

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ВНЕЗАПНОЙ СМЕРТИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ БЛОКАТОРАМИ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ

Мороз В.М., Линицкий Т.Н.

Винницкий национальный медицинский университет, Украина

#### Резюме

Минимальную аритмогенную дозу 1,5% раствора хлорида калия (15 мг/кг) вводили крысам внутривенно в течение 2 с. Гипополяризационные аритмии сердца регистрировались в течение 3-10 с и сменялись регулярным синусовым ритмом. Животным опытных групп минимальную аритмогенную дозу хлорида калия вводили через 5 мин после внутривенной инфузии 1% раствора новокаинамида (20 мг/кг) или 0,25% раствора этацизина (4 мг/кг). У всех 20 крыс после введения блокаторов натриевых каналов и последующего болюсного введения хлорида калия была зарегистрирована кардиолегия, а у половины животных (40% и 60% соответственно) наступила остановка сердца и смерть. Таким образом, у больных ИБС при лечении блокаторами натриевых каналов в патогенезе внезапной смерти может иметь решающее значение гипополяризация мембран вследствие дисфункции  $Na^+/K^+$ -АТФазы, низкой цитозольной концентрации ионов  $K^+$  и уменьшения их выхода из клеток в конечную фазу реполяризации.

**Ключевые слова:** внезапная смерть, аритмии сердца, гипополяризация мембран, гиперкалиемия, аритмогенные эффекты антиаритмических препаратов.

Несмотря на впечатляющие достижения экспериментальной и клинической кардиологии, проблема внезапной аритмической смерти все ещё далека от окончательного решения в связи с чрезвычайной сложностью её патофизиологических механизмов. Внедрение в клиническую практику катетерной абляции субстрата аритмий и имплантации кардиовекторов- дефибрилляторов не могут разрешить проблему внезапной смерти у подавляющего большинства многочисленных больных ИБС, особенно перенесших инфаркт миокарда, даже без учета их высокой стоимости и определенного хирургического риска [1-3].

Способны ли современные антиаритмические препараты (ААП) снизить частоту внезапной смерти у больных с желудочковыми аритмиями сердца (АС)? Для решения этой проблемы в 1987 г стартовало крупное рандомизированное исследование CAST (Cardiac Arrhythmia Suppression Trial), продолжительность которого была запланирована на 3 года. Однако уже через 18 месяцев исследование было прекращено из-за гуманных соображений. Оказалось, что общая смертность в группе пациентов, перенесших инфаркт миокарда и лечившихся флекаинидом и элкаиномидом, была в 2,5 раза, а частота внезапной аритмической смерти в 3,64 раза выше по сравнению с аналогичной группой больных, принимавших плацебо. Удивительным было то, что смертность значительно возросла, несмотря на эффективное устранение желудочковых экстрасистол. Непредвиденные результаты CAST-I вызвали огромный резонанс, что стало поводом для разделения истории аритмологии на до-CAST и пост-

CAST эры [4-6]. Совершенно очевидно, что основной причиной негативных эффектов элкаионида и флекаинида, блокирующих натриевые каналы, были аритмогенные осложнения, патофизиологическая основа которых до настоящего времени не до конца раскрыта [7].

Цель работы состояла в экспериментальном исследовании гипополяризационных АС при применении блокаторов натриевых каналов и последующего внутривенного болюсного введения минимальных аритмогенных доз хлорида калия. В качестве критерия степени гипополяризации мембран кардиомиоцитов использовано определение частоты и продолжительности калий-индуцированных АС.

#### Материал и методы

Исследования выполнены на 35 беспородных белых крысах обоего пола весом 160-200 г. Под нембуталовым наркозом (35 мг/кг внутривенно) животных фиксировали и регистрировали ЭКГ во втором отведении от конечностей. Все животные были разделены на 4 группы. В 1-ю (контрольную) группу включены 5 крыс, которым в бедренную вену вводили 0,2 мл физиологического раствора в течение 2 с. Регистрация ЭКГ производилась в момент введения раствора и последующие 30 с. Крысам 2-й группы (10 животных) внутривенно вводили 1,5% раствор хлорида калия в ранее установленной минимальной аритмогенной дозе (20 мг/кг) в течение 2 с, непрерывно регистрируя ЭКГ до нормализации синусового ритма. Минимальная аритмогенная доза хлорида калия оп-

Таблица

**Результаты исследования калий-индуцированных аритмий сердца у крыс и их течение после предварительного внутривенного введения новокаинамида и этацизина (n, %)**

№ гр	Препараты и дозы	n	Нарушения ритма сердца					Выжило
			АВ-I-II степени	АВ- III степени	Внутри-желуд. блокады	Желудоч. ЭА	Кардио-плегия	
1	Контрольная группа	5	-	-	-	-	-	5 (100%)
2	КСI 1,5% р-р, 20 мг/кг	10	10 (100%)	2 (20±5%)	10 (100%)	6 (60±8%)	1 (10±2%)	10 (100%)
3	Новокаинамид 1%, 20 мг/кг и КСI 1,5%, 20мг/кг	10	10 (100%)	10** (100%)	10 (100%)	9* (90±10%)	10** (100%)	6** (60±8%)
4	Этацизин 0,25%, 4 мг/кг КСI 1,5%, 20мг/кг	10	10 (100%)	10** (100%)	10 (100%)	6 (60±8%)	10** (100%)	4** (40±7%)

**Обозначения:** АВ-I-II – атриовентрикулярные блокады I-II степени; АВ-III – атриовентрикулярные блокады III ст.; желудоч.ЭА – желудочковая экстрасистолическая аритмия; \* - p< 0,05 в сравнении с 2-й группой; \*\* - p<0,01 в сравнении с 2-й группой.

ределялась эмпирически путем постепенного увеличения объема 1,5% раствора хлорида калия, вводимого в бедренную вену в течение 2 с. Подбирался объем раствора, при котором нарушения ритма и проводимости регистрировались в течение 3-10 с. Интервал времени между внутривенными введениями хлорида калия одной крысе был не менее 15 мин и не более двух раз.

Животным 3-й группы (10 крыс) внутривенно вводили 1% раствор новокаинамида в дозе 20 мг/кг, а через 5 мин – 1,5% раствор хлорида калия в минимальной аритмогенной дозе. ЭКГ регистрировали до нормализации синусового ритма или гибели животного. Крысам 4-й группы (10 крыс) за 5 мин до введения хлорида калия производилась инфузия 0,25% раствора этацизина в дозе 4 мг/кг.

Статистическая обработка количественных показателей произведена по методу вариационной статистики с использованием коэффициента Стьюдента.

**Результаты и обсуждение**

Возникновение аритмогенных эффектов при гиперкалиемии зависит от дозы препарата, его концентрации в растворе и скорости введения. У животных контрольной группы введение в вену физиологического раствора в таком объеме как крысам 2-4-й групп и с такой же скоростью не привело к появлению изменений ЭКГ. У всех крыс 2-й группы после болюсного введения минимальной аритмогенной дозы раствора хлорида калия на ЭКГ зарегистрированы атриовентрикулярные (АВ) и внутрижелудочковые блокады различных степеней и немногочисленные желудочковые экстрасистолы (табл.). Продолжительность нарушений ритма не превышала 10 с. Совершенно очевидно, что в патогенетическом механизме нарушений ритма сердца основную роль сыграла гипополяризация клеточных мембран, кратковременность которой определялась минимальной аритмогенной дозой хлорида калия.

У животных 3-й группы, которым предварительно вводился 1% раствор новокаинамида, течение калий-индуцированных АС совершенно изменилось: через 3-4 с после введения хлорида калия зарегистрированы внутрижелудочковые и атриовентрикулярные (АВ) блокады и возникла кардиоплегия, которая продолжалась 1-3 мин. Затем появлялись редкие желудочковые комплексы идиовентрикулярного ритма, многочисленные экстрасистолы и короткие эпизоды пароксизмальной тахикардии. В течение 2-2,5 мин частота ритма у 6-ти крыс увеличивалась и идиовентрикулярный ритм трансформировался в регулярную синусовую брадикардию. У 4-х крыс идиовентрикулярный ритм прогрессивно замедлялся, дыхание прекращалось, и животные погибали. У животных 4-й группы после предварительного введения этацизина наблюдались такие же изменения ЭКГ. Смерть наступила у 6-ти крыс.

В качестве примера приводим ЭКГ крысы, у которой после внутривенной инфузии этацизина и последующего болюсного введения минимальной аритмогенной дозы хлорида калия зарегистрированы кардиоплегия и гипополяризационные АС. Интересно, что необычно частая экстрасистолическая аритмия внезапно прекратилась после внутривенного введения 5% раствора сернокислой магнезии.

Следует отметить, что дозы новокаинамида и этацизина были завышены, поскольку возникновение аритмогенных осложнений зависит от концентрации ионов K<sup>+</sup> в межклеточной жидкости и от дозы антиаритмического препарата. В отличие от клинических условий, при которых экстрацеллюлярную концентрацию ионов K<sup>+</sup> у больных ИБС определить невозможно, в эксперименте аритмогенная доза калия была стабильной. Поэтому доза блокаторов натриевых каналов была избрана достаточно высокой, но не аритмогенной, т. е. в дополнительных исследованиях АС не были зарегистрированы в течение 45 мин после их внутривенного введения.

*Анализ результатов проведенных исследований и изменения ЭКГ позволяют выделить четыре степени гипополяризации мембран кардиомиоцитов.* К 1-й степени гипополяризации отнесены случаи, при которых после внутривенного введения минимальной дозы хлорида калия за 2 с у животных регистрируется замедление АВ- и внутрижелудочковой проводимости без нарушения ритма сердца; ко 2-й степени — те же изменения более выражены и появляются эктопические АС (экстрасистолические аритмии, пароксизмальные тахикардии и другие нарушения ритма). При 3-й степени гипополяризации у животных регистрируется кратковременная кардиоплегия, при которой при сохранении зубцов Р отсутствуют желудочковые комплексы. После возобновления комплексов QRS у животных появляется эктопическая пейсмерная активность, что на ЭКГ проявляется единичными или групповыми экстрасистолами, короткими эпизодами трепетания или фибрилляции желудочков. Продолжительность кардиоплегии у разных крыс была от 2 с до 2-3 мин. При 4-й степени гипополяризации мембран возникает остановка сердца и гибель животных.

Известно, что одним из патогенетических механизмов АС при ИБС является повышение содержания ионов  $K^+$  в межклеточной жидкости и снижение его цитозольной концентрации. Установлено, что утечка лишь 1% ионов  $K^+$  из клетки повышает его содержание в межклеточной жидкости в 2 раза [7]. Совершенно очевидно, что при этом нарушается дальнейший выход ионов  $K^+$  из клеток, определенная часть положительно заряженных ионов задерживается в цитозоле, снижая уровень отрицательного заряда к концу фазы реполяризации, что ведет к уменьшению отрицательного значения потенциала покоя. Если у неповрежденных кардиомиоцитов потенциал покоя равен  $-90$  —  $-95$  мВ, то снижение его до  $-60$  мВ способствует активации потенциал-зависимых натриевых каналов и появлению внеочередных сокращений сердца. При более низких отрицательных значениях потенциала покоя ( $-30$  —  $-35$  мВ) натриевые каналы инактивируются, натриевый ток сменяется медленным кальциевым током, способствуя замедлению проводимости и образованию эктопических очагов аритмогенеза по механизму re-entry [8-10]. Дальнейшее снижение негативности потенциала покоя приводит к инаktivации как натриевых, так и кальциевых каналов. Возникает кратковременная кардиоплегия, продолжительность которой зависит от внеклеточной концентрации ионов  $K^+$ . В кардиохирургических клиниках дозированная гиперкалиемия

используется для кратковременной остановки сердца. Мы полагаем, что гипополяризация мембран при острых коронарных синдромах может быть причиной внезапной смерти больных и без применения каких-либо лекарственных средств.

По-видимому, при внутривенном введении животным новокаинамида и этацизина снижается цитозольная концентрация ионов  $Na^+$ , нарушается функция  $Na^+/K^+$ -АТФазы и в клетку поступает недостаточное количество ионов  $K^+$ . При этом возникает компенсаторная активация кальциевых каналов. Следовательно, в конечную фазу реполяризации (в фазу 3) из клеток уходит в межклеточную жидкость сравнительно мало ионов  $K^+$ , что вызывает уменьшение негативности мембранного потенциала покоя. В зависимости от степени гипополяризации мембран возникает либо патологическая активация натриевых или кальциевых каналов, либо кардиоплегия, продолжительность которой зависит от степени гипополяризации мембран [8,9].

Не претендуя на высокую точность определения степени гипополяризации мембран, отметим, что прижизненная регистрация гипополяризационных АС без вскрытия грудной клетки открывает новые возможности в изучении патогенеза внезапной смерти больных ИБС при лечении блокаторами натриевых каналов и другими фармакологическими средствами. Методика исследования гипополяризационных АС может быть также использована для изучения патогенеза аритмогенных эффектов антиаритмических препаратов.

### Выводы

1. Блокада натриевых каналов новокаинамидом и этацизином увеличивает степень гипополяризации мембран кардиомиоцитов, вследствие чего при введении минимальных аритмогенных доз хлорида калия возникают гипополяризационные нарушения ритма, кардиоплегия и гибель  $50 \pm 8$  % животных ( $p < 0,05$ ).

2. При восстановлении ритма сердца после периода кардиоплегии у животных регистрируются гипополяризационные аритмии сердца (экстрасистолия, АВ- и внутрижелудочковые блокады, короткие эпизоды трепетания или фибрилляции желудочков), частота и продолжительность которых зависит от дозы блокаторов натриевых каналов.

3. Результаты проведенных экспериментов позволяют предположить, что у больных ИБС при лечении аритмий сердца блокаторами натриевых каналов в патогенезе внезапной смерти могут иметь решающее значение гипополяризационные нарушения ритма.

**Литература**

1. Сулимов В.А. «Сицилианский гамбит»: патофизиологический подход к медикаментозной антиаритмической терапии // Тер. архив.- 1999.- № 8.- С. 67-74.
2. Kastor J.A. (2000) Arrhythmias.W. Saunders Company, Philadelphia, 477 p.
3. Дядык А.И., Багрий А.Э., Приколота О.А. и др. Патогенез желудочковых нарушений ритма при остром инфаркте миокарда// Укр. медичн. часопис. — 2002.- № 3 (29).- С. 92-97.
4. Ягельський А. Запобігання раптової смерті: еволюція підходів (Коментар)// Медицина світу. - 1999.- Т.4, ч.1.- С. 10-14.
5. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators. Effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction // New Engl. J. Med. — 1989. — Vol. 321. — P. 406-412.
6. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial II (CAST) Investigators. Effect of antiarrhythmic agent moricizine on survival after myocardial infarction // Ibid. — 1992. — Vol. 327. — P. 227-233.
7. Ольбинская Л.И., Литвицкий П.Ф. Коронарная и миокардиальная не достаточность. М.: «Медицина».-1986.- 266 с.
8. Гоффман Б., Крейнфилд П. Электрофизиология сердца. Пер. с англ. М.: Издательство иностранной литературы. — 1962.- 381 с.
9. Карагезиан Х.С., Мандел В.Дж. Электрофизиологические механизмы ишемических нарушений ритма желудочков: корреляция экспериментальных и клинических данных. В кн. Аритмии сердца. Механизмы, диагностика, лечение / Под ред. В.Дж.Мандела. В 3-х т. Пер. с англ. М.: «Медицина».- 1996.- Т. 1. — С. 263-303.
10. Суравиц Б. Связь между аномалиями электролитного состава и аритмией. В кн. Аритмии сердца. Механизмы, диагностика, лечение/ Под ред. В.Дж.Мандела. В 3-х т. Пер. с англ. М.: «Медицина».- 1996.- Т. 1. — С. 156-189.

**Abstract**

*In laboratory rats, a minimal arrhythmogenic dose of 1,5% KCl solution (15 mg/kg) was injected intravenously in 2 seconds. Hypopolarization arrhythmias were registered in 3-10 seconds, followed by regular sinus rhythm. In experimental groups, the animals received a minimal arrhythmogenic dose of KCl in 5 minutes after intravenous infusion of 1% novocainamidum (20 mg/kg) or 0,25% ethacyzin (4 mg/kg). In all 20 rats, Na<sup>+</sup> channel blocker and KCl bolus administration resulted in cardioplegy; in every second animal, asystolia and death were registered (40% and 60%, respectively). Therefore, in coronary heart disease patients, receiving Na<sup>+</sup> channel blockers, sudden death pathogenesis might be influenced by membrane hyperpolarization, due to Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase dysfunction, low cytosol concentration of K<sup>+</sup> ions, and their decreased flow from the cells in final repolarization phase.*

**Keywords:** Sudden death, cardiac arrhythmias, membrane hyperpolarization, hyperkalemia, arrhythmogenic effects of antiarrhythmics.

*Поступила 20/12-2005*