



# Метод эндокардиальной инъекции ботулотоксина в ганглионарные сплетения автономной нервной системы сердца в целях снижения уязвимости к фибрилляции предсердий

Стрельников А.Г., Якубов А.А., Сергеевичев Д.С., Артеменко С.Н., Михеенко И.Л., Абашкин С.А., Романов А.Б., Покушалов Е.А.

Новосибирский научно-исследовательский институт имени академика Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630055, Новосибирск, ул. Речуновская, 15

Поступила в редакцию 27 октября 2015 г. Принята к печати 13 ноября 2015 г.

<b>Актуальность</b>	Преыдушие исследования на животных показали, что инъекции ботулотоксина в эпикардиальные жировые подушки могут подавлять индуцируемость фибрилляции предсердий.
<b>Цель</b>	Оценить эффективность и безопасность эндокардиальных инъекций ботулотоксина в эпикардиальные жировые подушки и левопредсердные интрамиокардиальные ганглионарные сплетения для предотвращения фибрилляции предсердий.
<b>Материал и методы</b>	Разделили 24 собаки на 3 группы: эндокардиальный доступ для инъекции ботулинического токсина (Хеопин, Германия) в эпикардиальные жировые подушки и интрамиокардиальные ганглионарные сплетения, эндокардиальный доступ для инъекции плацебо (0,9% хлорид натрия; группа контроля 1; n = 8) и эпикардиальный доступ для инъекции ботулотоксина (группа контроля 2; n = 8).
<b>Результаты</b>	Выполнили в среднем $6,9 \pm 1,7$ интрамиокардиальную инъекцию (по 10 ед./0,2 мл на зону ответа) для каждого участка с положительным вагусным ответом на высокочастотную электростимуляцию ( $p > 0,05$ между группами). Дополнительно выполняли 3 инъекции (по 50 ед./1 мл) в каждую из трех жировых подушек – основных проекций ганглионарных сплетений левого предсердия собаки. Инъекции ботулинического токсина продемонстрировали эффект значительного удлинения эффективного рефрактерного периода в области устьев всех легочных вен. Данный эффект сочетался с менее выраженным сокращением эффективного рефрактерного периода в ответ на высокочастотную электростимуляцию блуждающего нерва. Снижение степени индукции фибрилляции предсердий наблюдали на 7-е сут. после эндокардиальных инъекций ботулотоксина 57% ( $p < 0,001$ в сравнении с плацебо; $p < 0,001$ в сравнении с исходными данными); на 14-е сут. – 61% ( $p < 0,001$ в сравнении с плацебо; $p < 0,001$ в сравнении с исходными данными); через 1 мес. – 23% ( $p = 0,003$ ; $p = 0,06$ в сравнении с исходными данными). Между группами с инъекцией ботулинического токсина статистической разницы не наблюдалось ( $p > 0,05$ ). Эффект подавления фибрилляции предсердий исчез через 3 мес. Значимых осложнений, связанных с процедурой, не наблюдалось.
<b>Заключение</b>	Метод эндокардиальных инъекций ботулинического токсина в интрамиокардиальные ганглионарные сплетения и эпикардиальные жировые подушки практически осуществим, безопасен, обеспечивает полное устранение предсердного вегетативного влияния и достоверно снижает уязвимость к фибрилляции предсердий.
<b>Ключевые слова</b>	Фибрилляция предсердий • Аблация • Легочные вены • Ботулинический токсин • Ганглионарные сплетения • Автономная нервная система

Ранее проведенные экспериментальные и клинические работы продемонстрировали, что автономная нервная система может играть важную роль в иницировании и поддержании фибрилляции предсердий (ФП) [1–3]. Ряд авторов показали, что при спонтанной инициации ФП у пациентов и животных, активация симпатической и парасимпатической нервной системы часто предшествовало началу фибрилляции предсердий [4–7].

Внутрисердечная автономная нервная система находится в эпикардиальных жировых подушках в виде ганглионарных сплетений (ГС), которые содержат автономные ганглии и нервы. В сердце человека находятся как минимум семь ГС, из них четыре локализируются преимущественно в левом предсердии вокруг легочных вен (ЛВ) [8–10].

Сердце собаки в левом предсердии имеет 3 главных эпикардиальных жировых подушки: переднюю правую, нижнюю правую и левую. В человеческом сердце наличие и расположение эпикардиальных жировых подушек схожи с собачьим сердцем [9, 10]. Во многих исследованиях абляция ГС при помощи трансвенозного или эпикардиального доступов успешно предотвращала фибрилляцию предсердий [11–14].

Ботулинический токсин блокирует высвобождение нейротрансмиттеров, накопленных в синаптических везикулах, и таким образом выключает холинергическую стимуляцию постганглионарных нейронов [15]. Блокирующий эффект токсина не постоянен и исчезает в срок от 1 до 6 мес. в зависимости от места инъекции. В недавних исследованиях на животных показано, что прямые эпикардиальные инъекции ботулотоксина в сердечные жировые подушки временно подавляют индуцируемость фибрилляции предсердий [17, 18].

Для значительной части пациентов временное подавление ФП без деструкции анатомических структур может быть более эффективно, чем полное устранение одного из основных электрофизиологических регуляторов функции левого предсердия. Ранее мы сообщали краткосрочные результаты первого экспериментального исследования эффективности и безопасности эпикардиальных инъекций ботулотоксина в жировые подушки минипигов для снижения уязвимости миокарда к ФП. Результаты первого послеоперационного месяца продемонстрировали существенное снижение уязвимости миокарда к фибрилляции предсердий без каких-либо серьезных неблагоприятных событий [19]. С учетом современных тенденций лечения нарушений ритма сердца и существующих технологий эндомикардиальных инъекций [20] актуальна разработка интервенционного способа временной физиологичной денервации левого предсердия.

Цель исследования – оценка эффективности и безопасности инъекций ботулотоксина в эпикардиальные жировые подушки и левопредсердные интрамикардиальные ганглионарные сплетения эндокардиальным доступом.

## Материал и методы

Провели исследование в соответствии стандартам «Надлежащей лабораторной практики». В эксперимент включили 24 беспородные собаки весом 20–25 кг. Анестезиологическое обеспечение – общий наркоз фенобарбиталом натрия, интубационная вентиляция легких воздухом, электрокардиограмма для контроля частоты сердечных сокращений и ритма. Мониторинг артериального давления выполняли через датчик, установленный в правой бедренной артерии. Температуру тела поддерживали на уровне  $36,5 \pm 1,5$  °С. Все физиологические данные отображались на системе непрерывного мониторинга Philips v26 (Philips Medical Systems GmbH, Германия)

## Вегетативная стимуляция

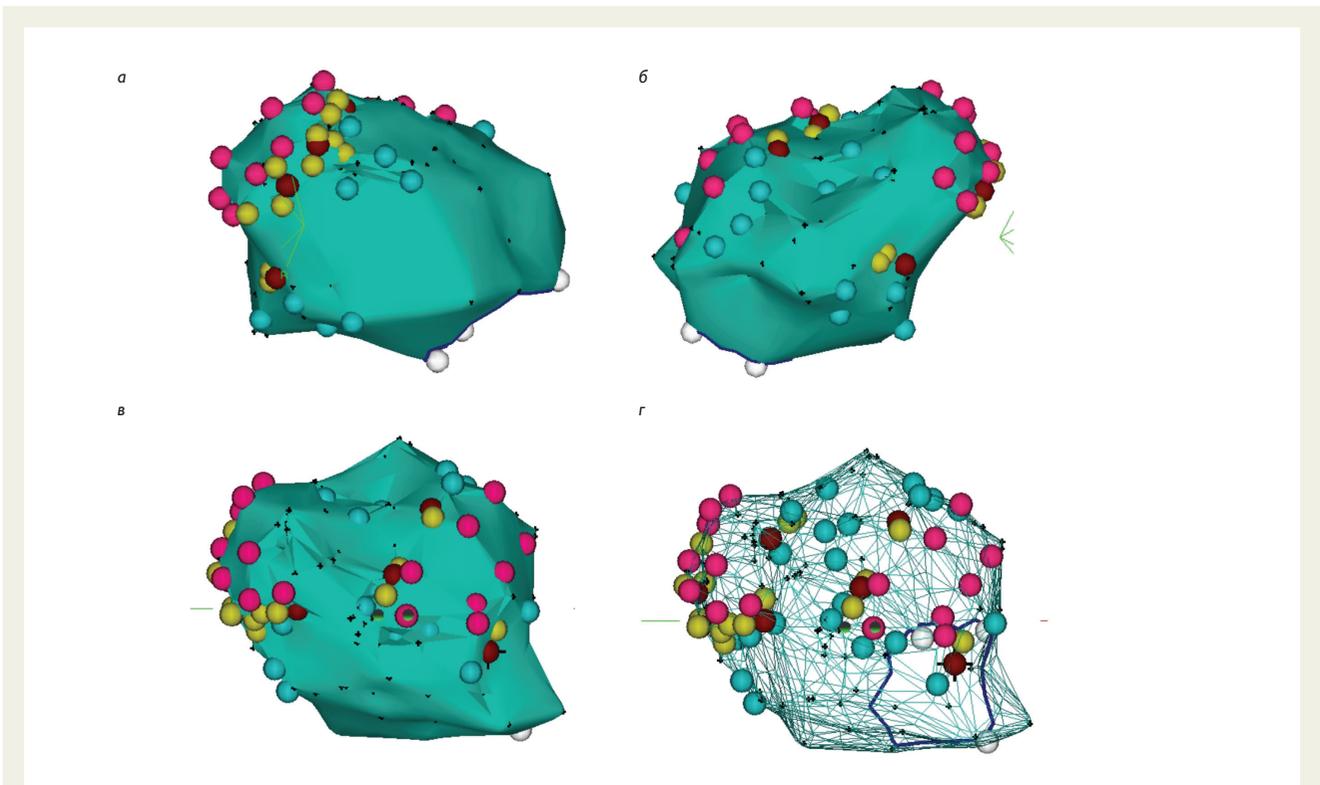
Выделяли правый шейный вагосимпатический ствол. Вагосимпатическую стимуляцию проводили электродами из нержавеющей стали (Medtronic, США) с проведением высокочастотной электростимуляции (сигнал прямоугольной формы, частота 20 Гц, продолжительность 0,1 мс, возрастающее напряжение 0,5–8,0 В) с помощью специализированного электрофизиологического стимулятора (Б-53, Биоток, Россия). В ходе эксперимента за базовое значение параметров вегетативной стимуляции использовали исходное напряжение стимула, снижающее частоту сердечных сокращений на 50%.

## Хирургический доступ и инъекции ботулотоксина

Рандомизировали 24 собаки на 3 группы:

1. Эндокардиальный доступ для инъекции ботулотоксина в эпикардиальные жировые подушки и левопредсердные интрамикардиальные ганглионарные сплетения (группа исследования;  $n = 8$ ).

Проводили процедуры с использованием интервенционных техник под рентгеноконтролем ангиографической установки (GE, США). Строили 3D-анатомические карты левого предсердия в реальном времени с использованием цифровой электрофизиологической системы картирования (CARTO, Biosense-Webster Inc., США). Выполняли электрофизиологические исследования с помощью двух типов электродов. Десятиполюсный электрод для коронарного синуса устанавливали через правую наружную яремную вену с помощью обычного внутривенного интродьюсера. Картирующий электрод доставляли через



**Рис. 1.** Виды левого предсердия: а – передний; б – верхний; в – задний; г – верхний, в виде сетки. На картах двухмиллиметровые точки отображают: розовые – устья легочных вен; белые – кольцо митрального клапана; желтые – зоны высокочастотной стимуляции с положительным вагусным ответом; голубые – зоны с отрицательным вагусным ответом; темно-бордовые – участки интрамиокардиальных инъекций ботулотоксина

правую бедренную вену. Доступ в левое предсердие осуществляли способом трансептальной пункции.

Точную локализацию ГС достигали транскатетерной высокочастотной стимуляцией (ВЧС). Параметры стимуляции: частота 20 Гц; длительность стимулы 0,1 мс; возрастающее напряжение 0,5–8,0 В. Данное напряжение ВЧС индуцировало прогрессирующее замедление синусового ритма или предсердно-желудочкового проведения (атриовентрикулярного проведения) во время ФП. Проводили ВЧС в 3 зонах ганглионарных сплетений: переднего правого (между каудальной частью синусового узла и устьем правой верхней легочной вены), нижнего правого (между нижней полую вену и устьем правой нижней легочной вены), верхнего левого (между ушком левого предсердия и устьем левой верхней легочной вены). Зафиксировали все зоны на трехмерных электрофизиологических картах (рис. 1) [17, 21].

Выполняли инъекции в зонах с положительным вагусным ответом на транскатетерную ВЧС. В соответствующую зону трансэндокардиально вводили ботулиничес-

кий токсин (Xeomin, incobotulinumtoxin A, Merz Pharma GmbH & Co KGaA, Германия; 10 ед./0,2 мл) при помощи эндокардиального инъекционного катетера (MyoStar, Biosense-Webster Inc., США). Перед инъекцией катетер позиционировали перпендикулярно эндокардиальной поверхности левого предсердия, подтверждение соответствующей стабильности осуществляли рентгеноскопией, для введения из кончика катетера выдвигали иглу на 1,5–2 мм (рис. 1). Для каждой зоны положительного вагусного ответа выполняли одну инъекцию. Дополнительно к описанным зонам, эндокардиальным способом токсин вводили в каждую из трех эпикардиальных жировых подушек (50 ед./1 мл в подушку). Визуализацию жировых подушек осуществляли непосредственно перед инъекцией ботулотоксина эмпирическим введением рентгеноконтраста в соответствующие участки (рис. 2).

2. Эндокардиальный доступ для инъекции плацебо в эпикардиальные жировые подушки и левопредсердные интрамиокардиальные ганглионарные сплетения (группа контроля 1; n = 8).

Применяли ту же технику, что в первой группе, но вместо инъекций ботулотоксина вводили плацебо (0,9% хлорид натрия).

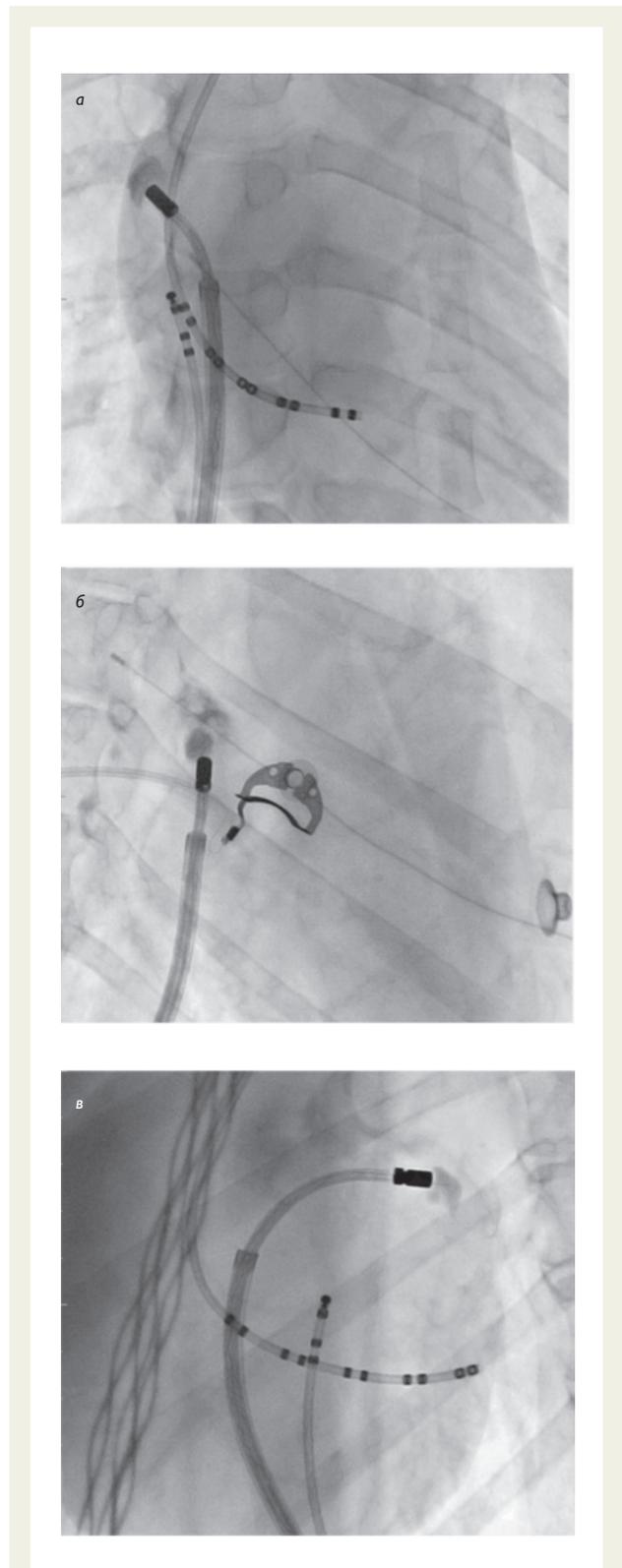
3. Эпикардальный доступ для инъекции ботулотоксина в эпикардальные жировые подушки (группа контроля 2; n = 8).

Правый торакотомный доступ в четвертом межреберье использовали для визуализации жировых подушек, содержащих переднее и нижнее правые ганглионарные сплетения. Левая торакотомия в четвертом межреберье – верхнее левое ганглионарное сплетение. Точную локализацию ганглионарных сплетений оценивали транскатетерной ВЧС с помощью биполярного электрода (Atricure, Inc., США; частота 20 Гц; длительность стимула 0,1 мс; возрастающее напряжение 0,5–8,0 В). Выполняли инъекции ботулинического токсина с помощью обычного инсулинового шприца (1 мл) в каждую зону с положительным вагусным ответом на ВЧС (10 ед./0,2 мл на зону) и дополнительно по 50 ед./1 мл в каждую из трех основных жировых подушек левого предсердия. Инъекции осуществляли в два этапа: первый этап – пункция иглой под углом 45° относительно эпикардальной поверхности жировых подушек на глубину 1–2 мм; второй этап – введение иглы на 2 мм вглубь и параллельно поверхности жировой подушки. После позиционирования иглы жировую ткань инфильтрировали раствором объемом 0,2 мл. Зона инфильтрации имела отличительный беловатый цвет, четкие границы с диаметром 5–6 мм. Для полного покрытия поверхности жировой подушки требовалось от 3 до 5 зон инфильтрации.

### Программная стимуляция

Учитывая, что эффект ботулотоксина начинается через 24–48 ч, применили следующие даты периода наблюдения: исходно (до инъекций ботулинического токсина), через 7, 14, 30 и 90 дней после инъекций. Выполняли электрофизиологические измерения при помощи программируемого электрокардиостимулятора (Медтроник, США) в целях измерения эффективного рефрактерного периода (ЭРП) и степени индукции ФП. Параметры предсердной стимуляции соответствовали удвоенному значению предсердному порогу «электрического захвата».

Протокол измерения ЭРП: базальная длина цикла стимуляции (S1–S1) 400 мс. Интервал сцепления S1–S2 начинался с 200 мс и градиентно уменьшался шагом в 5 мс до прекращения предсердного захвата. При программной стимуляции устье ВЛВ кончик электрофизиологического катетера располагался на венозной стороне. Измеряли предсердный ЭРП в ушках правого и левого предсердия.



**Рис. 2.** Инъекции контраста в эпикардальные жировые подушки, содержащие ганглионарные сплетения: а – верхние правые; б – нижние правые; в – верхние левые

## Эффективный рефрактерный период группы инъекции ботулинического токсина до и после вагосимпатической стимуляции

	Исходно		7-е сутки		14-е сутки		1 месяц		3 месяца		P		
	Вагосимпатическая стимуляция после инъекций ботулинического токсина, %	Инъекции ботулинического токсина, %	Вагосимпатическая стимуляция после инъекций ботулинического токсина, %	P	Инъекции ботулинического токсина, %	P	Вагосимпатическая стимуляция после инъекций ботулинического токсина, %	P	Инъекции ботулинического токсина, %	Вагосимпатическая стимуляция после инъекций ботулинического токсина, %			
Правая верхняя легочная вена	31,3±9,7*	17,2±4,6*	12,4±3,5**	<0,001	14,1±6,1**	7,9±4,1**	<0,001	11,1±6,7**	10,8±7,6*	<0,001	1,9±3,6**	27,4±12,5*	0,49
Правая нижняя легочная вена	27,1±13,2*	18,8±9,7*	7,1±4,9**	0,001	15,6±11,4**	8,7±3,0**	0,002	13,9±13,1**	22,8±7,0*	0,43	4,3±5,9**	27,6±11,4*	0,93
Левая верхняя легочная вена	16,6±9,4**	31,7±12,3*	6,3±5,6**	0,02	28,8±13,8*	5,7±6,6**	0,02	24,8±17,2*	9,3±4,9*	0,07	19,7±19,8**	20,6±5,3*	0,31
Левая нижняя легочная вена	13,8±6,4*	28,1±9,7*	5,7±3,2**	0,006	28,0±9,7*	5,7±3,1**	0,006	17,5±10,5*	14,7±6,3*	0,77	1,1±14,3**	11,1±10,8**	0,54
Ушко левого предсердия	17,8±16,6*	44,1±22,1*	8,6±0,5**	0,14	36,9±14,5*	14,9±6,0*	0,65	3,5±6,4**	20,8±7,8*	0,68	1,6±5,3**	17,8±16,6*	0,48
Ушко правого предсердия	24,4±12,5*	19,4±16,5*	9,3±5,4*	0,008	12,8±12,9**	17,0±5,9*	0,15	2,4±4,5**	23,7±12,3*	0,61	1,8±5,1**	24,3±12,5*	0,72

\* p<0,005 по отношению к исходным значениям; \*\* p>0,005 по отношению к исходным значениям

Оценивали степень индукции ФП частой электростимуляцией в 200 импульсов с длиной цикла в 50 мс, которую выполняли 4 раза (2 для стимуляции свободной стенки правого предсердия и 2 – левого предсердия) каждому животному в течение вагосимпатической стимуляции. Определяли эпизод ФП как нерегулярный предсердный ритм с частотой более 500 ударов в минуту с нерегулярным предсердно-желудочковым проведением продолжительностью более 5 с. Спонтанная фибрилляция предсердий с продолжительностью более 30 с после прекращения частой стимуляции считалась устойчивой. Частоту устойчивой ФП, выраженную в процентах от общего числа попыток индуцировать ФП, определили как степень индукции фибрилляции предсердий.

### Статистический анализ

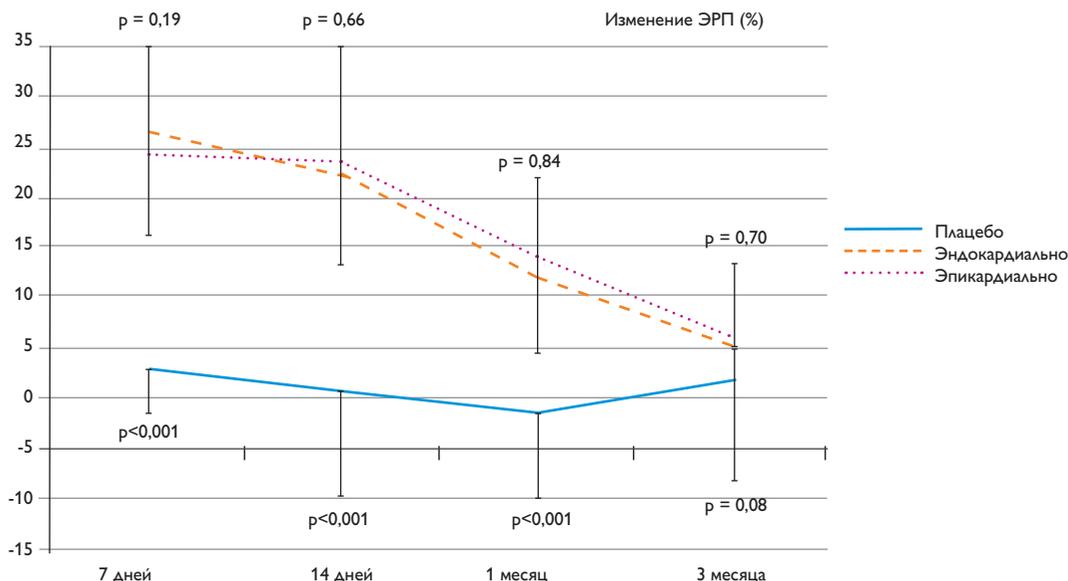
Выполняли расчет объема выборки в каждой группе на основе предыдущих работ для обеспечения минимальной 80% мощности исследования. Результаты представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение или как абсолютные значения и проценты. Сравнивали количественные данные с помощью t-критерий Стьюдента. Сравнивали качественные признаки на основании метода  $\chi^2$ . Значение p<0,05 считали статистически достоверным. Проводили статистические

расчеты с использованием программного пакета Stata 12.1 (Stata Corp, США).

### Результаты

В среднем выполнили 6,9±1,7 интрамиокардиальных инъекций (по 10 ед./0,2 мл на зону ответа) для каждого участка с положительным вагусным ответом на высокочастотную электростимуляцию (p>0,05 между группами). Дополнительно выполняли 3 инъекции (по 50 ед./1 мл) в каждую из трех жировых подушек – основных проекций ГС левого предсердия собаки. Расстояние между всеми инъекциями составляло около 0,5 см (рис. 1).

В эндокардиальной группе выполняли инъекции ботулотоксина для точной анатомической локализации только после их предварительного рентгеноконтрастирования. При точном введении рентгеноконтраста в область жировых подушек наблюдали задержку контраста и окрашивание ткани в виде облачной тени. В случае полной перфорации иглы наблюдали утечку контраста вдоль перикарда в виде тонкой полоски. При регистрации данного явления выполняли контрольное ультразвуковое исследование сердца – гемоперикарда, тампонады и других значимых осложнений, связанных с процедурой, не выявили (рис. 2).



**Рис. 3.** Изменение среднего значения эффективного рефрактерного периода в ответ на высокочастотную стимуляцию блуждающего нерва после эндокардиальных, эпикардиальных инъекций ботулинического токсина, инъекции плацебо

### Влияние на синусовый и атриовентрикулярный узлы

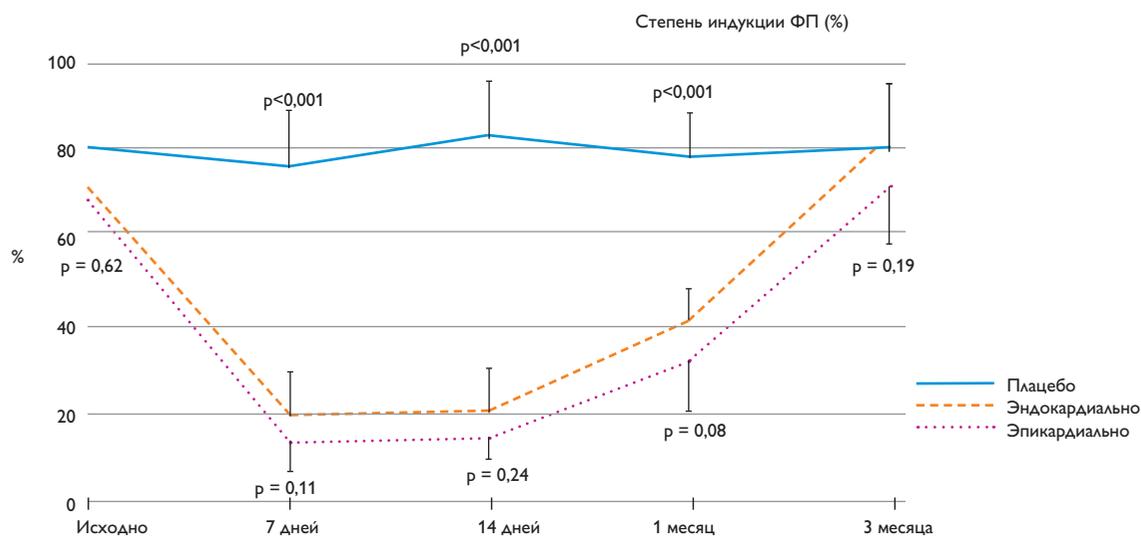
Вагосимпатическая стимуляция достоверно замедляла как синусовый ритм, так и частоту желудочковых сокращений во всех группах до процедуры инъекций ( $p < 0,001$ ). После эндокардиальных инъекций ботулинического токсина эффект замедления синусового ритма и частоты желудочковых сокращений в ответ на вагосимпатическую стимуляцию стал менее выраженным, чем в группе эпикардиальной инъекции: исходно  $46,3 \pm 6,7\%$  ( $p < 0,001$ ) и  $51,5 \pm 5,8\%$  ( $p < 0,001$ ); на 7-е сут.  $14,4 \pm 9,6\%$  ( $p = 0,003$ ;  $p < 0,001$  в сравнении с исходными данными) и  $18,8 \pm 7,2\%$  ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  в сравнении с исходными данными); на 14-е сут.  $16,2 \pm 7,3\%$  ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  в сравнении с исходными данными) и  $15,9 \pm 6,7\%$  ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  в сравнении с исходными данными); через 1 мес.  $32,5 \pm 14,2\%$  ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,026$  в сравнении с исходными данными) и  $37,8 \pm 14,3\%$  ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,018$  в сравнении с исходными данными); через 3 мес.  $37,1 \pm 8,9\%$  ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,035$  в сравнении с исходными данными) и  $51,5 \pm 5,8\%$  ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,49$  в сравнении с исходными данными). Статистически значимой разницы между группами ботулинотоксических инъекций не выявили ( $p > 0,05$  для всех контрольных точек). В группе плацебо степень замедления синусового ритма и частоты желудочковых сокращений в ответ на вагосимпатическую стимуляцию оставался

неизменным на протяжении наблюдения ( $p > 0,05$  в сравнении с исходными данными).

### Изменение предсердного эффективного рефрактерного периода

Эндокардиальные инъекции ботулотоксина привели к значительному удлинению ЭРП во всех зонах измерения левого предсердия как в сравнении с исходным уровнем, так и в сравнении с плацебо (рис. 3). Усредненные значения удлинения ЭРП обобщенной группы инъекции ботулинического токсина представлены в таблице. Исходной разницы между группами ботулинотоксических инъекций не выявили ( $p > 0,05$  для контрольных точек). В группе плацебо ЭРП оставался неизменным на протяжении наблюдения ( $p > 0,05$  в сравнении с исходными данными).

Вагосимпатическая стимуляция укоротила ЭРП во всех группах, но после инъекций ботулотоксина это укорочение менее выражено (таблица). Разницы между группами инъекции ботулинического токсина не выявили ( $p > 0,05$  для всех контрольных точек). В группе плацебо уровень укорочения ЭРП за счет вагосимпатической стимуляции был неизменным на протяжении наблюдения ( $p > 0,05$  в сравнении с исходными данными);  $p < 0,001$  в сравнении с группами ботулотокси-



**Рис. 4.** Изменение степени индукции фибрилляции предсердий в ответ на эндокардиальные, эпикардиальные инъекции ботулотоксина и инъекции плацебо

ческих инъекций на 7-е, 14-е сут. наблюдения для всех зон измерения).

### Степень индукции фибрилляции предсердий

Подавление степени индукции ФП наблюдали на 7-е сут. после эндокардиальных инъекций ботулотоксина 57% ( $p < 0,001$  в сравнении с группой плацебо;  $p < 0,001$  в сравнении с исходными данными); на 14-е сут. – 61% ( $p < 0,001$  в сравнении с группой плацебо;  $p < 0,001$  в сравнении с исходными данными); через 1 мес. – 38% ( $p < 0,001$  в сравнении с группой плацебо;  $p < 0,001$  в сравнении с исходными данными); через 3 мес. – 23% ( $p = 0,003$ ;  $p = 0,06$  в сравнении с исходными данными; рис. 4). Разницы между группами ботулинотоксических инъекций не выявили ( $p > 0,05$  для всех контрольных точек). Эффект подавления фибрилляции предсердий исчез через 3 мес. В группе плацебо уровень степени индукции ФП был неизменным на протяжении наблюдения ( $p > 0,05$  в сравнении с исходными данными).

### Обсуждение

Эндокардиальные инъекции ботулотоксина в интрамиокардиальные ГС и эпикардиальные жировые подушки практически осуществимы и безопасны, приводят к достоверному подавлению степени индукции ФП. Более того, эффективность методов эндокардиальных и эпикардиаль-

ных инъекций ботулинического токсина значимо не отличается так же, как и уровень безопасности. Насколько нам известно, это первая работа, в которой инъекции ботулинического токсина применяли для устранения нарушений ритма сердца методом эндокардиальной инъекции.

Абляция главных ганглионарных сплетений подавляет степень индукции и повышает устойчивость к ФП у животных. Лу с соавторами в экспериментальном исследовании, используя частую электростимуляцию предсердий, продемонстрировали роль абляции ГС в подавлении ФП. Они показали, что укорочение эффективного рефрактерного периода, увеличение дисперсии эффективного рефрактерного периода и степени индукции ФП, вызванных частой предсердной электростимуляцией, устраняет абляция четырех главных предсердных ганглионарных сплетений и в области связки Маршалла. У животных, которым проводили первую абляцию ГС, частая предсердная электростимуляция в течение первых 6 ч не изменяет рефрактерный период и степень индукции ФП [21]. Некоторые клинические исследования показали преимущества вегетативной денервации путем воздействия на главные предсердные ГС, идентифицированные с помощью ВЧС, подобной той, что описана в данной работе [2, 8, 13, 23–25].

Лилей с соавторами предложили использовать целевую доставку лекарства для лечения ФП. Активность ГС уменьшили путем использования нейротоксического агента с последующим увеличением порога индукции ФП [17]. В ра-

боте на животных Ох с коллегами показали, что временное подавление ФП достигается с помощью инъекций ботулотоксина в эпикардиальные жировые подушки. Этот факт авторы связывают с уменьшенной дисперсией предсердного эффективного рефрактерного периода.

Недавние клинические исследования продемонстрировали, что абляция ГС в качестве дополнения к изоляции устьев АВ улучшает результаты абляции ФП, в то время как изолированная абляция ганглионарных сплетений имеет сопоставимый эффект со стандартной изоляцией устьев АВ [2, 8, 13, 23–25]. Однако не известны долгосрочные эффекты необратимого устранения столь важных функциональных структур, как основные ГС левого предсердия. Временная блокада вегетативной нервной системы без необратимой деструкции ГС имеет значительный потенциал в лечении ФП и может быть оптимальным решением для пациентов с временными факторами риска, как после открытых кардиохирургических вмешательств [26]. Также при временной вегетативной блокаде в дополнение к изоляции устьев АВ можно ожидать улучшение эффективности процедуры за счет усиления процессов обратного ремоделирования в слепой период (до 3 мес. после абляции).

Полученные экспериментальные данные дают основания к клиническому применению новых методов как профилактики, так и лечения фибрилляции предсердий. Интервенционный способ инъекций ботулинического токсина можно применить и в дополнении к стандартной методике радиочастотной изоляции устьев легочных вен, как профилактическую меру в ранний послеоперационный период (слепой период), и изолированно в лечении впервые возникших пароксизмальных форм фибрилляции предсердий. Также данная стратегия имеет потенциал развития нового типа лечения и остальных сложных видов нарушения ритма сердца, таких как желудочковая тахикардия и «электрический шторм», основанного на комбинации фармакологических и хирургических подходов.

В данной работе не исследовали дозозависимый эффект ботулинического токсина. Используемые дозы токсина были такими же, как и дозы, используемые в предыдущих работах [17, 18]. Возможно, более высокие дозы эффективнее при устранении ФП. Кроме того, подавление степени индукции фибрилляции предсердий в этой модели на животных не указывает на подавление ФП в реальном клиническом случае. Однако мы применили те же подходы, что используют в реальной клинической практике [8, 13, 14, 24–25].

## Заключение

Метод эндокардиальных инъекций ботулинического токсина в интрамиокардиальные ганглионарные сплете-

ния и эпикардиальные жировые подушки практически осуществим, безопасен, обеспечивает полное устранение предсердного вегетативного влияния и достоверно снижает уязвимость к фибрилляции предсердий.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

## Список литературы

- Schauerte P., Scherlag B.J., Pitha J., Scherlag M.A., Reynolds D., Lazzara R., Jackman W.M. Catheter ablation of cardiac autonomic nerves for prevention of vagal atrial fibrillation // *Circulation*. 2000. Vol. 102. P. 2774–2780.
- Scherlag B., Nakagawa H., Jackman W., Yamanashi W.S., Patterson E., Po S., Lazzara R. Electrical Stimulation to Identify Neural Elements on the Heart: Their Role in Atrial Fibrillation // *J. Cardiovasc Electrophysiol*. 2005. Vol. 13. P. 37–42.
- Hou Y., Scherlag B.J., Lin J., Zhang Y., Lu Z., Truong K., Patterson E., Lazzara R., Jackman W.M., Po S.S. Ganglionated plexi modulate extrinsic cardiac autonomic nerve input: effects on sinus rate, atrioventricular conduction, refractoriness, and inducibility of atrial fibrillation // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2007. Vol. 50 P. 61–68.
- Bettoni M., Zimmermann M. Autonomic tone variations before the onset of paroxysmal atrial fibrillation // *Circulation*. 2002. Vol. 23. P. 2753–2759.
- Amar D., Zhang H., Miodownik S., Kadish A. Competing autonomic mechanisms precedes the onset of postoperative atrial fibrillation // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2003. Vol. 42. P. 1262–1268.
- Ogawa M., Zhou S., Tan A.Y., Song J., Gholmieh G., Fishbein M.C., Luo H., Siegel R.J., Karagueuzian H.S., Chen L.S., Lin S.-F., Chen P.-S. Left stellate ganglion and vagal nerve activity and cardiac arrhythmias in ambulatory dogs with pacing-induced congestive heart failure // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2007. Vol. 50. P. 335–343.
- Patterson E., Po S.S., Scherlag B., Lazzara R. Triggered firing in pulmonary veins initiated by in vitro autonomic nerve stimulation // *Heart Rhythm*. 2005. Vol. 2. 624–631.
- Po S.S., Nakagawa H., Jackman W.M. Localization of left atrial ganglionated plexi in patients with atrial fibrillation // *J. Cardiovasc. Electrophysiol*. 2009. Vol. 20. P. 1186–1189.
- Armour J.A., Murphy D.A., Yuan B.X., Macdonald S., Hopkins D.A. Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system // *Anat. Rec*. 1997. Vol. 247. P. 289–298.
- Pauza D.H., Skripka V., Pauziene N., Stropus R. Morphology, distribution, and variability of the epicardiac neural ganglionated subplexuses in the human heart // *Anat. Rec*. 2000. Vol. 259. P. 353–382.
- Lu Z., Scherlag B.J., Lin J., Niu G., Fung K.M., Zhao L., Ghias M., Jackman W.M., Lazzara R., Jiang H., Po S.S. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation: autonomic mechanism for atrial electrical remodeling induced by short-term rapid atrial pacing // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol*. 2008. Vol. 1. P. 184–192.
- Lin J., Scherlag B.J., Zhou J., Lu Z., Patterson E., Jackman W.M., Lazzara R., Po S.S. Autonomic mechanism to explain complex fractionated atrial electrograms (CFAE) // *J. Cardiovasc. Electrophysiol*. 2007. Vol. 18. P. 1197–1205.
- Pokushalov E., Romanov A., Artyomenko S., Shirokova N., Turov A., Karaskov A., Katritsis D.G., Po S.S. Ganglionated plexi ablation directed by high-frequency stimulation and complex fractionated atrial electrograms for paroxysmal atrial fibrillation // *Pacing. Clin. Electrophysiol*. 2012. Vol. 35. P. 776–84.
- Katritsis D.G., Giazitzoglou E., Pokushalov E., Po S.S., Camm A.J. Rapid pulmonary vein isolation combined with autonomic ganglia

- modification: a randomized study // *Heart Rhythm*. 2011. Vol. 8. P. 672–8.
15. Montecucco C., Schiavo G., Tugnoli V., de Grandis D. Botulinum neurotoxins: mechanism of action and therapeutic applications // *Mol. Med. Today*. 1996. Vol. 2. P. 418–424.
  16. Rossetto O., Seveso M., Caccin P., Schiavo G., Montecucco C. Tetanus and botulinum neurotoxins: turning bad guys into good by research // *Toxicon*. 2001. Vol. 39. P. 27–41.
  17. Yu L., Scherlag B., Dormer K., Nguyen K.T., Pope C., Fung K.M., Po S.S. Autonomic Denervation With Magnetic Nanoparticles // *Circulation*. 2010. Vol. 122. P. 2653–2659.
  18. Oh S., Choi E., Zhang Y., Mazgalev T. Botulinum Toxin Injection in Epicardial Autonomic Ganglia Temporarily Suppresses // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2011. Vol. 4. P. 560–565.
  19. Стрельников А.Г., Лосик Д.В., Сергеевичев Д.С., Зыков И.С., Абашкин С.А., Романов А.Б., Покушалов Е.А. Нейротоксическая денервация автономной нервной системы левого предсердия в целях лечения и профилактики фибрилляции предсердий: экспериментальные исследования на животных // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2015. Т. 19. № 3. С. 94–99.
  20. Кливер Е.Н., Чернявский А.М., Романов А.Б., Покушалов Е.А., Терехов И.Н. Трехлетние результаты эндокардиальной имплантации аутологических клеток костного мозга пациентам с ишемической болезнью сердца с нормальной фракцией выброса левого желудочка // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2015. Т. 19. № 1. С. 59–65.
  21. Liu X., Yan Q., Li H., Tian Y., Su J., Tang R., Lu C., Dong J., Ma C. Ablation of ligament of marshall attenuates atrial vulnerability to fibrillation induced by inferior left atrial fat pad stimulation in dogs // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2010. Vol. 21. P. 1024–30.
  22. Danik S., Neuzil P., Avila A., Malchano Z.J., Kralovec S., Ruskin J.N., Reddy V.Y. Evaluation of catheter ablation of periatrial ganglionic plexi in patients with atrial fibrillation // *Am. J. Cardiol.* 2008. Vol. 102. P. 578–583.
  23. Pokushalov E. The role of autonomic denervation during catheter ablation of atrial fibrillation // *Curr. Opin. Cardiol.* 2008. Vol. 23. P. 55–9.
  24. Pokushalov E., Romanov A., Katritsis D.G., Artyomenko S., Shirokova N., Karaskov A., Mittal S., Steinberg J.S. Ganglionated Plexi Ablation vs Linear Ablation in Patients Undergoing Pulmonary Vein Isolation for Persistent/Longstanding Persistent Atrial Fibrillation: A Randomized Comparison // *Heart Rhythm*. 2013. Vol. 10. P. 1280–6.
  25. Katritsis D.G., Pokushalov E., Romanov A., Po S.S., Camm A.J., Ioannidis J.P. Autonomic Denervation Added to Pulmonary Vein Isolation for Paroxysmal Atrial Fibrillation: A Randomized Clinical Trial // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013. Vol. 62. P. 2318–25.
  26. Pokushalov E., Kozlov B., Romanov A., Strelnikov A., Bayramova S., Sergeevichev D., Bogachev-Prokophiev A., Zheleznev S., Shipulin V., Salakhutdinov N., Lomivorotov V.V., Karaskov A., Po S.S., Steinberg J.S. Botulinum toxin injection in epicardial fat pads can prevent recurrences of atrial fibrillation after cardiac surgery: results of a randomized pilot study // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014. Vol. 64. P. 628–9.

### Endocardial botulinum toxin injection into ganglionated plexi in order to reduce atrial fibrillation inducibility

Strel'nikov A.G.\*, Yakubov A.A., Sergeevichev D.S., Artemenko S.N., Mikhchenko I.L., Abashkin S.A., Romanov A.B., Pokushalov E.A.

Academician Ye. Meshalkin Novosibirsk Research Institute of Circulation Pathology, Ministry of Health Care of Russian Federation, 15 Rechkunovskaya St., 630055 Novosibirsk, Russian Federation

\* Corresponding author. Email: ag.strelnikov@gmail.com

**Objective.** Prior animal studies suggest that botulinum toxin injection into the epicardial fat pads can suppress atrial fibrillation (AF) inducibility. The purpose of the present study was to assess the efficacy and safety of endocardial botulinum toxin injection into epicardial fat pads and intramyocardial left atrial ganglionated plexi (GP) for preventing AF.

**Methods.** Twenty-four dogs were separated into 3 groups: endocardial approach for botulinum toxin (Xeomin, Germany) injection into epicardial fat pads and intramyocardial GPs; endocardial approach for placebo injection (0.9% normal saline; control 1; n = 8) and epicardial approach for botulinum toxin injection (control 2; n = 8).

**Results.** A mean of  $6.9 \pm 1.7$  intramyocardial injections (10 U/0.2 mL at each) and 3 injections (50 U/1 mL at each) were administered into each site exhibiting a positive vagal response and into each epicardial fat pad in all groups ( $p > 0.05$  between groups).

The injections of botulinum toxin demonstrated dramatic prolongation of ERP in all PV-atrial junctions. This effect correlated with less pronounced ERP shortening in response to vagal nerve stimulation. Suppression of AF inducibility was observed at 7 days after endocardial botulinum toxin injections. The level of AF inducibility was: at 7 days – 57% ( $p < 0.001$  vs placebo;  $p < 0.001$  vs baseline); at 14 days – 61% ( $p < 0.001$  vs placebo;  $p < 0.001$  vs baseline); at 1 month – 38% ( $p < 0.001$  vs placebo;  $p < 0.001$  vs baseline); at 3 months – 23% ( $p = 0.003$ ;  $p = 0.06$  vs baseline). There were no differences between botulinum groups ( $p > 0.05$  for all). The effect of AF suppression disappeared at 3 months. No procedure-related complications occurred.

**Conclusion.** Botulinum toxin injection into intramyocardial GPs and epicardial fat pads by an endocardial approach is feasible and safe. It provides complete removal of cardiac vagal responses and reliably reduces vulnerability to atrial fibrillation.

**Keywords:** atrial fibrillation; ablation; pulmonary vein; botulinum toxin; ganglionated plexi; atrial fibrillation; autonomic nervous system

Received 27 October 2015. Accepted 13 November 2015.