

# ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

## ВЛИЯНИЕ АМИОДАРОНА НА ЭКСТРАСИСТОЛИЧЕСКОЕ И ПОСТЭКСТРАСИСТОЛИЧЕСКОЕ СОКРАЩЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННОГО МИОКАРДА КРЫС И БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

С. А. Афанасьев, Н. В. Нарыжная, И. А. Лукавская, И. В. Антонченко,  
С. В. Попов, Б. Н. Козлов, М. Л. Кандинский, В. М. Шипулин<sup>1</sup>

Исследованы особенности экстрасистолического и постэкстрасистолического сокращения изолированного миокарда больных с диагнозом хроническая ишемическая болезнь сердца (ИБС), а так же интактных крыс в присутствии антиаритмического препарата амиодарона. Сократимость регистрировали в изометрическом режиме при частоте электрической стимуляции 0,5 Гц, температуре 36 °С и скорости перфузии 10 мл/мин. Экстрасистолическое воздействие осуществляли внеочередным электрическим импульсом, через 0,25 с после базовой стимуляции. Амиодарон в концентрации 1 мкг/мл снижал инотропный ответ миокарда интактных крыс на экстрасистолическое воздействие, но при этом увеличивал постэкстрасистолическое сокращение. В миокарде больных ИБС амиодарон подавлял проявление спонтанной контрактильной активности, но не снижал инотропной реакции миокарда на экстрасистолическое воздействие. При этом постэкстрасистолическое сокращение возросло в среднем на 24 % против 6 % в контроле. Эффект амиодарона на постэкстрасистолическое сокращение может быть связан с изменением функционального состояния саркоплазматического ретикулума (СПР) и содержанием в нем  $Ca^{2+}$ . СПР является важным фактором внутриклеточного гомеостаза кардиомиоцитов при ИБС и, видимо, может влиять на антиаритмическую эффективность амиодарона у больных ИБС.

**Ключевые слова:** миокард, ишемическая болезнь, сократимость, саркоплазматический ретикулум, амиодарон

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что при хронической коронарной недостаточности (ИБС) происходит изменение реакций миокарда на инотропные воздействия. Этот эффект, скорее всего, отражает изменение структуры мембран и метаболизма кардиомиоцитов [1, 2]. В исследованиях на лабораторных животных показано, что ишемия может инициировать изменения в мембране саркоплазматического ретикулума (СПР) [6], что должно отразиться на свойствах СПР, обеспечивающих его  $Ca^{2+}$  — депонирующую функцию. СПР занимает важное место в реализации адаптивно-приспособительных изменений миокарда [12, 13]. В то же время, спонтанный выброс  $Ca^{2+}$  из СПР часто является причиной нарушения электрической стабильности кардиомиоцитов и провоцирует возникновение у больных ИБС фибрилляции предсердий [14]. Наиболее эффективным антиаритмическим препаратом, используемым при фибрилляции предсердий, является амиодарон [9, 15]. Высокая эффективность амиодарона, вероятно, обусловлена широким спектром его свойств. Препарат блокирует ион-

ные каналы сарколеммы (калиевые, в меньшей степени — кальциевые и натриевые) и адренорецепторы [8, 22]. Однако амиодарон обладает и проаритмическим действием [18], природа которого не вполне ясна.

Цель исследования — изучить возможное влияние амиодарона на состояние  $Ca^{2+}$ -транспортирующей функции СПР кардиомиоцитов.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на 12 изолированно перфузируемых папиллярных мышцах сердца половозрелых интактных крыс (самцов) линии Вистар (массой 200 – 250 г) и мышечных полосках сердца 20 больных в возрасте  $50,6 \pm 2,4$  лет с диагнозом хроническая, коронарная недостаточность, стенокардия напряжения III – IV функционального класса по NYHA, с мульти-сосудистым поражением коронарных артерий. Всем больным в условиях искусственного кровообращения и общей гипотермии выполняли операцию прямой реваскуляризации миокарда (операция аортокоронарного шунтирования) с включением в кровоток 2 – 3 коронарных артерий. Мышечные полоски, длиной

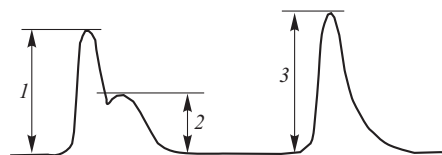
<sup>1</sup> НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, Томск, 634012, ул. Киевская, 111а.

5 – 6 мм и поперечным сечением не более 1 мм выделяли из фрагмента ушка правого предсердия больных, оперированных с использованием аппарата искусственного кровообращения.

Перфузию мышечных полосок проводили в термостабилизированной проточной камере объемом 1 мл при  $36 \pm 0,5$  °С физиологическим раствором Кребса-Хензелейта [3]. Для оксигенации раствора использовали карбоген (газовая смесь содержащая 95 %  $O_2$  и 5 %  $CO_2$ ). Механическую активность мышечных полосок оценивали в изометрическом режиме. Частоту мышечных сокращений (0,5 Гц) задавали прямоугольными электрическими импульсами прямоугольной формы, длительностью 5 мс, подаваемыми на два размещенных в камере массивных серебряных электрода. Все мышцы в течение 60 мин адаптировались к режиму перфузии. В эксперименты включали мышечные полоски из биоптатов сердца больных ИБС и папиллярные мышцы крыс способные развивать к концу адаптации, усилие не менее 1/3 В и 1/2 В, соответственно. Такие мышцы, в используемом режиме перфузии, сохраняли стабильность параметров своей сократительной активности на протяжении не менее двух часов.

Для воздействия на системы, ответственные за внутриклеточный гомеостаз  $Ca^{2+}$  в кардиомиоцитах, использовали внеочередной “экстрасистолический” импульс с теми же характеристиками, что и импульсы базовой стимуляции [19]. Воздействие экстрасистолическим импульсом выполняли через 0,25 с, после регулярного стимулирующего сигнала. По данным литературы [19] и нашим собственным наблюдениям, изменение изометрического сокращения мышц в ответ на экстрасистолическое воздействие было обратимым и хорошо воспроизводимым. Полное восстановление параметров цикла сокращение-расслабление до исходных значений происходило через 1 – 2 мин после воздействия. Возбудимость сарколеммы оценивали по величине экстрасистолического сокращения, а способность СПР аккумулировать дополнительные ионы  $Ca^{2+}$ , поступающие в миоплазму при внеочередном возбуждении, оценивали по изменению параметров постэкстрасистолического цикла сокращения [19].

Использовали следующую схему исследования: после 60 мин адаптации мышц к режиму перфузии, регистрировали их сократимость при базовой частоте стимуляции и исходную реакцию на экстрасистолическое воздействие, после восстановления мышцы от экстрасистолического воздействия, их в течение 15 мин перфузировали физиологическим раствором, содержащим амиодарон, после чего, на них повторно воздействовали внеочередным электрическим импульсом.<sup>1</sup> В исследовании использовали амиодарон (кордарон) фирмы “Sanofi Pharma” (Франция). Концентрация амиодарона в перфузионном растворе составляла 1 мкг/мл. Эта концентрация препарата была подобрана в ходе предварительных исследований.



**Рис. 1.** Типичный вид механограммы изометрического сокращения изолированного миокарда при дополнительном стимулирующем воздействии (межпульсный интервал 0,25 с).

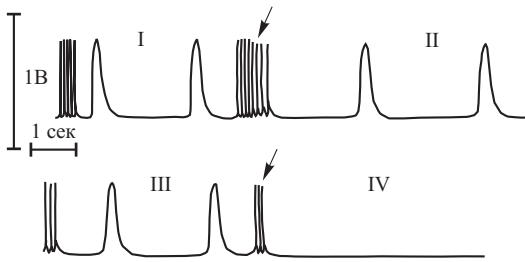
1, 2, 3 — амплитуды регулярного, экстрасистолического и постэкстрасистолического сокращения соответственно.

Статистическая обработка результатов проводилась по *t*-критерию Стьюдента и с использованием непараметрического критерия  $\chi^2$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Воздействие на изолированно перфузируемые папиллярные мышцы крыс внеочередным электрическим импульсом (рис. 1) изменяло форму кривой изометрического сокращения. Так, на заднем фронте этой кривой появлялось дополнительное экстрасистолическое сокращение и происходило увеличение длительности всего цикла сокращение-расслабление. Сходные эффекты при воздействии на мышечные полоски внеочередных электрических импульсов описаны в работах других исследователей [10, 19]. Показано, что величина инотропного ответа на внеочередное стимулирующее воздействие зависит от того, как это воздействие соотносится с фазами возбуждения кардиомиоцитов. Чем ближе внеочередной стимулирующий импульс к фазе абсолютной рефрактерности или плато потенциала действия, тем меньше выраженность экстрасистолического инотропного ответа. Очевидно, что увеличение длительности периода рефрактерности будет снижать инотропное проявление экстрасистолического воздействия. Этот эффект лежит в основе действия целого ряда антиаритмических препаратов, в том числе и амиодарона. Действительно, уже через 15 мин после начала перфузии папиллярных мышц раствором, содержащим амиодарон в концентрации 1 мкг/мл, последствия экстрасистолического воздействия на эти мышцы существенно изменялись. Как свидетельствуют данные представленные в таблице, в присутствии амиодарона, мы наблюдали достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение амплитуды экстрасистолического сокращения. Этот результат хорошо согласуется с литературными данными, свидетельствующими о

<sup>1</sup> В наших экспериментах каждая мышца только единожды подвергалась перфузии раствором, содержащим амиодарон. Оценить воспроизводимость действия оказываемого амиодароном на миокард при повторяющихся эпизодах перфузии мышц амиодароном раствором, в рамках проводимого исследования, не представлялось возможным. В ходе предварительных экспериментов мы обнаружили, что восстановление исходных характеристик у мышц, обработанных амиодароном раствором, не удается получить даже через 30 мин после отмены препарата и возобновления перфузии обычным физиологическим раствором.



**Рис. 2.** Типичный вид проявления спонтанной контрактильной активности перфузируемых мышечных полосок сердца больных ИБС и ее подавление амиодароном.

I — механограмма изометрических сокращений при частоте внешней электрической стимуляции 0,5 Гц и перфузии обычным раствором; II — спонтанные изометрические сокращения при отсутствии внешней электрической стимуляции; III — механограмма изометрических сокращений после 10 мин перфузии раствором, содержащим амиодарон в концентрации 1 мкг/мл и частоте внешней электрической стимуляции 0,5 Гц; IV — отсутствие спонтанной контрактильной активности при отключении электрической стимуляции на фоне амиодарона. Стрелка — момент отключения внешней стимуляции.

способности амиодарона увеличивать длительность периода рефрактерности кардиомиоцитов и, тем самым, уменьшать возбудимость сердечной мышцы [8].

Известно, что влияние внеочередного электрического импульса на сократимость миокарда проявляется не только в виде дополнительного сокращения, но и в изменении амплитуды первых постэкстрасистолических сокращений. В наших исследованиях экстрасистолическое воздействие на папиллярные мышцы крыс перфузируемые обычным физиологическим раствором вело к увеличению амплитуды первого постэкстрасистолического сокращения, в среднем на  $15,6 \pm 1,62\%$ , по отношению к регулярному циклу сокращение-расслабление (таблица). После обработки папиллярных мышц амиодароном ведущей к уменьшению инотропного эффекта экстрасистолического воздействия, логично было ожидать уменьшение и величины постэкстрасистолического сокращения. Однако, как свидетельствуют данные представленные в таблице, мы получили прямо противоположный результат. Прирост амплитуды постэкстрасистолического

сокращения на фоне амиодарона составил  $21,0 \pm 1,95\%$  и был достоверно ( $p < 0,05$ ) более значим, чем при контрольном воздействии. Феномен усиления амплитуды постэкстрасистолического сокращения связывают с тем, что в ходе внеочередного возбуждения кардиомиоцитов в миоплазму, практически лишенную свободного кальция, из межклеточного пространства поступает дополнительное количество ионизированного кальция. Удаление этих ионов осуществляется и СПР. Именно то, в какой мере СПР кардиомиоцитов способен принять участие в “утилизации” ионов кальция, а так же выбросе этих ионов при очередном регулярном возбуждении, и определяет увеличение амплитуды постэкстрасистолического сокращения [10, 19]. С этих позиций правомочно предположить, что амиодарон, видимо, создавал условия способствующие увеличению пула  $Ca^{2+}$  в СПР.

Аналогичные исследования были проведены нами на мышечных полосках выделенных из биоптатов сердца больных хронической ИБС. Эти мышечные полоски устойчиво сокращались под влиянием внешних электрических импульсов. Однако для семи из 20 мышц, включенных в исследование, отключение внешней стимуляции (на 1–2 мин) сопровождалось появлением регулярных спонтанных сокращений ( $p < 0,05$  метод  $\chi^2$ ). На рис. 2 представлен типичный вид механограммы отражающий это явление. Наблюдавшаяся в исследовании высокая, до 35%, частота проявления спонтанной сократимости у изолированно перфузируемых мышечных полосок косвенно подтверждает известные данные о том, что на определенном этапе развития ИБС характеризуется высоким риском возникновения фибрилляций предсердий [5, 16]. Перфузия мышечных полосок проявляющих спонтанную контрактильную активность раствором, содержащим амиодарон в концентрации 1 мкг/мл уже через 10–15 мин приводила к ее подавлению ( $p < 0,05$  метод  $\chi^2$ ), что проявлялось (рис. 2) полным отсутствием механической активности мышц при отключении внешней стимуляции.

#### Характеристики экстрасистолического и постэкстрасистолического сокращения папиллярных мышц крысы ( $M \pm m, n = 12$ )

Воздействие	Параметры сокращений			
	Экстрасистолического		Постэкстрасистолического	
	$P_{max}$	$P_{max}$	+ dP/dt	– dP/dt
<i>Папиллярных мышц крысы (n = 12)</i>				
Контроль	$41,0 \pm 1,64$	$115,6 \pm 1,62^{**}$	$114,0 \pm 1,79^{**}$	$113,9 \pm 1,98^{**}$
Амиодарон	$36 \pm 1,60^{\#}$	$121,0 \pm 1,95^{**,\#}$	$119,4 \pm 1,81^{**,\#}$	$120,3 \pm 2,36^{**,\#}$
<i>Изолированного миокарда больных ИБС (n = 20)</i>				
Контроль	$16 \pm 0,8$	$105,9 \pm 2,2^*$	$106,7 \pm 1,8^*$	$116,7 \pm 3,7^{**}$
Амиодарон	$16 \pm 1,2$	$123,9 \pm 3,6^{**,\#\#}$	$121,1 \pm 3,4^{**,\#\#}$	$106,7 \pm 2,9^{*,\#}$

**Примечание.** Величины параметров сокращения даны в процентах к их значениям в регулярном изометрическом сокращении принятым за 100.  $P_{max}$  — амплитуда изометрического сокращения; + dP/dt — скорость изометрического сокращения; – dP/dt — скорость изометрического расслабления. Достоверность отличий относительно соответствующего контроля: \* —  $p < 0,05$  и \*\* —  $p < 0,001$  относительно регулярного цикла;  $\#$  —  $p < 0,05$ ,  $\#\#$  —  $p < 0,001$ .

О влияние экстрасистолического воздействия на инотропный ответ мышечных полосок из сердца больных ИБС можно судить по данным, представленным в таблице. Оказалось, что амиодарон устранял проявление спонтанной сократимости, наблюдаемое у части исследуемых мышечных полосок, но не снижал амплитуду их экстрасистолического сокращения. Согласно данным литературы [19], этот результат свидетельствует о том, что в отличие от миокарда крыс (таблица), в изолированном миокарде больных ИБС амиодарон не изменил рефрактерность сарколеммальной мембраны кардиомиоцитов. В присутствии амиодарона произошло выраженное усиление постэкстрасистолического инотропного ответа. Так, при исходной (контроль) реакции мышечных полосок на экстрасистолическое воздействие, увеличение амплитуды первого постэкстрасистолического цикла сокращения-расслабления, по отношению к регулярному сокращению, составляло в среднем  $5,9 \pm 2,2$  % (таблица). То же экстрасистолическое воздействие повторенное на фоне амиодарона инициировало уже более чем 20 % прирост амплитуды постэкстрасистолического цикла.

Следует отметить, что разница между проявлением постэкстрасистолической потенциации в контроле и на фоне амиодарона для изолированного миокарда больных ИБС оказалась даже более значимой, чем для папиллярных мышц крыс (18 % против 5,4 % соответственно). Такой результат можно объяснить тем, что в миокарде крыс в отличие от миокарда больных ИБС, амиодарон вызвал увеличение рефрактерности сарколеммальной мембраны кардиомиоцитов, что позволило снизить эффективность возбуждающего действия экстрасистолического импульса и уменьшило поступление в миоплазму дополнительных ионов кальция. В пользу того, что обнаруженное нами усиление постэкстрасистолического сокращения на фоне амиодарона обусловлено изменившимся состоянием СПР и содержанием в нем  $Ca^{2+}$ , свидетельствует увеличение скорости изометрического сокращения ( $+dP/dt$ ). По данным литературы, увеличение ( $+dP/dt$ ) свидетельствует о большем выбросе ионов кальция из терминалей СПР [21].

Отмечалось, что постэкстрасистолическая потенциация инотропного ответа обусловлена увеличением внутриклеточного кальция за счет его депонирования в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов [10, 19]. Полученные нами данные дают основание предположить, что амиодарон способен повышать эффективность этого процесса. Влияние амиодарона на состояние СПР, видимо, не может быть следствием большей активации  $Ca^{2+}$ -АТФазы СПР. Подтверждением этого может служить то, что в постэкстрасистолическом цикле на фоне амиодарона мы не выявили преобладающего увеличения скорости изометрического расслабления ( $-dP/dt$ ), величины отражающей поступление  $Ca^{2+}$  из миоплазмы в СПР [4]. Для изолированного

миокарда больных ИБС было отмечено даже снижение этого показателя (таблица).

Дополнительное усиление постэкстрасистолического сокращения на фоне амиодарона могло быть следствием изменения свойств терминалей СПР, а также активацией переноса  $Ca^{2+}$  из продольного ретикулума в терминали СПР [11]. В этих условиях, даже небольшое дополнительное поступление в СПР ионов кальция вызовет усиление инотропного ответа. Такое предположение согласуется с тем, что наиболее выраженную потенциацию постэкстрасистолического сокращения на фоне амиодарона мы обнаружили именно в миокарде больных ИБС, а также с литературными данными, согласно которым при хронической ишемии в терминальных цистернах СПР кардиомиоцитов возможно увеличение содержания кальсиквестрина - белка ответственного за связывание  $Ca^{2+}$  [17].

В работах, посвященных амиодарону, внимание исследователей сосредоточено на его способности модулировать ионный транспорт через сарколеммальную мембрану кардиомиоцитов. "Парадоксальное" увеличение внутриклеточного кальция при исследовании антиаритмических эффектов амиодарона описано в одной статье [7]. Можно предположить, что этот эффект тоже был обусловлен изменением функционального состояния СПР. Учитывая, что спонтанный выброс  $Ca^{2+}$  из СПР рассматривается как механизм триггерных аритмий [14, 20], нам представляется вполне вероятным, что антиаритмическая эффективность амиодарона, во всяком случае у больных ИБС будет определяться, в том числе и модулирующим влиянием амиодарона на саркоплазматический ретикулум.

## ВЫВОДЫ

1. Изолированно перфузируемые мышечные полоски миокарда предсердия больных хронической ИБС характеризуются высокой (до 30 %) частотой проявления спонтанной контрактильной активности.
2. Амиодарон в концентрации 1 мкг/мл эффективно подавляет спонтанную контрактильную активность изолированного миокарда предсердия больных ИБС.
3. Амиодарон приводит к увеличению постэкстрасистолического инотропного ответа в изолированном миокарде крыс и больных хронической ИБС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. С. А. Афанасьев, А. В. Лебедев, А. М. Чернявский и др., *Физиология человека*, **22**(4), 91 – 95 (1996).
2. С. А. Афанасьев, Ю. Б. Лишманов, Б. Ю. Кондратьев и др., *Физиология человека*, **23**(5), 58 – 62 (1997).
3. С. А. Афанасьев, В. Ю. Тимофеев, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 2, 35 – 38 (2000).
4. Ф. А. Бляхман, В. Я. Изаков, Ю. Л. Проценко, *Физиол. ж. СССР*, Т. 73, 1657 – 1664 (1987).
5. Л. А. Бокерия, Е. Б. Фителева, *Грудная хир.*, **4**, 28 – 32 (1989).
6. В. М. Боровкович, Ю. В. Никитченко, В. В. Лемешко, *Бюл. экспер. биол.*, № 11, 546 – 548 (1987).

7. А. С. Духанин, А. И. Ханкоева, *Вестн. РАМН*, № 3, 7 – 15 (1999).
8. Н. В. Каверина, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 5, 12 – 15 (1994).
9. Н. А. Мазур, *Тер. арх.*, № 12, 3 – 6 (1994).
10. В. С. Мархасин, П. Б. Цывьян, О. Г. Артемьева и др., *Фи-зиол. ж. им. ИМ Сеченова.*, № 10, 1339 – 1344 (1987).
11. В. С. Мархасин, Л. Б. Кацнельсон, Л. В. Никитина и др., *Биомеханика неоднородного миокарда*, Екатеринбург (1999).
12. Т. Г. Сазонтова, *Бюл. exper. биол.*, № 9, 271 – 274 (1989).
13. Т. Г. Сазонтова, М. Белкина, Фу Сяндюнь, Ф. З. Меерсон, *Бюл. exper. биол.*, № 2, 130 – 131 (1994).
14. И. С. Явелов, *Русский мед. ж.*, 6 (18, сентябрь), 1160 – 1169 (1998).
15. G. M. Auers, *J. Intervent Card Electrophysiol.*, 4(1), 155 – 163 (2000).
16. M. J. DeJong and P. G. Morton, *Dimens Crit Care Nurs.*, 17(3), 114 – 126 (1998).
17. J. A. Fallavollita, S. Jacob, R. F. Young and J. M. Canty, *Am. J. Physiol.*, 277, H1418 – H1428 (1999).
18. S. S. Gottlieb, S. Shorofsky, M. R. Gold, et al., *Am. J. Cardiol.*, 270, H1158 – 1161 (1995).
19. F. D. Marengo, M. T. Marquez, P. Bonazzola and J. E. Ponce-Hornos, *Am. J. Physiol.*, 276, H309 – 316 (1999).
20. V. Schonten, J. K. van Deen, P. de Tombe, et al., *Biophys. J.*, 51, 13 – 26 (1987).
21. D. T. Yue, *Am. J. Physiol.*, 252, H760 – H770 (1987).
22. M. Zehender, T. Meinertz and H. Just, *Kardiolog.*, 83, 101 – 108 (1994).

Поступила 02.12.02

### THE EFFECT OF AMIODARONE ON THE EXTRASYSTOLIC AND POST-EXTRASYSTOLIC CONTRACTILITY OF ISOLATED MYOCARDIUM OF INTACT RATS AND HUMANS SUFFERING FROM CHRONIC ISCHEMIC HEART DISEASE

S. A. Afanas'ev, N. V. Naryzhnaya, I. A. Lukavskaya, I. V. Antonchenko, S. V. Popov, B. N. Kozlov, M. L. Kandinskii, and V. M. Shipulin

Department of Experimental Cardiology, Institute of Cardiology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, Kievskaya ul. 111a, Tomsk, 634012 Russia

Peculiarities in the extrasystolic and post-extrasystolic contractility of the isolated myocardium of patients suffering from chronic ischemic heart disease (IHD), in comparison to that of intact rats, were studied in the presence of the antiarrhythmic drug amiodarone. The contractility was measured in an isometric mode at an electric stimulation frequency of 0.5 Hz, a temperature of 37°C, and a perfusion rate of 10 ml/min. The extrasystolic action was produced by additional electric pulses generated 25 sec after the base stimulation signal. Amiodarone (1 µg/ml) reduced the inotropic response of intact rat myocardium to the extrasystolic action, but increased the post-extrasystolic contractility. In the myocardium of IHD patients, the drug also suppressed manifestations of the spontaneous abnormal contractility, while not decreasing the inotropic response to the extrasystolic action. An increase in the post-extrasystolic contractility reached on the average 24 % (against 6 % in the control). The effect of amiodarone on the post-extrasystolic contractility can be related to a change in the functional state of sarcoplasmic reticulum (SR) and in the content of deposited Ca<sup>2+</sup> ions. SR is an important factor of intracellular homeostasis of cardiomyocytes during IHD and can probably influence the antiarrhythmic efficacy of amiodarone in IHD patients.