

药物致心律失常及其评价模型研究进展

岳慧杰, 王友群(中国药科大学药理研究室, 南京 210009)

摘要:目的 综述药物致心律失常的可能机制,对模型做一简要回顾评价,为找出合适的临床前评价模型提供帮助。方法 检索近几年的文献资料进行分析归纳。结果与讨论 只有对药物致心律失常的机制充分掌握,才能建立合适的模型预防心律失常。

关键词:药物致心律失常;长 QT 综合征;尖端扭转性室性心动过速;跨室壁复极化离散度;模型

中图分类号:R972.2;R965.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7693(2007)04-0285-04

Development of Drug-induced Arrhythmias and its Models for Assessment

YUE Hui-jie, WANG You-qun(*The Department of Pharmacology of China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To find suitable models for preclinical safety evaluation of drug-induced arrhythmias by summarizing the possible mechanisms and assessment models of drug-induced arrhythmias. **METHODS** Summarizing and analyzing the literatures and data published in the recent years. **RESULTS AND CONCLUSION** The design of suitable models to efficiently prevent arrhythmias

作者简介:岳慧杰,女,硕士生 Tel:13776699556 地址:南京市童家巷 24 号中国药科大学药理研究室 97 号信箱

was based on the sufficient understand of the exact mechanism for drug-induced arrhythmias.

KEY WORDS: drug-induced arrhythmias; long QT syndrome; torsade de pointes; transmural dispersion of repolarization; models

在心律失常发生的各种因素中,药物所致的心律失常日益受到重视,其中以抗心律失常药的致心律失常作用最为常见,其次是抗精神病、抗过敏等非心血管药物所致。最常见的是药物引起的长QT综合征(LQTS),继而可能产生尖端扭转型室性心动过速(Tdp),导致猝死。

长QT综合症以心电图上QT间期明显延长为特征,可分先天性LQTS和获得性LQTS两种。Tdp是一种特殊类型的多形性室性心动过速(PMVT),LQTS伴PMVT即Tdp。室性心动过速是心性猝死的主要原因。Ⅲ类抗心律失常药物中多数可引起QT间期延长,并有时可诱发Tdp,而许多非心血管药物也是因为引起QT间期延长,诱发Tdp。药物诱发的Tdp多半突然发生,可能造成致命后果。因此,我们必须对其机制有一定得了解,才能建立有效的模型进行预防。

1 可能机制

药物致心律失常的作用机制尚不完全清楚,抗心律失常药物对心脏功能、心肌供血、心脏神经功能影响等均是致心律失常发生作用的因素之一,而对传导功能、除极复极离散、自律性等的影响均构成致心律失常作用发生机制。目前被普遍接受的致Tdp的机制是与后除极和折返机制有关。早期后除极(EAD)和心肌复极化分散度增加被认为是Tdp的预测器。

心肌细胞复极时间延长可以导致内向除极电流的激活,这种除极通常称之为后除极,后除极在动作电位2、3相中出现的为EAD。任何原因只要导致心肌细胞复极时 K^+ 外流减少,增加除极 Na^+ 、 Ca^{2+} 的内流,造成跨细胞膜的离子净内流和净外流之间的不平衡导致细胞膜的复极障碍,从而诱发2相及3相EAD,这种EAD的电位振荡扩布到心肌细胞即可发生快速室性心律失常。导致上述早期后除极的原因通常有使用抗心律失常药物、红霉素、抗组胺药等以及缓慢性心律失常、电解质紊乱和心肌缺血缺氧以及肾上腺能神经受到刺激等。有人认为EAD可能为继发性QT间期延长导致Tdp的机制。心肌细胞的复极主要是由于 K^+ 的外流驱动,而心肌细胞膜上的 K^+ 通道存在许多亚型,其中快速延迟调整电流(I_{kr})和缓慢延迟调整电流(I_{ks})是参与心肌细胞复极的两个重要离子电流, I_{kr} 很容易受药物的影响, I_{kr} 的阻断可以导致QT间期延长和心电图上U波和T波的变化。HERG(the human ether-a-go-go related gene)基因编码 I_{kr} 电流通道,HERG突变体可引起LQTS综合症,而且 I_{kr} /HERG通道是第Ⅲ类抗心律失常药物的作用靶点。其他一些化学结构不同的药物,也可阻断该通道,引起QT延长,发展成为获得性心律失常。因而,可以利用是否阻断HERG通道作为药物筛选模型。不过在动物身上即使用最强的HERG阻断剂也不能很好的重现Tdp,说明了Tdp的发生还有未知的影响因素。

由动物实验和临床研究发现,室壁中间层细胞(M细胞)

与心室肌外膜层(Epi)细胞和内膜层(Endo)细胞相比存在心室肌细胞电生理异质性(electrophysiological heterogeneity)^[1]。近年来的研究表明LQTS所致的Tdp与心室肌细胞电异质性有关,表现为心脏固有的心室跨壁复极化分散度(transmural dispersion of repolarization, TDR)。Mcintosh等^[2]报道M细胞比心室肌外膜、内层膜去极化速度都要快,而且复极化时间也最长,因而M细胞易诱发EAD。又因为M细胞的动作电位时程(APD)显著长于外膜层和内膜层细胞,就有可能在M细胞层形成功能性单向阻滞而导致折返,形成折返性心律失常。不同程度的EAD在三层心肌间产生电流梯度,此梯度电流在不同程度的除极心肌中便可产生QRS波极性改变即Tdp。不同的药物,尤其是延长APD的Ⅲ类抗心律失常药,对TDR有不同的影响。研究表明^[3],减小TDR,使心脏电活动趋向一致的药物,虽也有增加QT间隙,但发生Tdp的很少,如胺碘酮。这可能是因为胺碘酮不仅阻碍钾通道(I_{kr}),同时也阻断其他离子通道来抵偿HERG的阻断^[4]。胺碘酮对心内膜与心外膜的APD延长作用大于M细胞,使得心室的TDR减小^[5];反之,加大TDR,Tdp的发生率也显著增加。如低剂量的奎尼丁可通过阻断HERG通道,显著延长M细胞的APD,但对心内膜,心外膜无影响,加大了TDR,临床上易于发生Tdp^[6]。

现在,对于预测药物致Tdp的研究转向于是否增加TDR。因而,研究模型也随之改变。

2 药物评价模型^[7]

目前,临床前试验模型可通过记录特定的电生理信号粗略分为以下4种:①在稳定细胞株中表达HERG通路的离子流;②在离体心肌组织中测动作电位时程;③在清醒或麻醉的动物上测QT间隙和Tdp发生率;④在家兔动脉灌流离体左心室肌楔形组织中测QT间隙,TDR和Tdp发生率^[8]。

2.1 离体模型

离体模型中应用较多的是多细胞标本Langendorff心脏,乳头肌^[7]以及浦氏纤维^[9]。现多用Langendorff心脏研究药物对整个心脏的作用。Milberg等^[10]利用钠离子通道灭活抑制剂,以兔子的Langendorff心脏为模型,模拟LQT3。从左右心室单相动作电位(MAP)的变化得出心室跨壁复极化分散度增加,证明了Tdp的发生与心室跨壁复极化分散增加有关。杨小波,杨琳在研究LQT2模型中就应用了冠状小动脉灌流的兔左室肌标本微电极法同步记录心室肌内外膜动作电位^[11]。因为MAP能间接反映心肌细胞动作电位的变化,可代替心肌细胞跨膜动作电位。因而有报道^[12],研究同时记录心外膜,M细胞,心内膜的MAP,观察药物对三者APD的影响,通过比较确定是否增加TDR。但此法放置微电极的试验技巧要求较高,且放置时,对心脏会有损伤,刘金秋等^[13]对试验的方法做了改进,是利用动脉灌注的犬左心室楔形心肌块,经电压敏感性荧光染色后,行跨壁包括百余位

点跨膜动作电位的同步光学标测研究。这种标测技术,不仅可以标测心脏兴奋的传播过程,而且可以同步记录标测范围内心脏兴奋的恢复过程及多部位心肌组织的动作电位。这种精确的同步标测技术为评估心脏激动波的起源,传播途径和心脏复极化对心律失常的影响提供了强有力的方法。但此方法最大的问题是心肌收缩引起的活动伪差,而且,此方法仪器设备要求比较高。此外,应用较多的就是膜片钳(patch-clamp)了。利用膜片钳技术可以进行四种形式的离子通道电流记录,即细胞贴附式,外面向外,内面向外,全细胞记录。近年来研究离子通道的变化对细胞功能的影响,以及在药物作用机制的研究中越来越多地采用全细胞记录的方式。不过实验过程中需要细胞分离,细胞表面灌流等操作,实验时间较长,而且仪器的要求也较高。

虽然离体实验能较好地反映药物直接对心脏的作用,但离体结果不能完全反映在体情况。生理状况下,心肌细胞受全身神经体液的调节以及心肌细胞间缝隙连接的电紧张作用,制约了三层细胞固有的电生理特性的表现,使心室肌跨室壁电不均一性不明显。

2.2 在体模型

狗常被作为药学工业中测量 ECG 的模型^[14]。这一模型还有完整的血流动力学和药物代谢动力的分析。但该模型在药物高剂量时会有不良反应产生,使得药物的剂量使用受到限制,而且,犬的价钱较高,使得大批量的实验受到限制。在豚鼠模型也可以提供较好的电生理和心血管参数。许多致心律失常药物研究实验室用麻醉或清醒豚鼠作为模型的^[15]。Noda 等^[16]用氟烷麻醉的活体豚鼠,切断迷走神经,再注入肾上腺素可诱导产生室性心律失常,用 I、II 导联记录体表 ECG,以此作为评价药物抗心律失常和致心律失常的模型。而且豚鼠较为便宜,豚鼠的心肌动作电位离子通道与人比较接近(除 Ito),而且对于强心苷的敏感性高于大鼠。Hauser 等^[17]利用麻醉豚鼠模型对心血管药物进行实验比较得出,豚鼠是早期评价心血管药物安全性较为理想的模型。此外,家兔也是常用的在体模型。因为家兔的心脏比豚鼠大,实验操作较为容易,而且现象较为明显,价钱比狗便宜,所以做开胸和心脏实验时,家兔是首选动物。在体模型又可分为以下两种。

2.2.1 病理模型 Chugh 等^[18]在犬的快速起搏诱导的急性心衰模型中,静脉注射伊布利特,分别纪录左右心室的单相动作电位以及 APD,观察到心衰模型的 APD 长于参照模型,且心室间复极分散程度也大大增加。从而解释了伊布利特为什么在心衰患者中致心律失常的比例较高。Vaynblat 等^[19]指出反复冠状动脉注入阿霉素(doxorubicin)可以形成慢性心力衰竭模型,此过程中会产生致死性心律失常。此实验指出进行阿霉素的反复注射时需要用抗心律失常药物进行预防处理,这对建立末期心衰模型有帮助。Carlsson 等^[20]用甲氧明(α 激动剂)对麻醉的兔子进行预处理后,发现此模型对第 III 类抗心律失常药较敏感,易产生 Tdp。此模型后被多用于验证药物是否易于产生 Tdp,但其也有局限性。动物

只限于兔子,而且只对第 III 类心律失常药物敏感。Sakamoto 等^[21]报告则是造成再灌注心律失常产生心律失常。实验是先造成小鼠冠状动脉左前降支短暂闭塞后再灌注的方式诱发心律失常。冠状动脉结扎造成心肌缺血梗死诱发心律失常是由于传导障碍而产生单向传导阻滞和兴奋折返的结果,它与临床急性心肌梗死患者产生心律失常极为相似。用该模型研究的抗心律失常药在临床防治急性心肌梗死而引起心律失常中有很大价值。

2.2.2 转基因动物模型 目前的努力方向是直接或间接地筛选出异源表达的正常 HERG 通道,通过定点诱变建立模型确定化合物阻断 HERG 通道的构效关系或药效结构以确切了解阻断 HERG 所必需的结构决定簇。药物基因学还可帮助理解基因遗传性状如何成为患者对临床用药及其不良反应敏感的基础。尽管哺乳动物的离子通道基因克隆的异源表达这一模型对心律失常机制的研究有了很大贡献,但不能解释整个心脏的功能。现在大家的目光又转移到利用胚胎干细胞体外培养成多种心肌细胞加以研究^[22]。利用组织工程学,使干细胞在体外衍生出多细胞的心脏标本以模拟复杂的天然心脏。这可为筛选药物有无延长 QT 功能提供新且有效的方法。具体的动物模型有:心肌钠通道 SCN5A 突变体可产生房室传导阻滞,Brugada 综合症以及 LQT3 症,可利用在小鼠体内敲进染色体缺失 SCN5A 基因的 KQP 形成长 QT 模型加以研究^[23]。Demolombe 等^[24]利用了转基因小鼠,过表达 KvLQT1 的显性负相异构体,抑制 KvLQT1 的功能,作为 LQT1 模型。Demolombe 还指出抑制 KvLQT1 的功能不仅会形成 LQT,还可造成窦房结功能异常。Anne 等^[25]利用转基因小鼠表达 HERG,实验证明其对氯化钡诱导的室性心律失常和起搏诱导的房性快速性心律失常都有保护作用,增加复极化储备。利用此模型进一步评价增加 Ikr 电流的可能会预防第三类抗心律失常药物的突发死亡。虽然这些模型是研究鼠心脏复极化离子机制的好工具,但由于鼠的心律快,动作电位时间短,且复极化的主要电流是 Ito^[26],使得其对于人类疾病的适用范围受到限制。

2.3 数学模型^[27]

尽管离体标本推动了 QT 延长机制的研究,但不是最理想的模型,因为血浆结合蛋白,代谢清除速率,组织蓄积作用,激素调节,自主神经活动的影响都没有考虑。在体模型虽是药物对所有的离子通道和细胞类型产生的总效果,然而,这些实验是同种动物在特定环境下进行,并不符合临床实际情况。此时,计算机模拟的数学模型为我们提供了一种辅助手段,它可以一定程度上模拟临床条件,预测可能的结果。

这种数学模型建立一定的标准作为对照,适用于实验预测,可以帮助人们在健康时,生病及手术后等不同时期选择不同药物,安全而又节省开支。

3 结语

心脏的电生理机制是建立在复杂的细胞离子通道基础上的,目前对其研究都是在细胞一维水平上,而这些机制如

何相互联系控制心脏的整体活动就需要对心肌进行三维几何与解剖研究。只有对心脏功能了解更深刻,才能对心律失常的发病机制掌握更透彻。Td_p的发生机制还有许多,如心肌肥大、缺血、低血钾、神经的影响,还有药物的代谢、相互作用都可能会引起Td_p,故应先查明病因,再对症下药。因此,建立安全有效的模型做临床前检测非常重要。

参考文献

- [1] CLANCY C E, KASS R S. Inherited and acquired vulnerability to ventricular arrhythmias: cardiac Na⁺ and K⁺ channels [J]. *Physiol Rev*, 2005, 85 (1): 33-47.
- [2] MCINTOSH M A, COBBE S M, SMITH G L, *et al.* Heterogeneous changes in action potential and intracellular Ca²⁺ in left ventricular myocyte sub-types from rabbits with heart failure [J]. *Cardiovasc Res*, 2000, 45 (2): 397-409.
- [3] ANTZELEVITCH C. Arrhythmogenic mechanisms of QT prolonging drugs: is QT prolongation really the problem [J]. *J Electrocardiol*, 2004, 37 Suppl: 15-24.
- [4] SICOURI S, MORO S, LITOVSKY S, *et al.* Chronic amiodarone reduces transmural dispersion of repolarization in the canine heart [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 1997, 8 (11): 1269-1279.
- [5] VAN OPSTAL J M, SCHOENMAKERS M, VERDUYN S C, *et al.* Chronic amiodarone evokes no torsade de pointes arrhythmias despite QT lengthening in an animal model of acquired long-QT syndrome [J]. *Circulation*, 2001, 104 (22): 2722-2727.
- [6] ANYUKHOVSKY E P, SOSUNOV E A, FEINMARK S J, *et al.* Effects of quinidine on repolarization in canine epicardium, mid-myocardium, and endocardium: II. *In vivo* study [J]. *Circulation*, 1997, 96 (11): 4019-4026.
- [7] GUTH BD, GERMEYER S, KOLB W, *et al.* Developing a strategy for the nonclinical assessment of proarrhythmic risk of pharmaceuticals due to prolonged ventricular repolarization [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2004, 49 (3): 159-169.
- [8] JOSHI A, DIMINO T, VOHRA Y. Preclinical strategies to assess QT liability and torsadogenic potential of new drugs: the role of experimental models [J]. *J Electrocardiol*, 2004, 37 (Suppl): 7-14.
- [9] GINTANT G A, LIMBERIS J T, MCDERMOTT J S, *et al.* The canine Purkinje fiber: an *in vitro* model system for acquired long QT syndrome and drug-induced arrhythmogenesis [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2001, 37 (5): 607-618.
- [10] MILBERG P, REINSCH N, WASMER K, *et al.* Transmural dispersion of repolarization as a key factor of arrhythmogenicity in a novel intact heart model of LQT3 [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65 (2): 397-404.
- [11] YANG X B, YANG L. The study of electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmia in LQT2 models of the Long QT syndrome [J]. *Chin J Cardiac Pacing Electrophysiol* (中国心脏起搏与电生理杂志), 2004, 18 (4): 282-284.
- [12] BAI R, BO J, LIU L. Influence of pacing site on myocardial transmural dispersion of repolarization in intact normal and dilated cardiomyopathy dogs [J]. *Acta Physiol Sin* (生理学报), 2003, 55 (6): 722-730.
- [13] LIU J Q, YANG Y Z, KENNETH R L. Optical mapping of the transmural dispersion of repolarization and early after depolarization in LQT2 and LQT3 models of long QT syndrome [J]. *Chin J*

Cardiac Arrhythmias (中华心律失常学杂志), 2004, 8 (4): 236.

- [14] De CLERCK F, Van de WATER A, D'AUBIOUL J, *et al.* *In vivo* measurement of QT prolongation, dispersion and arrhythmogenesis: application to the preclinical cardiovascular safety pharmacology of a new chemical entity [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2002, 16 (2): 125-140.
- [15] TESTAI L, CALDERONE V, SALVADORI A, *et al.* QT prolongation in anesthetized guinea-pigs: an experimental approach for preliminary screening of torsadogenicity of drugs and drug candidates [J]. *J Appl Toxicol*, 2004, 24 (3): 217-222.
- [16] NODA Y, HASHIMOTO K. Development of a halothane-adrenaline arrhythmia model using *in vivo* Guinea pigs [J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 95 (2): 234-239.
- [17] HAUSER D S, STADE M, SCHMIDT A, *et al.* Cardiovascular parameters in anesthetized guinea pigs: a safety pharmacology screening model [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2005, 52 (1): 106-114.
- [18] CHUGH S S, JOHNSON S B, PACKER D L, *et al.* Altered response to ibutilide in a heart failure model [J]. *Cardiovasc Res*, 2001, 49 (1): 94-102.
- [19] VAYNBLAT M, PAGALA M K, DAVIS W J, *et al.* Telemetrically monitored arrhythmogenic effects of doxorubicin in a dog model of heart failure [J]. *Pathophysiology*, 2003, 9 (4): 241-248.
- [20] CARLSSON L, ABRAHAMSSON C, ANDERSSON B, *et al.* Proarrhythmic effects of the class agent almokalant: importance of infusion rate, QT dispersion, and early afterdepolarisations [J]. *Cardiovasc Res*, 1993, 27: 2186-2193.
- [21] SAKAMOTO J, MIURA T, TSUCHIDA A, *et al.* Reperfusion arrhythmias in the murine heart: their characteristics and alteration after ischemic preconditioning [J]. *Basic Res Cardiol*, 1999, 94 (6): 489-495.
- [22] HE J Q, MA Y, LEE Y, *et al.* Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes: action potential characterization [J]. *Circ Res*, 2003, 93 (1): 32-39.
- [23] NUYENS D, STENGL M, DUGARMAA S, *et al.* Abrupt rate accelerations or premature beats cause life-threatening arrhythmias in mice with long-QT3 syndrome [J]. *Nat Med*, 2001, 7 (9): 1021-1027.
- [24] DEMOLOMBE S, LANDE G, CHARPENTIER F, *et al.* Transgenic mice overexpressing human KvLQT1 dominant-negative isoform. Part I: Phenotypic characterisation [J]. *Cardiovasc Res*, 2001, 50 (2): 314-327.
- [25] ANNE ROYER S D, AZIZA EL HARCHIA, KHAR LE QUAN-GA, *et al.* Expression of human ERG K⁺ channels in the mouse heart exerts anti-arrhythmic activity [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65: 128-137.
- [26] GUSSAK I, CHAITMAN B R, KOPECKY S L, *et al.* Rapid ventricular repolarization in rodents: electrocardiographic manifestations, molecular mechanisms, and clinical insights [J]. *J Electrocardiol*, 2000, 33 (2): 159-170.
- [27] TEN TUSSCHER K H, NOBLE D, NOBLE P J, *et al.* A model for human ventricular tissue [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 286 (4): H1573-1589.

收稿日期: 2006-10-18