в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» СОП. Животные были рандомизированы на 6 групп: 1-я ($n = 16$) – контроль, 2-я ($n = 10$) получала лаппаконитина гидробромид (0,5 мг/кг, в/в), 3-я ($n = 12$) – лаппаконитина гидробромид (0,25 мг/кг, в/в), 4-я ($n = 15$) – ЛМГ-124 (1,0 мг/кг, в/в), 5-я ($n = 15$) – ЛМГ-124 (0,5 мг/кг, в/в), а 6-я ($n = 15$) – ЛМГ-124 (0,25 мг/кг, в/в).

Наркотизированных (уретан 1300 мг/кг, в/б) животных переводили на искусственное дыхание при

помощи аппарата искусственной вентиляции лёгких для мелких животных (Ugo Basele, Италия), после чего производили тороко- и перикардотомию и под левую нисходящую коронарную артерию сразу же после её выхода из-под ушка подводили лавсановую лигатуру. Ишемию миокарда вызывали одномоментной перевязкой коронарной артерии. Через 8 мин лигатуру снимали. Оценивали наличие/отсутствие фибрилляции желудочков сердца в течение 3 мин от момента начала реперфузии. Исследуемые соединения (в/в, в 0,2–0,3 мл апиrogenной воды для инъекций), а в контрольной серии – апиrogenную воду для инъекций, вводили за 5 мин до начала реперфузии. Регистрацию ЭКГ (II стандартное отведение) начинали за минуту до перевязки коронарного сосуда и продолжали в течение всего эксперимента. В работе использовали цифровой электрокардиограф Поли-Спектр-8В (Нейрософт, Россия).

Для оценки противofiбриляторного и антиаритмического действия в каждой группе подсчитывали количество животных, у которых возникали: необратимая фибрилляция желудочков сердца (ФЖ); опасные для жизни аритмии – обратимая фибрилляция желудочков сердца (ОФЖ) или желудочковая тахикардия; экстрасистолия. С помощью балльного шкалирования оценивали тяжесть аритмогенеза: отсутствие аритмий – 0 баллов; экстрасистолия – 1 балл; желудочковая тахикардия – 2 балла; ФЖ с последующим восстановлением ритма (обратимая фибрилляция ОФЖ) – 3 балла; ФЖ, приводящая к остановке сердца – 4 балла.

Статистика. Статистическую обработку данных, измеренных в бинарной шкале, проводили с помо-

Таблица 1

Влияние соединения ЛМГ-124 и лаппаконитина гидробромид на частоту возникновения ФЖ и других нарушений ритма сердца, вызываемых окклюзией и последующей реперфузией коронарной артерии у наркотизированных крыс (уретан, 1 300 мг/кг, в/б)

Соединение	Доза, мг/кг	Количество крыс в группе	Количество крыс с экстрасистолией	Количество крыс с ОЖФ	Количество крыс с ФЖ	Тяжесть аритмогенеза в баллах
Контроль	–	16	16	13	12	3 3÷3
ЛМГ-124	1,0	15	7 $p = 0,004$	5 $p = 0,019$	4 $p = 0,015$	0 0÷3 $p = 0,014$
	0,5	15	7 $p = 0,004$	2 $p = 0,001$	1 $p = 0,001$	0 0÷1 $p = 0,003$
	0,25	15	8 $p = 0,006$	5 $p = 0,019$	2 $p = 0,003$	1 0÷2 $p = 0,007$
Лаппаконитина гидробромид	0,5	10	6 $p = 0,023$	2 $p = 0,010$	1 $p = 0,006$	1 0÷1 $p = 0,020$
	0,25	12	11 $p = 0,4286$	10 $p = 1,0$	5 $p = 0,121$	2 2÷3

Примечание: p – указано по отношению к контролю.

щью метода точной вероятности Фишера с учётом множественности сравнений. Результаты, полученные с использованием балльного шкалирования, обрабатывали с помощью непараметрического аналога дисперсионного анализа по Крускалу–Уоллесу с дальнейшим анализом методом множественных сравнений по Данну. Результаты представлены в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Изучаемое соединение ЛМГ-124, а также лап-паконитина гидробромид и аконитина гидрохлорид получены в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Уфимский Институт химии Российской академии наук (УФИХ РАН).

Результаты и обсуждение

Результаты оценки антифибрилляторной активности изучаемого соединения ЛМГ-124 и эталонного препарата лап-паконитина гидробромид на модели реперфузионных аритмий приведены в табл. 1.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что в контрольной серии экспериментов ($n = 16$) в условиях окклюзии и последующей реперфузии коронарной артерии нарушения ритма сердца наблюдались во всех случаях, в том числе обратимая фибрилляция желудочков сердца или желудочковая

тахикардия возникали у 13 животных, у 12 из которых желудочковая тахикардия переходила в необратимую фибрилляцию желудочков сердца. Следует отметить, что во всех случаях необратимая фибрилляция желудочков сердца возникала в условиях реперфузии. Соединение ЛМГ-124 в дозах 1,0; 0,5 и 0,25 мг/кг статистически значимо уменьшало частоту возникновения различных нарушений ритма сердца (табл. 1). Так, например, в группе крыс ($n = 15$), получавших соединения ЛМГ-124 в дозе 0,5 мг/кг, аритмии возникли только в 7 случаях ($p = 0,004$), в том числе обратимая фибрилляция желудочков сердца или желудочковая тахикардия наблюдались лишь у 2 животных ($p = 0,001$), из которых только у одного тахикардия перешла в необратимую фибрилляцию желудочков сердца ($p = 0,001$). Эталонный препарат лап-паконитина гидробромид, в отличие от соединения ЛМГ-124, был эффективен лишь в дозе 0,5 мг/кг.

Заключение

Таким образом, на модели реперфузионных аритмий у крыс эталонный препарат лап-паконитина гидробромид и соединение ЛМГ-124 проявляют антиаритмическую и противофибрилляторную активность, однако последнее реализует своё действие в существенно меньшей дозе.

Литература

1. *Van de Werf F., Bax J., Betriu A. et al.* Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2008; 29: 2909–45.
2. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with the American College of Emergency Physicians and Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. O'Gara P.T., Kushner F.G., Ascheim D.D., Casey D.E., Chung M.K., de Lemos J.A., Ettinger S.M., Fang J.C., Fesmire F.M., Franklin B.A., Granger C.B., Krumholz H.M., Linderbaum J.A., Morrow D.A., Newby L.K., Ornato J.P., Ou N., Radford M.J., Tamis-Holland J.E., Tommaso C.L., Tracy C., Woo Y.J., Zhao D.X.; American College of Cardiology Foundation.; American Heart Association Task Force on Practice

- Guidelines.; American College of Emergency Physicians.; Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. *Catheter Cardiovasc Interv* 2013; 82 (1): E1–27.
3. *Turer A.T., Hill J.A.* Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy. *Am J Cardiol* 2010; 106 (3):360–8.
4. *Aufderheide T.P.* Arrhythmias associated with acute myocardial infarction and thrombolysis. *Emerg Med Clin North Am* 1998, 6 (3): 583–600.
5. *Karaahmet T., Keles N., Gürel Y.E. et al.* Early spontaneous reperfusion in the right coronary artery of a patient with acute inferior myocardial infarction. *Turk J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 19 (3): 446–8.
6. *Bainey K.R., Fu Y., Wagner G.S. et al.* Spontaneous reperfusion in ST elevation myocardial infarction: comparison of angiographic and electrocardiographic assessments. *Am. Heart J.* 2008; 156 (2); 248–55.
7. *Schwartz H., Leiboff R.H., Bren G.B. et al.* Temporal evolution of the human coronary collateral circulation after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1984; 4 (6): 1088–93.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2013; 944.