ОБЩАЯ ПРОГРАММА

проводимых в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В.Закусова» исследований **по скринингу и доклиническому изучению спектра и механизмов кардиопротективной, антиишемической и антиаритмической активности фармакологических агентов**, осуществляемых в соответствии методическими рекомендациями, изложенными в руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств (МЗ РФ и ФГБУ НЦЭСМР, Москва, 2013 год) и нормативными документами ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»

1 Определение LD_{50} изучаемых соединений.

Объект исследований: мыши, крысы.

2 Изучение влияния фармакологических агентов на функциональную активность сердечно-сосудистой системы.

– Изучение влияния изучаемых соединений на структуру ЭКГ.

Объект исследований: крысы.

Оцениваются следующие параметры: интервал RR, интервал PQ, комплекс QRS, интервал QT, корригированный интервал QTc, зубец Q и др.

– Изучение влияния изучаемых соединений на вариабельность сердечного ритма.

Объект исследований: крысы.

Оцениваются следующие параметры: стандартное отклонение RR, SDNN, коэффициент вариации CV, интенсивность волн низкой частоты LF, интенсивность волн высокой частоты HF, LF/HF, LF%, HF% и др.

– Изучение влияния изучаемых соединений на уровень артериального (АД сист., АД диаст., САД) и венозного давления.

Объект исследований: крысы.

– Изучение влияния изучаемых соединений на эхокардиографические характеристики сердца. Объект исследований: крысы.

Оцениваются следующие параметры: КСР – конечно-систолический размер левого желудочка сердца, КСО – конечно-систолический объем левого желудочка сердца, КДР – конечно-диастолический размер левого желудочка сердца, КДО – конечно-диастолический объем левого желудочка сердца, ЗС – толщина задней стенки левого желудочка сердца, МЖП – толщина межжелудочковой перегородки, ФУ – фракция укорочения левого желудочка сердца, ФВ – фракция выброса левого желудочка сердца, УО – ударный объем сердца, МОС – минутный объем сердца и др.

– Изучение влияния изучаемых соединений на механику сердца посредством измерения давления и объема желудочков и последующего анализа динамики их изменений (pressure–volume loop analysis).

Объект исследований: крысы.

Оцениваются следующие параметры:

– HR – частота сердечных сокращений;

– Pmax, мм рт.ст. – максимальное давление в левом желудочке (ЛЖ) во время петли;

– Pmin, мм рт.ст. – минимальное давление в ЛЖ во время петли;

– Pmean, мм рт.ст– среднее давление в ЛЖ во время петли;

– Pdev, мм рт.ст. – развиваемое давление ЛЖ (P max – P min);

– Pes, мм рт.ст. – конечно-систолическое давление в ЛЖ;

– Ped, мм рт.ст.- конечно-диастолическое давление в ЛЖ;

– Vmax, мкл – максимальный объем в ЛЖ во время петли;

– Vmin, мкл – минимальный объем в ЛЖ во время петли;

– Ves, мкл – конечно-систолический объем ЛЖ;

– Ved, мкл– конечно-диастолический объем ЛЖ;

– SV, мкл – ударный объем ЛЖ;

– SW, мм рт.ст .х мкл – работа ЛЖ в систолу;

– CO, мл/мин – минутный объем сердца;

– EF, % – фракция выброса;

– dP/dt max, мм рт.ст./с – максимальная скорость подъема давления в ЛЖ, достигаемая в фазе изометрического сокращения;

– dP/dt min, мм рт.ст./с – минимальная скорость подъема давления в ЛЖ, достигаемая в фазе изометрического сокращения;

– dV/dt max, мкл/с – максимальная скорость изменения объема ЛЖ во времени. Характеризует максимальную скорость выброса ЛЖ;

– dV/dt min, мкл/с – минимальная скорость изоволюмической релаксации ЛЖ. Характеризует скорость заполнения ЛЖ;

– P@ dP/dt max, мм рт.ст. – величина давления в ЛЖ при максимальном значении dP/dt max;

– P@ dV/dt min, мм рт.ст. – величина давления в ЛЖ при минимальном значении dV/dt min;

– V@ dP/dt max, мкл – величина объема ЛЖ при максимальном значении dP/dt max;

– V@ dP/dt min, мкл – величина объема ЛЖ при минимальном значении dP/dt min;

– Ea, мм рт. ст./мкл – артериальная эластичность. Косвенно отражает величину ОПСС;

– Tau, мс – константа времени изоволюмической релаксации. Характеризует диастолическую функцию ЛЖ; и др.

– Изучение влияния изучаемых соединений на уровень микроциркуляции крови и лимфы во внутренних органах и тканях организма (кора головного мозга, миокард, легкие, печень, почки, селезенка и скелетная мускулатура).

Объект исследований: крысы.

– Изучение влияний изучаемых соединений на переносимость физической нагрузки в тесте «третбан». Оценивается время бега до изнеможения и длина пройденной дистанции.

Объект исследований: крысы, мыши.

3 Скрининг и изучение спектра антиаритмической активности изучаемых соединений:

– Оценка антиаритмической активности изучаемых соединений на аконитиновой модели нарушений сердечного ритма.

Объект исследований: крысы.

– Оценка антиаритмической активности изучаемых соединений на хлоридкальциевой модели нарушений сердечного ритма.

Объект исследований: крысы.

– Оценка антиаритмической активности изучаемых соединений на адреналовой модели нарушений сердечного ритма.

Объект исследований: мыши, крысы.

– Оценка антиаритмической активности изучаемых соединений на хлоридбариевой модели нарушений сердечного ритма.

Объект исследований: кролики, крысы.

– Оценка антиаритмической активности изучаемых соединений на строфантиновой (оубаиновой) модели нарушений сердечного ритма.

Объект исследований: морские свинки, крысы.

– Оценка эффективности изучаемых соединений на модели реперфузионных аритмий.

Объект исследований крысы.

– Оценка противофибрилляторной активности изучаемых соединений на модели электрической фибрилляции желудочков.

Объект исследований: крысы.

– Оценка вклада кардиальных и экстракардиальных механизмов в реализацию противоаритмического действия изучаемых соединений.

Объект исследований: крысы.

– Оценка проаритмического действия изучаемых соединений:

– Оценка влияния изучаемых соединений на продолжительность корригированного интервала QT (QTc).

Объект исследований: крыс.

– Оценка аритмогенных влияний изучаемых соединений (тест с хлоридом цезия).

Объект исследований: крысы.

– Оценка триггерной активности изучаемых соединений. (тест с метоксамином).

Объект исследований: кролики.

4 Изучение механизмов, лежащих в основе антиаритмического действия изучаемых соединений

Исследования проводятся как на интактных животных, так и в модельных экспериментах, воспроизводящих острую и хроническую ишемию миокарда, хроническую сердечную недостаточность, эндотелиальную дисфункцию и некоронарогенную патологию миокарда:

– Оценка влияния изучаемых соединений на состояние электрического поля сердца методом множественного картирования (64 эпикардиальных электрограмм с поверхности грудной клетки). *Объект исследований: крысы.*

– Оценка влияния изучаемых соединений на последовательность деполяризации субэпикарда предсердий методом синхронной многоканальной кардиоэлектрохронотопографии. (24-40 эпикардиальных электрограмм). *Объект исследований: крысы.*

– Оценка влияния изучаемых соединений на последовательность деполяризации эпикарда желудочков сердца методом синхронной многоканальной кардиоэлектрохронотопографии. (64-112 эпикардиальных электрограмм). *Объект исследований: крысы.*

– Оценка влияния изучаемых соединений на изменение мембранного потенциала и ионных токов методом пэтч-кламп в конфигурации whole cell (Совместно с ФИЦ ПНЦБИ РАН). *Объект исследований: первичных – смешанная нейроглиальная культура клеток гиппокампа крыс, углубленных – кардиомиоциты желудочков крыс.*

– Оценка влияния изучаемых соединений на изменение концентрации цитозольного кальция методом флуоресцентной микроскопии (Совместно с ФИЦ ПНЦБИ РАН) *Объект исследований: первичных – смешанная нейроглиальная культура клеток гиппокампа крыс, углубленных – кардиомиоциты желудочков крыс.*

– Изолированная полоска миокарда с собственным ритмом сокращений. Фармакологический анализ механизмов, лежащих в основе влияния изучаемых соединений на ритмическую активность сердечной мышцы. *Объект исследований: изолированная полоска правого предсердия сердца крысы.*

– Молекулярные исследования – оценка влияния изучаемых соединений на уровень экспрессии в кардиомиоцитах ключевых рецепторов и регуляторных белков аритмогенного каскада: IP3R1, IP3R2, IP3R3, RyR2, σ_1-R, CaM, Epac2 и др. (Совместно с ФГБНУ НИИОПП). *Объект исследований: биоптаты миокарда предсердий и желудочков сердца крысы.*

– Морфогистологические исследования – качественная и количественная оценка интенсивности фиброза и жировых включений в миокард предсердий и желудочков сердца крысы – морфологических аритмогенных субстратов. Окраска по по Ван-Гизону.

5 Скрининг и изучение механизмов, лежащих в основе антиишемической активности изучаемых соединений

Исследования проводятся как на интактных животных, так и в модельных экспериментах, воспроизводящих острую и хроническую ишемию миокарда, хроническую сердечную недостаточность, эндотелиальную дисфункцию и некоронарогенную патологию миокарда:

– Оценка влияния изучаемых соединений на уровень депрессии сегмента ST на ЭКГ (субэндокардиальная ишемия), вызванной инфузией неселективного β-адреностимулятора изопротеренола. *Объект исследований: крысы.*

– Оценка влияния изучаемых соединений на размер инфаркта миокарда методом морфометрии – окраска галлоцианин-эозином. *Объект исследований: крысы.*

– Оценка влияния изучаемых соединений на уровень микроциркуляции крови и лимфы в периинфарктной и условно интактной зоне миокарда. *Объект исследований: крысы.*

– Эхокардиографическая оценка влияния изучаемых соединений на геометрию и инотропную функцию сердца у животных с острой ишемией миокарда. По окончании эхокардиологических исследований забор сердец для молекулярных и/или морфогистологических исследований (окраска галлоцианин-эозином). *Объект исследований: крысы.*

– Эхокардиографическая оценка влияния изучаемых соединений на геометрию и инотропную функцию сердца у животных в условиях ишемия/реперфузия. По окончании эхокардиографических исследований забор сердец для молекулярных и/или морфогистологических исследований (окраска галлоцианин-эозином). *Объект исследований: крысы.*

– Эхокардиографическая оценка влияния изучаемых соединений на геометрию и инотропную функцию сердца у животных с острым инфарктом миокарда. По окончании эхокардиографических исследований забор сердец для молекулярных и/или морфогистологических исследований (окраска галлоцианин-эозином). *Объект исследований: крысы.*

– Эхокардиографическая оценка влияния изучаемых соединений на геометрию и инотропную функцию сердца у животных с хронической постинфарктной сердечной недостаточностью. По окончании эхокардиографических исследований забор сердец для молекулярных и/или морфогистологических исследований (окраска галлоцианин-эозином и по Ван-Гизону). *Объект исследований: крысы.*

– Эхокардиографическая оценка влияния изучаемых соединений на геометрию и инотропную функцию сердца у животных с хронической сердечной недостаточностью некоронарогенного генеза. По окончании эхокардиографических исследований забор сердец для молекулярных и/или морфогистологических исследований (окраска галлоцианин-эозином и по Ван-Гизону). *Объект исследований: крысы.*

– Изучение влияния изучаемых соединений на механику сердца – pressure–volume loop analysis у животных с острым инфарктом миокарда. *Объект исследований: крысы.*

– Изучение влияния изучаемых соединений на механику сердца – pressure–volume loop analysis у животных в условиях ишемия/реперфузия. *Объект исследований: крысы.*

– Изучение влияния изучаемых соединений на механику сердца – pressure–volume loop analysis у животных с хронической постинфарктной сердечной недостаточностью. *Объект исследований: крысы.*

– Изучение влияния изучаемых соединений на механику сердца – pressure–volume loop analysis у животных с хронической сердечной недостаточностью некоронарогенного генеза. *Объект исследований: крысы.*

– Изучение антиишемической активности изучаемых соединений в модельных экспериментах, воспроизводящих региональную ишемию (ишемия задней конечности). Оценивается уровень микроциркуляции крови и лимфы в икроножной мышце. *Объект исследований: крысы.*

– Качественная и количественная оценка антиишемической активности изучаемых соединений в модельных экспериментах, воспроизводящих региональную ишемию (ишемия задней конечности). Оценивается гистологическая картина икроножной мышцы – окраска галлоцианин-эозином. *Объект исследований: крысы.*

– Изолированная полоска миокарда с навязанным ритмом сокращений. Фармакологический анализ механизмов, лежащих в основе антиишемической активности изучаемых соединений.

Объект исследований: изолированная левого желудочка сердца крысы.

– Молекулярные исследования – оценка влияния изучаемых соединений на уровень экспрессии в кардиомиоцитах ключевых рецепторов и регуляторных белков, ответственных за гипертрофию и ремоделирование миокарда: β_1 и β_2AD-R, AT1A-R V1A-R, MRs, σ_1-R, CaM, CN, Epac1, Epac2 и др. (Совместно с ФГБНУ НИИОПП).

Объект исследований: биоптаты миокарда предсердий и желудочков сердца крысы, полученные от животных с острой и хронической ишемией миокарда, хронической сердечной недостаточностью некоронарогенного генеза.

6 Основные используемые модели:

– Трансляционная модель постинфарктной хронической сердечной недостаточности (патент РФ № 2744681);

– Модель острой ишемии миокарда;

– Модель острого инфаркта миокарда;

– Модель эндотелиальной дисфункции;

– Модель субэндокардиальной ишемии миокарда;

– Модель ишемия/реперфузия;

– Модель ишемии задней конечности;

– Трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии (патент РФ № 2646454);

– Модель синдрома «Праздничного сердца» (Синдром «Holiday Heart»);

– Модель «бытового пьянства» и др.