

## ВЛИЯНИЕ НЕСЕЛЕКТИВНОГО $\beta$ -АДРЕНОБЛОКАТОРА КАРВЕДИЛОЛА НА ЭСТРАСИСТОЛИЧЕСКИЕ И ПОСТЭСТРАСИСТОЛИЧЕСКИЕ СОКРАЩЕНИЯ ИЗОЛИРОВАННОГО МИОКАРДА КРЫС ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА

С. А. Афанасьев, Д. С. Кондратьева, О. Д. Путрова, В. А. Перчаткин, А. Н. Репин, С. В. Попов<sup>1</sup>

Исследованы особенности экстрасистолического и постэкстрасистолического сокращения изолированного миокарда крыс 4-месячного возраста (I группа,  $n = 30$ ) и 12 месяцев (II группа,  $n = 30$ ) после постинфарктного ремоделирования сердца (ПИКС) и курсового воздействия карведилола. Каждая возрастная группа включала по 10 интактных животных, животных с ПИКС и животных с ПИКС, которым через 45 дней после выполнения коронароокклюзии в желудок вводили карведилол в течение 28 дней в дозе 2,1 мг/кг. Сократимость регистрировали в изометрическом режиме при частоте электрической стимуляции 0,5 Гц. Экстрасистолическое воздействие осуществляли внеочередным электрическим импульсом, подаваемым в интервале 0,2 – 1,5 с после базовой стимуляции. Показано, что инотропный ответ миокарда на экстрасистолические воздействия имеет выраженную возрастную специфику как у интактных животных, так и с ПИКС. Выявленные различия могут быть связаны с тем, что у животных разного возраста ион-транспортирующие системы сарколеммы и саркоплазматического ретикулума (СПР) кардиомиоцитов в разной степени вовлечены в модуляцию процесса электромеханического сопряжения при развитии ПИКС. Курсовое использование карведилола позволило восстановить до возрастной нормы  $Ca^{2+}$ -аккумулирующие возможности СПР у молодых животных и снизить риск развития гемодинамически значимых нарушений сердечного ритма у животных старшей возрастной группы.

**Ключевые слова:** карведилол,  $\beta$ -адреноблокаторы, миокард, постинфарктное ремоделирование, саркоплазматический ретикулум

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время  $\beta$ -адреноблокаторы стали признанным дополнением к стандартной терапии хронической сердечной недостаточности (ХСН). Теоретическим основанием этому служит признание роли симпатoadрeнaлoвoй системы в развитии сердечнососудистой патологии [7]. Опубликованы данные, доказывающие, что наряду со стандартной терапией ХСН, включающей сердечные гликозиды, мочегонные и ингибиторы АПФ,  $\beta$ -блокаторы являются эффективным терапевтическим средством для лечения больных с этой патологией [15]. Одним из первых  $\beta$ -блокаторов, эффективно использованных при лечении ХСН, является карведилол. Показано, что этот препарат, кроме неселективного  $\beta$ -блокирующего действия может оказывать вазодилатирующий, антиоксидантный, антиапоптозный эффекты [13, 14]. Целесообразность использования карведилола при хронической сердечной недостаточности показана в исследованиях, включающих пациентов в широком возрастном диапазоне. Однако вопрос об особенностях использования  $\beta$ -блокаторов при лечении хронической сердечной недостаточности у пожилых и более молодых пациентов продолжает обсуждаться [8, 9]. Вполне вероятно, что у пациентов разных возрастных групп способность  $\beta$ -блокаторов, и в частности, карведилола, снижать относительный риск смерти может ре-

ализоваться разным путем и зависеть от состояния кардиомиоцитов. Известно, что важным фактором, обеспечивающим функциональную активность клеток сердечной мышцы, является гомеостаз ионов кальция и их участие в обеспечении контрактильной активности кардиомиоцитов. При этом поддержание внутриклеточного гомеостаза ионов кальция зависит от состояния ион-транспортирующих механизмов сарколеммы и саркоплазматического ретикулума (СПР) [4, 5].

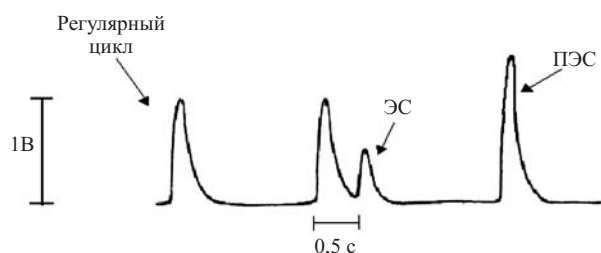
Целью настоящей работы было исследовать влияние неселективного  $\beta$ -блокатора карведилола на развитие изменений внутриклеточного гомеостаза  $Ca^{2+}$  в кардиомиоцитах крыс разных возрастных групп при постинфарктном ремоделировании сердца.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 60 крысах-самцах линии Вистар. Были сформированы две возрастные группы: 4 месяца — массой 200 – 250 г ( $n = 30$ ), I группа и 12 месяцев — массой 400 – 450 г ( $n = 30$ ), II группа. Каждая возрастная группа включала 10 интактных животных, 10 крыс с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС) и 10 крыс с ПИКС, которые получали карведилол (ЗАО “Макиз-фарма”, Россия).

Для моделирования инфаркта миокарда и формирования постинфарктного кардиосклероза животным выполняли коронароокклюзию в области верхней трети левой коронарной артерии [6, 10]. Через 45 суток после операции 10 животным в каждой возрастной группе в течение

<sup>1</sup> Учреждение РАМН НИИ кардиологии СО РАМН, Томск, 634012, ул. Киевская, 111а; E-mail dina@cardio.tsu.ru



**Рис. 1.** Типичный вид кривой изометрического сокращения папиллярных мышц, выделенных из миокарда крысы.

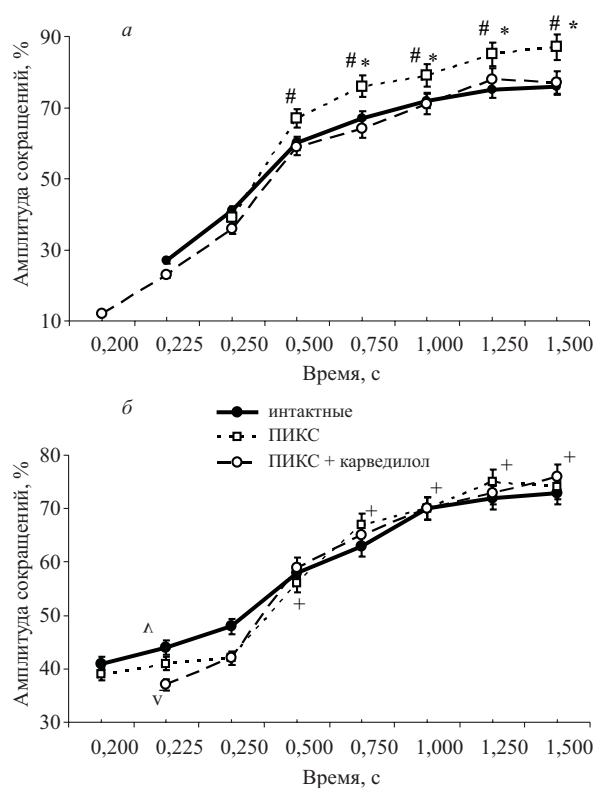
0,5 с — экстрасистолический интервал, ЭС — экстрасистолическое сокращение, ПЭС — постэкстрасистолическое сокращение.

28 дней в желудок вводили карведилол в дозе 2,1 мг/кг. Эта доза была подобрана в ходе предварительных исследований и вызывала у животных снижение частоты сердечных сокращений на 20 %.

Контрактильные возможности сердечной мышцы оценивали по изменению изометрического инотропного ответа папиллярных мышц левого желудочка. Для их выделения животных, находящихся под легким эфирным наркозом, обездвигивали смещением шейного отдела позвоночника, вскрывали грудную клетку, выделяли сердце и помещали его в охлажденный раствор Кребса — Хензелейта. Вскрывали полость левого желудочка, выделяли папиллярную мышцу и помещали ее в термостабилизированную проточную камеру. Один конец мышцы фиксировали неподвижно к стенке камеры, второй — закрепляли на штоке изометрического датчика (механотрон 6МХ1С) [6]. Папиллярные мышцы имели длину 5–6 мм и поперечное сечение не более 1 мм. Перфузию мышц осуществляли при температуре  $36 \pm 0,5$  °C раствором Кребса — Хензелейта. Для оксигенации раствора использовали газовую смесь карбоген ( $O_2$  — 95 %,  $CO_2$  — 5 %). Мышцы стимулировали электрическими импульсами прямоугольной формы длительностью 5 мс, подаваемыми на два массивных серебряных электрода, размещенных в перфузионной камере. Базовая частота стимулирующих импульсов составляла 0,5 Гц [6].

Состояние внутриклеточного гомеостаза кальция оценивали по инотропным реакциям мышц на внеочередные электрические импульсы (экстрасистолическое воздействие), имеющие те же характеристики, что и импульсы базовой стимуляции [16]. Эти воздействия производили через 0,2–1,5 с (экстрасистолический интервал) от начала регулярного стимулирующего импульса. Возбудимость сарколеммы оценивали по изменению цикла сокращение-расслабление в ответ на экстрасистолическое воздействие, а способность СПР аккумулировать ионы кальция, дополнительно поступающие при этом в миоплазму, — по изменению амплитуды постэкстрасистолического цикла [16].

В эксперименты включали папиллярные мышцы, способные развивать к концу 60-й минуты адаптационного периода усилие не менее 1/2 калибровочного сигнала, равного 1 В. Для оценки достоверности различий полученных данных использовали ранговый критерий Манна — Уитни.

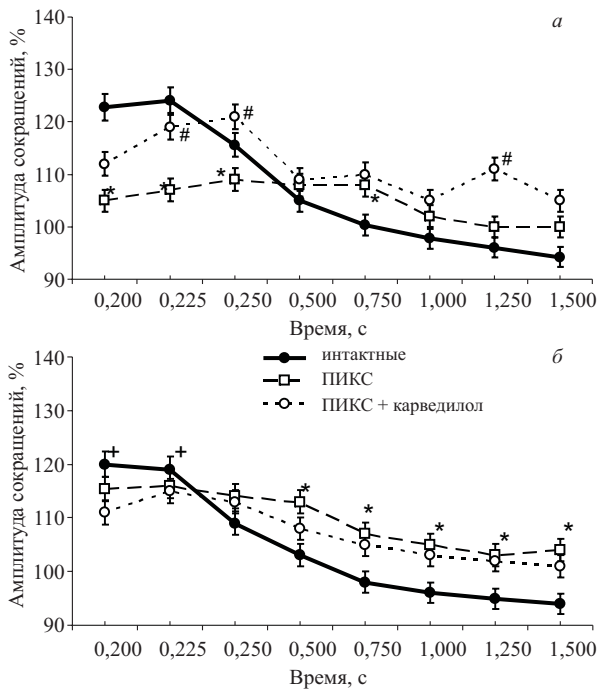


**Рис. 2.** Влияние карведилола на экстрасистолические сокращения миокарда крыс с ПИКС 4-месячного (а) и 12-месячного (б) возраста.

Здесь и на рис. 3 достоверность различий: # —  $p < 0,05$  между крысами с ПИКС и с ПИКС на фоне применения карведилола; \* —  $p < 0,05$  между крысами с ПИКС и интактных животных; + —  $p < 0,05$  между группами крыс с ПИКС 4- и 12-месячного возраста;  $\wedge$  —  $p < 0,05$  между группами интактных 4- и 12-месячных крыс;  $\vee$  —  $p < 0,05$  между группами крыс с ПИКС на фоне применения карведилола 4- и 12-месячного возраста.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В наших работах и работах других авторов показано, что воздействие на перфузируемые папиллярные мышцы внеочередным электрическим импульсом изменяет форму кривой изометрического сокращения [1, 11]. На ее заднем фронте (рис. 1) появляется дополнительное экстрасистолическое сокращение. Показано, что чем ближе экстрасистолическое воздействие к фазе абсолютной рефрактерности, тем меньше выраженность экстрасистолического сокращения. В свою очередь увеличение длительности рефрактерного периода будет снижать инотропное проявление экстрасистолического воздействия. Сопоставление инотропных эффектов, развивающихся после экстрасистолических воздействий на папиллярные мышцы интактных животных и животных с ПИКС, выявило ряд возрастных особенностей. У 4-месячных животных экстрасистолический ответ удавалось получить при экстрасистолических интервалах не менее чем 0,225 с. При этом, у животных с ПИКС при больших экстрасистолических интервалах был получен достоверно более выраженный инотропный ответ (рис. 2, а). У 12-месячных животных на фоне ПИКС мы не выявили значимых изменений экстрасистолического ответа. Но



**Рис. 3.** Влияние карведилола на постэкстрасистолические сокращения миокарда 4-месячного (а) и 12-месячного (б) крыс с ПИКС

Обозначения те же, что на рис. 2.

для животных этой возрастной группы был характерен более ранний и выраженный экстрасистолический ответ (рис. 2, б).

Применение карведилола у животных с ПИКС разных возрастных групп имело разные последствия. Как видно на рис. 2, а, у животных I группы после использования препарата отмечалось снижение экстрасистолического ответа до значений, характерных для миокарда интактных животных. Во II группе у животных с ПИКС, получавших карведилол, мы не выявили изменений выраженности экстрасистолического инотропного ответа. Однако, как видно на рис. 2, б, он стал наблюдаться при экстрасистолическом интервале длительностью не менее 0,225 с, что в нашем исследовании было характерно для более молодых интактных животных. Представленные данные показывают, что применение карведилола на фоне ПИКС независимо от возраста животных позитивно влияет на процесс электромеханического сопряжения в клетках сердечной мышцы. При этом действие препарата, видимо, реализуется за счет модуляции разных внутриклеточных механизмов, ответственных за поддержание гомеостаза ионов кальция. У животных младшей возрастной группы эффект обусловлен снижением возбудимости клеток, тогда как у животных старшей возрастной группы преобладает влияние препарата на  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортные системы СПР. Известно, что амплитуда экстрасистолического сокращения особенно при больших экстрасистолических интервалах, обусловлена не только дополнительным поступлением ионов кальция, но и ионами, депонированными в СПР. Для проверки высказанных предположений мы проанализировали амплитуду первого постэкстрасистолического сокращения при используемых экстрасистолических интервалах. Известно,

что внеочередной импульс электрической стимуляции, приходящийся на фазу относительной рефрактерности потенциала действия, инициирует поступление дополнительных ионов кальция из внеклеточного пространства в миоплазму [5, 11, 16]. Эти ионы депонируются в СПР и участвуют в первом постэкстрасистолическом цикле сокращения-расслабления. Функциональным проявлением этого явления служит эффект постэкстрасистолической потенциации (ПЭП) инотропного ответа сердечной мышцы. Типичный вид такой потенциации, наблюдаемой при исследовании папиллярных мышц интактных животных, представлен на рис. 1.

В нашем исследовании (рис. 3, а, б) динамика изменений постэкстрасистолических сокращений у интактных животных I и II групп была одинаковой, а ее выраженность достоверно не различалась между группами. Принципиально иной результат был получен при исследовании миокарда животных с ПИКС и после курсового применения карведилола на фоне ПИКС. Как видно на рис. 3, а, для животных I группы с контрольным ПИКС была характерна слабо выраженная постэкстрасистолическая потенциация, что указывает на относительно небольшое увеличение пула ионов кальция в СПР. Во II группе, напротив, мы получили выраженную постэкстрасистолическую потенциацию (рис. 3, б). При этом, в отличие от интактных животных этой же группы, потенциация была достоверно значима и при экстрасистолических интервалах большой длительности.

Выявленное различие может быть обусловлено тем, что изменение свойств СПР в процессе ремоделирования сердца и формирования кардиосклероза после экспериментального инфаркта обусловлено исходным, в том числе возрастным, состоянием этого внутриклеточного компартмента.

Так, у животных I группы часть кальция, депонированного в СПР, уже при малых экстрасистолических интервалах расходуется на экстрасистолическое сокращение, а затем или не поступает в СПР, или не успевает транспортироваться из его продольных структур в терминальные цистерны, где происходит депонирование и выброс ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . У животных II группы такого обеднения пула  $\text{Ca}^{2+}$  в СПР не происходило. Можно предположить, что у животных старшей возрастной группы процесс ремоделирования сопровождался увеличением  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих возможностей СПР, что позволяет предупреждать развитие кальциевой перегрузки кардиомиоцитов сохранного миокарда.

Если усиление амплитуды постэкстрасистолических сокращений у животных старшей возрастной группы с ПИКС обусловлено изменениями  $\text{Ca}$ -транспортных систем СПР, можно ожидать, что их дальнейшее усиление, в том числе с помощью фармакологических препаратов, будет невозможно или мало эффективно. Это предположение подтвердили данные, полученные нами при выполнении экстрасистолических тестов на миокарде животных с ПИКС и курсовым воздействием карведилола. Оказалось, что у таких животных из II группы использование карведилола практически не повлияло на постэкстрасистолическую потенциацию (рис. 3). У животных I группы (рис. 3, б) использование карведилола привело к достоверному увеличению постэкстрасистоличес-

ской потенциации относительно животных с контрольным ПИКС. В диапазоне экстрасистолических интервалов 0,2 – 0,5 с выраженность потенциации соответствовала значениям интактных животных, а при больших интервалах даже превышала их.

Полученные результаты не противоречат нашим ранее проведенным исследованиям [2, 3] и данным ряда авторов о том, что препараты, влияющие на симпатoadренальную систему у кардиологических больных, могут иметь возрастную специфичность [8]. При этом, видимо, следует согласиться с тем, что трудно определить конкретные механизмы благоприятного действия карведилола у больных хронической сердечной недостаточностью [12]. Однако структурные перестройки клеточных компартов и изменение функциональной активности связанных с ними ион-транспортующих систем также могут оказаться значимым фактором в определении клинической эффективности  $\beta$ -блокирующей терапии у лиц разных возрастных групп.

## ВЫВОДЫ

1. Развитие постинфарктного ремоделирования сохранного миокарда после экспериментального инфаркта в зависимости от возраста животного оказывает разный модифицирующий эффект на ион-транспортующие системы, ассоциированные с сарколеммой и СПР (саркоплазматический ретикулум).

2. Различие в функциональном резерве ион-транспортующих систем сарколеммы и СПР может определять неоднозначную эффективность карведилола при лечении хронической сердечной недостаточности.

3. Карведилол при курсовом использовании у молодых животных с ПИКС позволяет нормализовать функцию СПР, увеличивая ее  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающую составляющую и предупреждая развитие кальциевой перегрузки.

4. У животных старшей возрастной группы карведилол обеспечивает преимущественное снижение возбудимости клеточной мембраны.

5. Выявленные особенности действия карведилола на функциональный резерв СПР животных разных возрастных групп следует учитывать при использовании этого препарата в клинической практике.

## ЛИТЕРАТУРА

1. С. А. Афанасьев, Н. В. Нарыжная, И. А. Лукавская и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(6), 24 – 28 (2003).
2. С. А. Афанасьев, Ю. Б. Лишманов, Б. Ю. Кондратьев, и др., *Физиология человека*, **23**(5), 58 – 62 (1997).
3. С. А. Афанасьев, А. В. Лебедев, А. М. Чернявский и др., *Физиология человека*, **22**(4), 91 – 95 (1996).
4. А. М. Караськов, А. Б. Егоров, И. В. Антонченко и др., *Патология кровообращения и кардиохирургия*, № 1, 80 – 84 (2003).
5. В. С. Мархасин, Л. Б. Кацнельсон, Л. В. Никитина и др., *Биомеханика неоднородного миокарда*, Екатеринбург (1999).
6. Т. Ю. Реброва, Д. С. Кондратьева, С. А. Афанасьев, Е. И. Барзах, *Кардиология*, № 6, 41 – 45 (2007).
7. Е. В. Шляхто, А. О. Конради, В. А. Цырлин, *Вегетативная нервная система и артериальная гипертензия*, Санкт-Петербург “Медицинская литература” (2008), с. 312.
8. J. Ali Raza and A. Movahed, *Int. J. Cardiol.*, **85**, 203 – 215 (2002).
9. E. Erdmann, P. Lechat, P. Verkenne, and H. Wiemann, *Eur. J. Heart. Fail.*, **3**, 469 – 479 (2001).
10. A. M. Gomez, S. Guatimosim, K. W. Dilly, et al., *Circulation*, **104**, 688 – 693 (2001).
11. F. D. Marengo, M. T. Marquez, P. Bonazzola, and J. E. Ponce-Hornos, *Am. J. Physiol.*, **276**, H309-H316 (1999).
12. P. A. Poole-Wilson, R. Swedberg, J. G. F. Cleland, et al., *Lancet*, **362**, 7 – 13 (2003).
13. L. Rossig, J. Haendeler, Z. Mallat, et al., *J. Am. Coll. Cardiol.*, **36**, 2081 – 2089 (2000).
14. R. R. Ruffolo and G. Z. Feuerstein, *Eur. Heart. J.*, **19**(Suppl. B), 19 – 24 (1998).
15. K. Witte, S. Thackray, A. Clark, et al., *Eur. J. Heart. Failure*, **2**, 455 – 460 (2000).
16. M. Yano, Y. Ikeda, and M. Matsuzaki, *O. Clin. Invest.*, **115**, 556 – 564 (2005).

Поступила 03.05.09

## INFLUENCE OF NONSELECTIVE $\beta$ -ADRENOBLOCKER CARVEDILOL ON EXTRASYSTOLIC AND POSTEXTRASYSTOLIC CONTRACTILITY OF RAT MYOCARDIUM AFTER EXPERIMENTAL INFARCTION

S. A. Afanas'ev, D. S. Kondrat'eva\*, O. D. Putrova, V. A. Perchatkin, A. N. Repin, and S. V. Popov

Institute of Cardiology, Siberian Branch of, Russian Academy of Medical Sciences, Kievskaya ul. 111a, Tomsk, 634012, Russia

\* e-mail: dina@cardio.tsu.ru

Features of the extrasystolic and postextrasystolic contractility of myocardium isolated from rats aged 4 months (group I,  $n = 30$ ) and 12 months (group II,  $n = 30$ ) after postinfarction remodeling of the heart (PIRH) and long-term treatment with carvedilol have been studied. Each age group included in 10 intact control animals, 10 animals with postinfarction cardiosclerosis (PICS), and 10 rats with PICS treated with carvedilol (2.1 mg/kg) during 28 days, beginning with the 45th day after coronary occlusion. The isometric contractility of myocardium was monitored at an electric stimulation frequency of 0.5 Hz. The extrasystolic effect was produced by an electric pulse applied within 0.2 – 5 s interval after the basic stimulation. It is established that the inotropic response of myocardium to the extrasystolic impulse exhibits age-dependent features both the intact rats and in the rats with PICS. The differences can be related to the age-dependent involvement of the ion-transport systems of sarcolemma and sarcoplasmic reticulum into the modulation of excitation – contractility coupling during PIRH. The long-term treatment with carvedilol led to restoration of the  $\text{Ca}^{2+}$ -accumulation reserve of sarcoplasmic reticulum to the age-normal level in young animals and decreased the risk of development of hemodynamically significant heart rate disturbances in old rats.

**Key words:** Carvedilol,  $\beta$ -adrenoblockers, myocardium, postinfarction remodeling, sarcoplasmic reticulum