

К механизму антиаритмического действия фабомотизола дигидрохлорида при алкогольной кардиомиопатии

Мирошкина И.А.¹, Кожевникова Л.М.^{1,2}, Цорин И.Б.¹, Столярук В.Н.¹, Вититнова М.Б.¹, Крыжановский С.А.¹, Дурнев А.Д.¹

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

² – ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Аннотация. Известно, что основной причиной летальности от хронического алкоголизма является алкогольная кардиомиопатия (АКМП). Для АКМП крайне высок риск развития злокачественных нарушений сердечного ритма, исходом которых приблизительно у 40 % такого рода больных является внезапная сердечная смерть. *Материалы и методы.* Эксперименты проводили на разработанной нами трансляционной модели АКМП, которая формируется у крыс к концу 24-й недели принудительного приёма 10 % раствора этанола. Для изучения механизмов, лежащих в основе антиаритмического действия фабомотизола дигидрохлорида, использовали комплекс морфогистологических, электрофизиологических и молекулярных исследований. *Результаты.* Показано, что на фоне систематической терапии фабомотизола дигидрохлоридом (15 мг/кг, в/б) ежедневно в течение 28 дней, начатой по окончании 24-й недели алкоголизации, по сравнению с алкоголизированным контролем значительно уменьшается жировая дистрофия миокарда и восстанавливается порог электрической фибрилляции желудочков сердца. Согласно результатам молекулярных исследований, фабомотизола дигидрохлорид значимо подавляет выявленную у контрольных алкоголизированных животных аномальную экспрессию мРНК генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в кардиомиоцитах гомеостаза ионов Ca⁺⁺ и регуляцию их ритмической активности: регуляторных белков Epac1 ($p=0,021$), Epac2 ($p=0,018$), CaM ($p=0,00001$), а также RyR2 ($p=0,031$), IP3R2 ($p=0,006$) рецепторов. *Заключение.* Полученные результаты позволяют высказать предположение о том, что антиаритмическое действие фабомотизола дигидрохлорида в условиях АКМП связано с его способностью подавлять аномальную активность регуляторных белков Epac2 и RyR2, IP3R2 рецепторов.

Ключевые слова: фабомотизола дигидрохлорид; алкогольная кардиомиопатия; жировая дистрофия миокарда; электрическая стабильность кардиомиоцитов; Epac1; Epac2; CaM; RyR2; IP3R2

Для цитирования:

Мирошкина И.А., Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. К механизму антиаритмического действия фабомотизола дигидрохлорида при алкогольной кардиомиопатии. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2021;(1):30–37. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-1-30-37>

Поступила: 18 октября 2020 г. **Принята:** 30 октября 2020 г. **Опубликована:** 20 февраля 2021 г.

On the mechanism of the antiarrhythmic action of fabomotizole hydrochloride in alcoholic cardiomyopathy

Miroshkina IA¹, Kozhevnikova LM^{1,2}, Tsorin IB¹, Stolyaruk VN¹, Vititnova MB¹, Kryzhanovskii SA¹, Durnev AD¹

¹ – FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russia

² – FSBI «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Moscow, Russia

Abstract. It is known that the alcoholic cardiomyopathy (ACMP) is the main reason for lethality from chronic alcoholism. For ACMP the risk of development of malignant violations of a heart rhythm which result approximately at 40% of such patients is sudden heart death is extremely high. *Materials and methods.* Experiments were made on the ACMP translational model developed by us which is formed at rats by the end of the 24th week of compulsory reception of 10 % of ethanol solution. For studying the mechanisms which are the responsible of antiarrhythmic action of a fabomotizole dihydrochloride used a complex of morphohistological, electrophysiological and molecular researches. *Results.* It is shown that against the background of systematic therapy fabomotizole dihydrochloride (15 mg/kg, i.p.) daily within 28 days after 24 weeks of alcoholization, in comparison with alcoholized control the fat dystrophy of a myocardium significantly decreases and the threshold of electric fibrillation of heart ventricles is restored. According to results of molecular researches, a fabomotizole dihydrochloride significantly suppresses revealed in control alcoholized animals the abnormal mRNA expression of key receptor genes and proteins responsible for maintenance in cardiomyocytes of a homeostasis of ions of Ca⁺⁺ and regulation of their rhythmic activity: regulatory proteins Epac1 ($p=0.021$), Epac2 ($p=0.018$), CaM ($p=0.00001$) and also RyR2 ($p=0.031$), IP3R2 ($p=0.006$) receptors. *Conclusion.* The obtained results suggest that antiarrhythmic action of a fabomotizole dihydrochloride in the conditions of ACMP is connected with its ability to suppress abnormal activity of regulatory proteins Epac2 and RyR2, IP3R2 receptors.

Keywords: fabomotizole dihydrochloride; alcoholic cardiomyopathy; fat dystrophy of a myocardium; electric stability of cardiomyocytes; Epac1; Epac2; RyR2; IP3R2

For citations:

Miroshkina IA, Kozhevnikova LM, Tsorin IB, Stolyaruk VN, Vititnova MB, Kryzhanovskii SA, Durnev AD. On the mechanism of the antiarrhythmic action of fabomotizole hydrochloride in alcoholic cardiomyopathy. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2021;(1):30–37. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-1-30-37>

Received: October 18, 2020. **Accepted:** October 30, 2020. **Published online:** February 20, 2021

Введение / Introduction

Основной причиной летальности от хронического алкоголизма (50–60 % случаев) является алкогольная кардиомиопатия (АКМП), которая составляет до 47 % случаев от всех дилатационных кардиомиопатий [1, 2]. Четырёхлетняя летальность пациентов со сформировавшейся АКМП в случае продолжения приёма алкоголя достигает 50 % [3]. Основным клиническим

проявлением АКМП, помимо признаков хронической сердечной недостаточности, являются злокачественные нарушения сердечного ритма. Согласно результатам крупного перекрестного исследования, включившего в себя 75 430 историй болезней пациентов с АКМП, у 48 % из них были выявлены преимущественно злокачественные нарушения сердечного ритма, среди которых преобладала фибрилляция/трепетание предсердий (32 %) и желудочковая тахикардия (8 %) [4].

Риск развития злокачественных желудочковых аритмий возникает при снижении фракции выброса левого желудочка сердца ниже 40 % [5]. Поскольку течение АКМП практически в 50 % случаев отягощают преимущественно злокачественные нарушения сердечного ритма, нет ничего удивительно в том, что у этой категории больных крайне высок риск внезапной сердечной смерти (ВС). ВС диагностируется у 30–40 % пациентов с АКМП [6]. Эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что среди всех причин ВС алкогольная кардиомиопатия занимает 2–3 место [7], а у лиц, моложе 35 лет, страдающих хроническим алкоголизмом, ВС диагностируется чаще, чем при других аритмогенных заболеваниях, в том числе аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка и ишемической болезни сердца [8].

Ранее на разработанной нами трансляционной модели АКМП у крыс было показано, что в период абстиненции разработанный и фармакологически изученный в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» анксиолитик фабомотизола дигидрохлорид оказывает кардиопротективное действие. Препарат, активизируя репаративные процессы в миокарде, уменьшает конечно-систолический и конечно-диастолический размеры левого желудочка сердца и увеличивает его инотропную функцию [9]. Кардиопротективное действие фабомотизола дигидрохлорид, по-видимому, во многом связано с его агонистическим влиянием на σ_1 -рецепторы [10] кардиомиоцитов (КМ), являющиеся своеобразным возникшим в ходе эволюции ремонтным комплексом клетки [11].

Цель исследования. Изучение морфологических, электрофизиологических и молекулярных механизмов, лежащих в основе антиаритмической активности фабомотизола дигидрохлорид у крыс с АКМП.

Материалы и методы / Materials and methods

Животные. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах изначальной массой 180–200 г, полученных из Филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область). Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Животных содержали в соответствии с приказом Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Крысы основной и контрольной групп содержались в индивидуальных клетках стандарта Т/3. Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова,

международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC)), а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утверждёнными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Экспериментальный протокол. На 1-м этапе исследования животных рандомизировали на две группы: 1-я ($n = 8$) – интактные крысы, получавшие обычный рацион питания и свободный доступ к воде; 2-я ($n = 16$) – животные, получавшие обычный рацион питания и в качестве единственного источника жидкости 10 % алкоголь. По окончании 24-й недели, после подтверждения наличия у крыс 2-й группы эхокардиографических признаков сформировавшейся АКМП, алкоголизацию животных 2-й группы прекращали и крыс вновь рандомизировали на две подгруппы: 2а – основная и 2б – контрольная. Животным подгруппы 2а ($n = 8$) ежедневно в течение 28 дней вводили фабомотизола дигидрохлорид (15 мг/кг, в/б) в 0,2–0,3 мл изотонического 0,9 % раствора натрия хлорида; крысам подгруппы 2б ($n = 8$) по аналогичной схеме вводили эквивалентный объём изотонического 0,9 % раствора натрия хлорида. Через сутки после последней инъекции животных подвергали эвтаназии, вскрывали грудную клетку и забирали сердца для гистологических и молекулярных исследований. В отдельной серии экспериментов оценивали влияние фабомотизола дигидрохлорид на порог электрической фибрилляции желудочков сердца. Животные были рандомизированы на 3 группы: 1-я ($n = 6$) – интактные животные, 2-я ($n = 6$) – АКМП и 3-я ($n = 6$) – АКМП + фабомотизола дигидрохлорид. Фабомотизола дигидрохлорид (15 мг/кг, в/б) вводили ежедневно в течение 28 дней после эхокардиографического подтверждения наличия АКМП по окончании 24 недель алкоголизации. Животные 2-й группы по аналогичной схеме получали эквивалентный объём изотонического 0,9 % раствора натрия хлорида.

Определение порога фибрилляции. Крыс анестезировали (уретан, 1300 мг/кг, в/б) и фиксировали на операционном подогреваемом столике Surgi Suite (Kent Scientific Corporation, США) в положении на спине и переводили на искусственное дыхание при помощи аппарата искусственной вентиляции лёгких для мелких животных (Ugo Basele, Италия). Частоту и глубину дыхания подбирали индивидуально для каждого животного. Затем вскрывали грудную клетку, производили sternэктомию, перикардотомию. На свободную стенку левого желудочка сердца на расстоянии 0,5 см друг от друга подшивали два позолоченных электрода. Порог электрической фибрилляции (ПЭФЖ) сердца определяли повторяющимся сканированием уязвимого периода сердечного цикла серией из 20 прямоугольных импульсов постоянного тока увеличивающейся интенсивности (длительность стимула – 4 мс, частота – 50 имп/с). За порог фибрилляции желудочков

принимали минимальную силу тока, вызывающую при двукратном повторении фибрилляцию желудочков. В работе использовали электростимулятор HSE Stimulator (Hugo Sach Electronik, Германия). В течение всего эксперимента регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении. В качестве регистратора использовали электрокардиограф ЭК 4Т-02 (ОАО «Красногвардеец», Россия). Визуальный контроль регистрируемых параметров в течение всего эксперимента производили при помощи 4-канального осциллоскопа фирмы Siemens (Германия).

Морфологические исследования. Крысы декапитировали, сердца извлекали из грудной клетки, фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина и заключали в парафиновые блоки. Срезы толщиной 5 мкм вырезали и помещали на предметное стекло с полилизинным покрытием (Menzel). Их окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами с 1 % водным раствором эозина. Срезы оценивали в проходящем свете (увеличение $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$) под микроскопом Nikon eclipse 55i (Nikon, Япония). В дальнейшем гистологические срезы сердец фотографировали. Фотографии сердец сохраняли в формате Jpeg и анализировали с помощью программы Adobe Photoshop CS5.

Молекулярные исследования. Наркотизированных крыс (уретан, 1300 мг/кг, в/б) декапитировали, вскрывали грудную клетку, извлекали сердца, брали образец ткани левого желудочка. Образцы тканей отмывали от крови и очищали от соединительной ткани и жира в физиологическом растворе хлорида натрия при $+4^\circ\text{C}$, затем помещали в раствор RNAlater (США, Ambion) и хранили при температуре -20°C .

Выделение суммарной РНК. Образцы, извлечённые из раствора RNAlater, освобождали от остатков жидкости и гомогенизировали при помощи жидкого азота и фарфоровой ступки, переносили в TRI[®] Reagent (США, Sigma) и проводили выделение тотальной РНК в соответствии с протоколом производителя TRI[®] Reagent.

Концентрацию суммарной РНК в образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop[®] ND-1000 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США). В дальнейшую пробоподготовку брали образцы суммарной РНК с отношением показателей абсорбции при длинах волн 260/280 нм не ниже 2,0.

Приготовление образцов суммарной РНК, свободной от ДНК. Выделенную суммарную РНК (1 мкг) для предотвращения контаминации геномной ДНК обрабатывали ДНКазой I. Добавив все компоненты, смесь инкубировали при 37°C в течение 30 минут. Фермент инактивировали нагреванием при 65°C в течение 10 минут, предварительно добавив 25 мМ ЭДТА, из расчёта 1 мкл на 10 мкл реакционной смеси, для предотвращения гидролиза РНК в процессе нагревания.

Синтез первой цепи комплементарной ДНК. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием гексамерных Random праймеров и обратной транс-

криптазы M-MuLV в составе набора RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (США) в соответствии с протоколом производителя. Синтезированную кДНК хранили при -20°C .

Полимеразная цепная реакция «в реальном времени» (ПЦР-РВ). Для амплификации фрагментов кДНК исследуемых генов и генов «домашнего хозяйства» использовали наборы специфических праймеров и универсальный набор реактивов для проведения ПЦР-РВ фирмы «Евроген» (Россия), содержащий референтный краситель ROX. В качестве гена «домашнего хозяйства» был использован ген β -актина. Праймеры для генов предоставлены ООО «ДНК-Синтез» с дополнительным праймером-зондом, содержащим флуоресцентный краситель FAM и его тушитель BHQ1. ПЦР-РВ проводили в 96-луночном ПЦР-планшете («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) на амплификаторе CFX96TM Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США).

Статистическая обработка. Нормальность распределения полученных данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка, гомогенность дисперсий – по Левену. Результаты морфометрических и молекулярных исследований обрабатывали с помощью однофакторного дисперсионного анализа с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Ньюмену–Кейлсу. Полученные результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Так как распределение электрических порогов фибрилляции значительно отличалось от нормального, то для статистической обработки этих данных использовали непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по Крускалу–Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Полученные результаты представляли в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей. Для обработки качественных данных использовали критерий точной вероятности Фишера с учётом множественности сравнений.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Анализ результатов гистологических исследований свидетельствует о том, что у крыс алкоголизированного контроля визуализируется диффузное венозное и капиллярное полнокровие миокарда с эритростазом. Отмечается выраженный полиморфизм КМ – наличие атрофичных клеток одновременно с клетками в состоянии умеренной гипертрофии. Между отдельными группами КМ обнаруживались небольшие кровоизлияния. Миофибриллы клеток сердечной мышцы имели слабую поперечную исчерченность. У всех животных в данной группе на гистопрепаратах заметны признаки жировой дистрофии миокарда. Так, в цитоплазме групп КМ и в межмышечной строме визуализируются жировые включения различной величины – от мелких до средних (рис. 1Б).

Гистоархитектоника сердца крыс с АКМП, получавших фабомотизола дигидрохлорид, была сохранена. Сосуды были полнокровны. Между отдельными группами КМ обнаруживались небольшие кровоизлияния. Признаки нарушения реологии крови в поле зрения (диффузное полнокровие миокарда, эритростаз), в отличие от алкоголизованного контроля, обнаруживались только в отдельных случаях (рис. 1В). Клетки сердечной мышцы имели слабо выраженную поперечную исчерченность. Полиморфизм КМ был менее выражен, чем у алкоголизованных контрольных животных. Жировые включения в КМ и в межмышечной строме были обнаружены только у 2 животных из 8 ($p = 0,014$).

Как следует из вышеизложенных данных, на фоне систематической терапии фабомотизола дигидрохлоридом не только наблюдается значимое уменьшение размеров правого и левого желудочков сердца, что свидетельствует о том, что препарат инициирует обратное ремоделирование миокарда, но и также значимо уменьшается интенсивность патогномичной для АКМП жировой дистрофии миокарда.

Известно, что жировая дистрофия миокарда является одним из морфологических триггеров, инициирующих развитие злокачественных нарушений сердечного ритма [12–15]. В силу сказанного, представлялось интересным оценить, как уменьшение под влиянием фабомотизола дигидрохлорида жировой дистрофии миокарда влияет на электрическую стабильность КМ у животных с АКМП.

Для ответа на этот вопрос в отдельной серии экспериментов определяли влияние фабомотизола дигидрохлорида на ПЭФЖ.

Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что у контрольных (интактных) животных ($n = 6$) ПЭФЖ составлял $0,7 (0,5 \div 1,5)$ мА, тогда как у крыс, длительно потреблявших 10 % раствор

этаноло ($n = 6$), этот показатель был статистически значимо ниже ($p < 0,01$) и составлял $0,4 (0,4 \div 0,4)$ мА. Не менее важен и тот факт, что ПЭФЖ $\geq 0,5$ мА регистрировался у всех контрольных животных, тогда как в группе алкоголизованных крыс – лишь у 1 из 6, а у остальных был существенно ниже ($p = 0,023$).

Таким образом, у алкоголизованных животных наблюдается статистически значимое снижение ПЭФЖ, что указывает на увеличение электрической нестабильности КМ.

У алкоголизованных крыс, получавших фабомотизола дигидрохлорид, ПЭФЖ был значительно выше ($p = 0,030$, по сравнению с группой контрольных животных с АКМП) и составлял $0,7 (0,5 \div 0,7)$ мА, при этом у всех 6 животных этот показатель был $\geq 0,5$ мА ($p = 0,023$).

Таким образом, фабомотизола дигидрохлорид восстанавливает электрическую стабильность КМ в условиях АКМП.

С целью изучения механизмов антиаритмического действия фабомотизола дигидрохлорида были исследованы возможные молекулярные механизмы, лежащие в основе способности препарата восстанавливать электрическую стабильность КМ при АКМП. Для этой цели методом ПЦР в реальном времени оценивали влияние фабомотизола дигидрохлорида на уровень экспрессии генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в КМ гомеостаза ионов Ca^{++} и регуляцию их ритмической активности.

Анализ полученных данных показал, что в КМ контрольных алкоголизованных животных (подгруппа 2б) по сравнению с интактными животными значимо увеличивается экспрессия мРНК генов для регуляторных белков CaM , $Eras1$ и рецепторов $RyR2$, которым, согласно литературным данным, принадлежит одна из ключевых ролей в поддержании гомеостаза ионов Ca^{++} [16, 17]. Все различия статистически значимы ($p < 0,05$) (рис. 2).

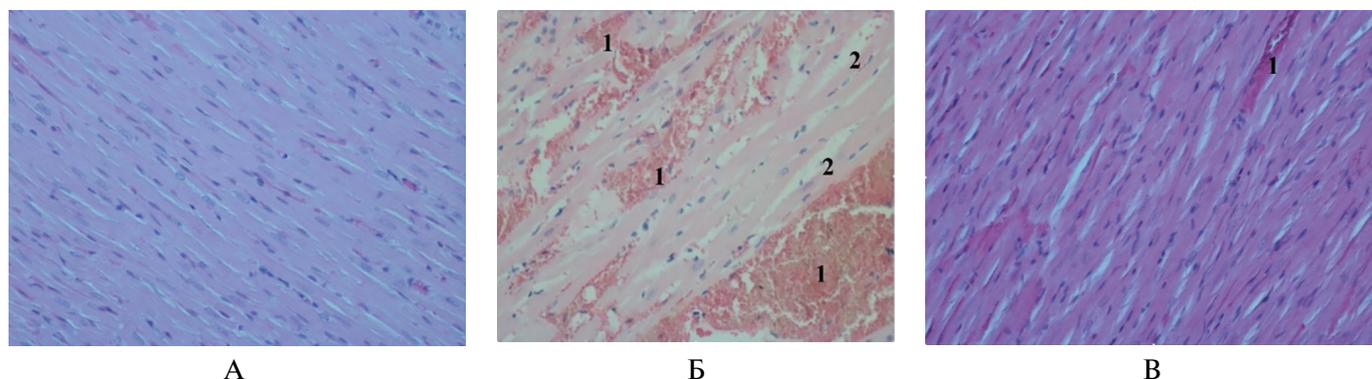


Рис. 1. Гистологическая картина миокарда: А – интактных крыс; Б – контрольных алкоголизованных животных; В – крыс, получавших фабомотизола дигидрохлорид

Figure 1. Histological picture of the myocardium: А-intact rats; Б-control alcoholized animals; В-rats treated with fabomatisole dihydrochloride

Примечания: 1 – диффузное полнокровие; 2 – жировая дистрофия миокарда. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение 10×20 .

Notes: 1-diffuse plethora; 2 – fatty dystrophy of the myocardium. Staining with gallocyanin-eosin. The magnification is 10×20 .

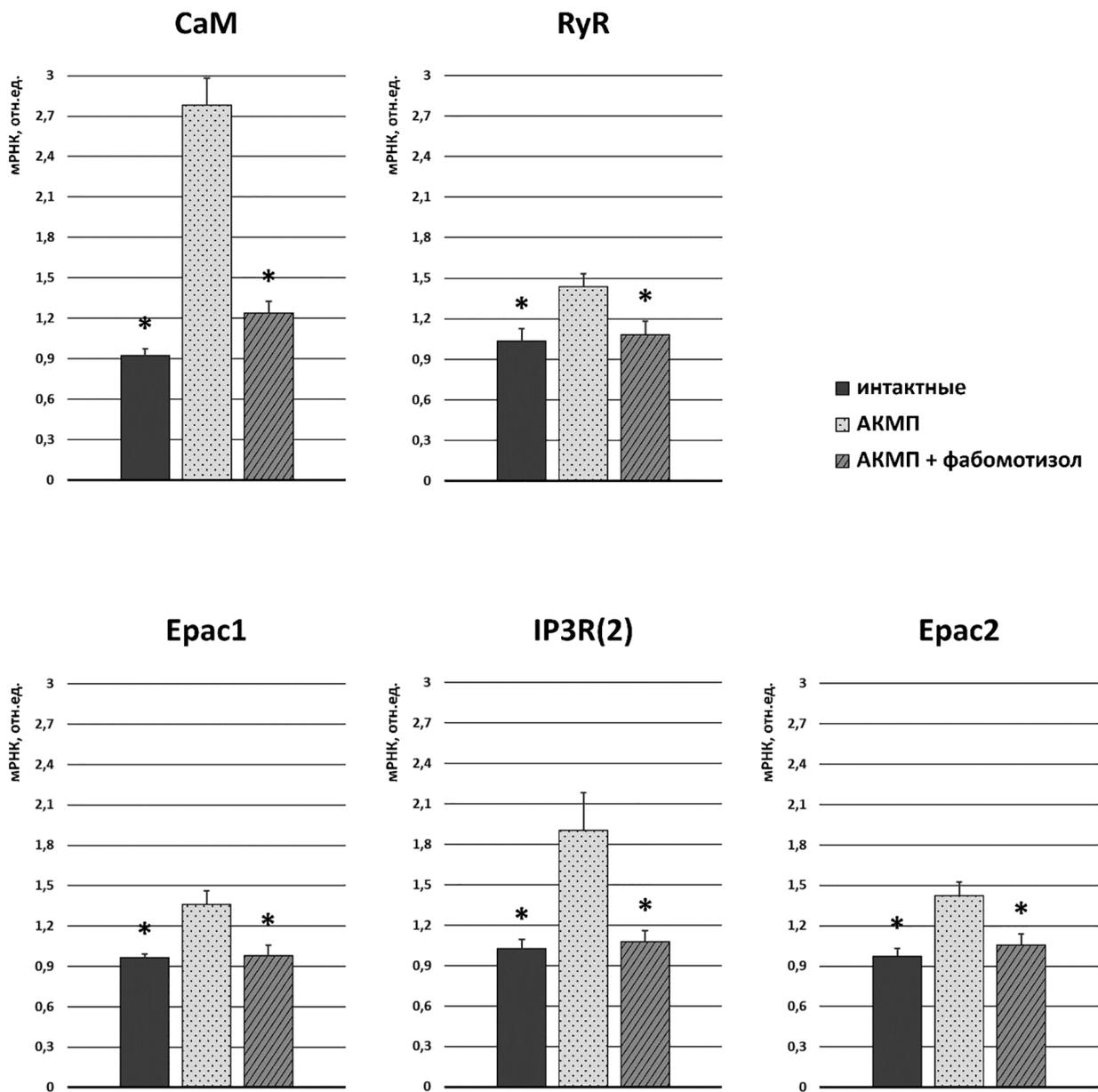


Рис. 2. Влияние фабомотизола гидрохлорида на уровень экспрессии мРНК генов для рецепторов и регуляторных белков – CaM, RyR2, IP3R2, Erac1 и Erac2 – у крыс с АКМП.

Figure 2. Effect of fabomotizol hydrochloride on the level of mRNA expression of genes for receptors and regulatory proteins-SaM, RyR2, IP3R2, Erac1 and Erac2-in rats with ACMP.

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем АКМП.

Note: * – $p < 0.05$ compared to the ACMP control.

Это позволяет предположить, что в результате токсического воздействия алкоголя и его метаболитов в КМ нарушается гомеостаз ионов Ca^{++} и, как следствие этого, снижается их инотропная функция, что и было подтверждено при проведении эхокардиографических исследований [18]. Следует также отметить, что с аномальной экспрессией регуляторных белков Erac1, в определённой мере, может быть связано и развитие патологического ремоделирования миокарда у крыс с АКМП [18], поскольку известно, что этот патоло-

гический процесс ассоциируется с гиперэкспрессией этих регуляторных белков [19, 20].

Помимо этого, показано, что длительный приём алкоголя вызывает существенный рост экспрессии в КМ IP3R2 и сопряжённых с ними RyR2 (см. рис. 2), что может свидетельствовать об оксидативном стрессе саркоплазматического ретикулула (СПР) [21].

Известно, что в КМ RyR2, а также IP3R2, расположенные на наружной мембране СПР, регулируют поступление ионов Ca^{++} из цистерн СПР в цитозоль

КМ, что обеспечивает не только поддержание гомеостаза ионов Ca^{++} , но и играет ключевую роль как в регуляции их ритмической активности [22], так и в поддержании энергообеспечения клеток сердца, а их гиперэкспрессия увеличивает риск развития злокачественных нарушений ритма сердца. Также показано, что в КМ контрольных животных зарегистрирован существенный прирост ($p < 0,05$) экспрессии регуляторного белка *Eras2* (см. рис. 2), гиперэкспрессия которого также инициирует нарушения сердечного ритма [23]. Следует также отметить, что *IP3R2*, расположенные в области контакта наружной мембраны СПР с наружной мембраной митохондрий (область МАМ), регулируют поступление ионов Ca^{++} в митохондрии, что необходимо для поддержания их энергообразующей функции. Гиперэкспрессия *IP3R2* влечёт за собой перегрузку митохондрий ионами Ca^{++} и, как следствие, нарушение продукции АТФ [24]. Таким образом, в КМ алкоголизованных животных наблюдается рост экспрессии мРНК генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в КМ гомеостаза ионов Ca^{++} и регуляцию их ритмической энергопродуцирующей активности, что наряду с нарушением гомеостаза ионов Ca^{++} , влекущего за собой снижение сократительного статуса сердечной мышцы и дефицит энергообразования, существенно повышает риск развития злокачественных нарушений сердечного ритма, что характерно для АКМП.

Иная картина наблюдается у животных, получавших систематическую экспериментальную терапию фабомотизола дигидрохлоридом, на фоне которой в КМ значительно уменьшается (практически до уровня определённого у интактных животных) экспрессия регуляторных белков *Eras1* ($p = 0,021$) и *CaM* ($p = 0,00001$), а также *RyR2* рецепторов ($p = 0,031$) (см. рис. 2), что позволяет с определённой долей

уверенности говорить о том, что на фоне терапии фабомотизола дигидрохлоридом в КМ восстанавливается гомеостаз ионов Ca^{++} . Также есть все основания полагать, что на фоне терапии фабомотизола дигидрохлоридом подавляется стресс СПР, поскольку в КМ значительно снижается уровень экспрессии не только *RyR2*, но и *IP3R2* ($p = 0,006$). При этом уровень экспрессии наиболее представленных в КМ *IP3R2* соответствует таковому у интактных животных (см. рис. 2). Эти результаты, наряду с данными о снижении экспрессии аритмогенного регуляторного белка *Eras2* ($p = 0,018$), позволяют говорить о том, что на фоне систематической терапии фабомотизола дигидрохлоридом аритмогенный потенциал КМ резко снижается, а восстановление до физиологического уровня экспрессии *IP3R2* свидетельствует также и о возможной нормализации энергообразующей функции митохондрий.

Таким образом, полученные результаты позволяют высказать предположение о том, что антиаритмическое действие анксиолитика фабомотизола дигидрохлорида может быть связано с его способностью подавлять аномальную экспрессию *RyR2* и *IP3R2* рецепторов, а также регуляторных белков *Eras2*, и тем самым препятствовать развитию / подавлять стресс СПР, а также восстанавливать гомеостаз ионов Ca^{++} и энергообразующую функцию митохондрий. Также следует отметить, что полученные результаты практически полностью согласуются с результатами исследований японских исследователей, которые в модельных экспериментах, воспроизводящих гипертрофию миокарда перегрузкой давлением, показали, что длительная терапия (+)-пентазоцином, который также как фабомотизола дигидрохлорид обладает свойствами агониста сигма1-рецепторов, препятствует развитию стресса СПР за счёт оптимизации уровня экспрессии в КМ *RyR2* и *IP3R2* рецепторов [25].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мирошкина Ирина Александровна
Автор, ответственный за переписку

e-mail: iris10.81@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN-код: 4697-7938

н. с. лаборатории лекарственной токсикологии
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова», Москва, Россия

Miroshkina Irina A.

Corresponding author

e-mail: iris10.81@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN code: 4697-7938

Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Цорин Иосиф Борисович

e-mail: tsorin@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-3988-7724

SPIN-код: 4015-3025

д. б. н., в. н. с. лаборатории
фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва,
Россия

Tsorin Iosif B.

e-mail: tsorin@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-3988-7724

SPIN code: 4015-3025

Dr. Sci. Biological, Leading researcher of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Кожевникова Любовь Михайловна

ORCID ID: 0000-0002-1323-6472

SPIN-код: 6882-6933

д. м. н., в. н. с. лаборатории фармакологического ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия; зав. лабораторией хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «НИИОПП», Москва, Россия

Kozhevnikova Lubove M.

ORCID ID: 0000-0002-1323-6472

SPIN code: 6882-6933

Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia; Head of laboratory of laboratory of chronic inflammation and microcirculation of FSBSI «IGPP», Moscow, Russia

Столярук Валерий Николаевич

ORCID ID: 0000-0002-4779-427X

SPIN-код: 3405-8229

к. м. н., с. н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Stolyaruk Valeriy N.

ORCID ID: 0000-0002-4779-427X

SPIN code: 3405-8229

PhD Med. Sci., Senior Researcher Scientist of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Вититнова Марина Борисовна

e-mail: MB-Vit@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-7407-7516

SPIN-код: 1901-8919

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Vititnova Marina B.

e-mail: MB-Vit@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-7407-7516

SPIN code: 1901-8919

PhD Biological Sci., Senior researcher scientist of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Крыжановский Сергей Александрович

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN-код: 6596-4865

д. м. н., зав. лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Kryzhanovskiy Sergey A.

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN code: 6596-4865

Dr. Sci. (Med.), Head of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Дурнев Андрей Дмитриевич

ORCID ID: 0000-0003-0218-8580

SPIN-код: 8426-0380

д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Durnev Andrei Dmitrievich

ORCID ID: 0000-0003-0218-8580

SPIN code: 8426-0380

Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member RAS, Head of the department of drug toxicology, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Литература / References

1. Guzzo-Merello G, Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. Alcoholic cardiomyopathy. *World J. Cardiol.* 2014;6(8):771–781. DOI: 10.4330/wjc.v6.i8.771.

2. Семенова В.Г., Антонова О.И., Евдокushкина Г.Н., Гаврилова Н.С. Потери населения России в 2000–2008 гг., обусловленные алкоголем: масштабы, структура, тенденции. *Социальные аспекты здоровья населения.* 2010;14(2):34–37. [Semenova VG, Antonova OI, Evdokushkina GN, Gavrilova NS. Losses of the population of Russia in 2000–2008 caused by alcohol: scales, structure, and tendencies. *Social aspects of population health.* 2010;14(2):34–37. (In Russ).].

3. Fang W, Luo R, Tang Y, Hua W et al. The Prognostic factors of alcoholic cardiomyopathy: A single-center cohort study. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(31): e11744. DOI: 10.1097/MD.00000000000011744.

4. Sulaiman S, Yousef N, Benjamin MM, Sundararajan S et al. Burden of arrhythmia and electrophysiologic procedures in alcoholic cardiomyopathy hospitalizations. *Int J Cardiol.* 2020;304:61–68. DOI: 10.1016/j.ijcard.2020.01.068.

5. Guzzo-Merello G, Dominguez F, González-López E, Cobo-Marcos M et al. Malignant ventricular arrhythmias in alcoholic cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2015;199:99–105. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.07.029.

6. Iacovoni A, De Maria R, Gavazzi A. Alcoholic cardiomyopathy. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2010;11(12):884–892. DOI: 10.2459/JCM.0b013e32833833a3.

7. Пермяков А.В., Пирогов А.С., Якимов И.А. Алкогольная кардиомиопатия по данным ГУЗ «БСМЭ» МЗ УР (г. Ижевска) за 3 года (2000–2002 гг.). Проблемы экспертизы в медицине. 2003;3(2):11–13. [Permyakova AV, Pirogov AC, Yakimov IA. Alcoholic cardiomyopathy on

the data of Izhevskforensic-legal department for 3 years (2000–2003). Problems of expertise in medicine. 2003;3(2):11–13. (In Russ).]

8. Гордеева М.В., Митрофанова Л.Б., Пахомов А.В., Велесялова О.Е. и др. Внезапная сердечная смерть молодых людей. Вестник аритмологии. 2012;68:34–44. [Gordeeva MV, Mitrofanova LB, Pakhomov AV, Veleseyanova OE et al. Sudden cardiac death adolescents and young adult. *Vestnik aritmologii*. 2012;68:34–44. (In Russ).]

9. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Колик Л.Г., Столярук В.Н. и др. К возможности использования афобазола для лечения алкогольной кардиомиопатии и профилактики сопутствующих ей осложнений. Молекулярная медицина. 2015;(4):35–42. [Kryzhanovskii SA, Tsorin IB, Kolik LG, Stolyaruk VN et al. About possibility of the use of afobazol for treatment of alcoholic cardiomyopathy and prevention of its concomitant complications. *Molekulyarnaya meditsina*. 2015;(4):35–42. (In Russ).]

10. Середенин С.Б., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Столярук В.Н., Чичканов Г.Г., Крыжановский С.А. К механизму противоишемического действия препарата «Афобазол». *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013;155(6):723–727. [Seredenin SB, Tsorin IB, Vititnova MB, Stolyaruk VN, Chichkanov GG, Kryzhanovskii SA. On the mechanism of anti-ischemic effects of afobazole. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013;155(6):723–727. (In Russ).]

11. Середенин С.Б., Воронин М.В. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2009;72(1):3–11. [Seredenin SB, Voronin MV. Neuroreceptor mechanisms involved in the action of afobazole. *Ekspieriment'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2009;72(1):3–11. (In Russ).]. DOI: 10.30906/0869-2092-2009-72-1-3-11

12. Le Heuzey JY, Copie X, Henry P, Halimi F et al. Mechanisms of atrial fibrillation: recent advances. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1994;87(Spec №3):41–45.

13. Haverkamp W, Rolf S, Osterziel KJ, Dietz R, Peters S. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Herz*. 2005;30(6):565–570. DOI: 10.1007/s00059-005-2733-2.

14. Yang Z, Bowles NE, Scherer SE, Taylor MD et al. Desmosomal dysfunction due to mutations in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Res*. 2006;99(6):646–655. DOI: 10.1161/01.RES.0000241482.19382.c6.

15. Calore M, Lorenzon A, De Bortoli M, Poloni G, Rampazzo A. Arrhythmogenic cardiomyopathy: a disease of intercalated discs. *Cell Tissue Res*. 2015;360(3):491–500. DOI: 10.1007/s00441-014-2015-5.

16. Hohendanner F, McCulloch AD, Blatter LA, Michailova AP. Calcium and IP3 dynamics in cardiac myocytes: Experimental and computational perspectives and approaches. *Front Pharmacol*. 2014;5:35. DOI: 10.3389/fphar.2014.00035.

17. Oestreich EA, Wang H, Malik S et al. Epac-mediated activation of phospholipase C(epsilon) plays a critical role in beta-adrenergic receptor-dependent enhancement of Ca2+ mobilization in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 2007;282(8):5488–5495. DOI: 10.1074/jbc.M608495200.

18. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Колик Л.Г., Столярук В.Н. и др. Трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии. Молекулярная медицина. 2015;(3):40–47. [Kryzhanovskii SA, Tsorin IB, Kolik LG, Stolyaruk VN et al. Translation model of alcoholic cardiomyopathy. *Molekulyarnaya meditsina*. 2015;(3):40–47. (In Russ).]

19. Ulucan C, Wang X, Baljinnam E et al. Developmental changes in gene expression of Epac and its upregulation in myocardial hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293(3):H1662–1672. DOI: 10.1152/ajpheart.00159.2007.

20. Métrich M, Lucas A, Gastineau M et al. Epac mediates beta-adrenergic receptor-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Circ Res*. 2008;102(8):959–965. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.164947.

21. Nikolaienko R, Bovo E, Zima AV. Redox dependent modifications of ryanodine receptor: Basic mechanisms and implications in heart diseases. *Front Physiol*. 2018;9:1775. DOI: 10.3389/fphys.2018.01775.

22. Harzheim D, Movassagh M, Foo RS et al. Increased InsP3Rs in the junctional sarcoplasmic reticulum augment Ca2+ transients and arrhythmias associated with cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(27):11406–11411. DOI: 10.1073/pnas.0905485106.

23. Hothi SS, Gurung IS, Heathcote JC et al. Epac activation, altered calcium homeostasis and ventricular arrhythmogenesis in the murine heart. *Pflugers Arch*. 2008;457(2):253–270. DOI: 10.1007/s00424-008-0508-3.

24. Mammucari C, Patron M, Granatiero V, Rizzuto R. Molecules and roles of mitochondrial calcium signaling. *Biofactors*. 2011;37(3):219–227. DOI: 10.1002/biof.160.

25. Tagashira H, Bhuiyan MS, Fukunaga K. Diverse regulation of IP3 and ryanodine receptors by pentazocine through σ_1 -receptor in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;305(8):H1201–212. DOI: 10.1152/ajpheart.00300.2013.