

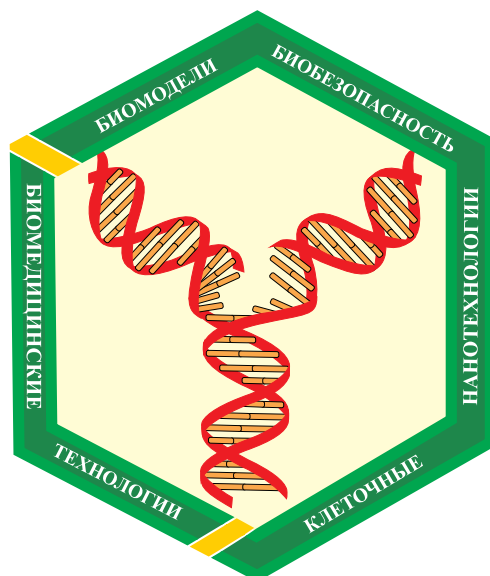
Научный журнал.

Основан в 2005 году ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати
Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324
09.06.2005г.

Подписной индекс 57995 в Каталоге «Издание органов научно-технической информации» ОАО «Роспечать»

Журнал включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (редакция — март 2010 года)



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор Н. Н. Каркищенко,
академик РАН, член-корреспондент РАМН

И. А. Берзин (д.м.н., проф.), Г. Д. Капаназе (д.б.н., зам. главного редактора),
В. Н. Каркищенко (д.м.н., проф., зам. главного редактора), С. Л. Люблинский (к.б.н.),
Ю. С. Макляков (д.м.н., проф.), Е. Л. Матвеев (к.э.н., доц.), А. Н. Мурашев (д.б.н., проф.),
Г. В. Раменская (д.ф.н., проф.), А. О. Ревякин (к.б.н.), Х. Х. Семёнов (к.б.н.),
Н. В. Станкова (к.б.н., ответственный секретарь), Д. А. Сычев (д.м.н., проф.),
Д. Б. Чайванов (к.ф.-м.н.), Е. В. Ших (д.м.н., проф.), Е. Б. Шустов (д.м.н., проф.)

Редакционный совет:

член-корр. РАН и РАМН К. В. Анохин, проф. Е. Е. Ачкасов, акад. РАМН и РАСХН В. А. Быков,
к.х.н. В. И. Вареник, акад. РАМН А. М. Дыгай, д.б.н. М. Ф. Киселёв, акад. РАМН А. А. Кубатиев,
акад. РАМН В. Г. Кукес, акад. РАН А. И. Мирошников, акад. РАН и РАМН М. А. Пальцев,
проф. А. С. Радиллов, проф. В. Р. Рембовский, акад. РАМН К. В. Судаков,
акад. РАМН В. П. Фисенко, член-корр. РАМН Д. Ф. Хритинин, проф. Б. Д. Цыганков

Охраняется Законом Российской Федерации № 5351-1
«Об авторском праве и смежных правах» от 9 июля 1993 года
и иными нормативно-правовыми актами. Воспроизведение
всего издания, а равно его части (частей) без письменного
разрешения издателя влечет ответственность в порядке,
предусмотренном действующим законодательством.

Адрес редакции:

143442, Московская область,
Красногорский р-н, п. Светлые горы,
владение 1
Тел.: 8 (495) 561-52-64

Отпечатано в типографии «Лин-Интер»
127591, Москва, ул. Дубнинская, д. 83а
Подписано в печать 12.09.2013 г.
Тираж 3 000 экз.

Adaptation mechanisms of protection pulp exposure in rats: the issue of biomodeling of acute and chronic pulpitis

A. Gadzhiyev, A.V. Volkov, I.I. Bobichenko, E.K. Krechina,
G.D. Kapnadze, N.V. Stankova

In laboratory rats were autopsied pulp chamber front incisors. Observation for 30 days revealed a number of adaptive mechanisms in the pulp cutters that allow it to exist in fact in the form of chronic wounds, which can not affect the current process alterations, inflammation and regeneration, and, in turn, on the adequacy of the results at biomodeling chronic and acute pulpitis in rodents.

Key words: pulpitis, modeling, laboratory animals.

Экспериментальное моделирование хронической сердечной недостаточности

А.А. Казаченко¹, С.В. Оковитый², А.Н. Куликов¹, Д.Ю. Ивкин²,
Е.Б. Шустов³

¹ – Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург

² – Химико-фармацевтическая академия МЗ РФ, Санкт-Петербург

³ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская обл.

Контактная информация: д.м.н., проф. Шустов Евгений Борисович, shustov-msk@mail.ru

Внедрение новых методов лечения хронической сердечной недостаточности требует адекватной доказательной базы, включающей доклинические исследования на экспериментальных моделях у животных. Проведена успешная апробация нескольких экспериментальных моделей формирования сердечной недостаточности у лабораторных животных, позволяющих с помощью метода эхокардиографии исследовать различные варианты течения заболевания, как по выраженности гемодинамических проявлений, так и по преимущественному поражению отделов сердца.

Наиболее эффективной в плане воспроизводимости и выраженности изменений является модель с перманентным лигированием левой коронарной артерии. Среди фармакологических моделей особенностями доксорубициновой модели хронической сердечной недостаточности является прогрессирующее снижение сократимости миокарда левого желудочка и развитие его эксцентрического ремоделирования, тогда как изадриновая модель характеризуется развитием лишь умеренной сердечной недостаточности, а введение монокроталина вызывает преимущественно развитие легочной гипертензии, гипертрофии правого желудочка и выраженной правожелудочковой сердечной недостаточности.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, моделирование.

Введение

Сердечно-сосудистая патология и, в частности, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является одной из наиболее серьезных проблем совре-

менной медицины. Внедрение новых методов лечения этой патологии требует достаточной доказательной базы, включающей доклинические исследования на экспериментальных моделях па-

тологии у животных. На сегодняшний день предлагаются различные методы моделирования ХСН у лабораторных животных, однако результативность и информативность этих моделей изучена недостаточно.

Целью настоящего исследования была апробация различных фармакологических моделей ХСН у крыс и оценка их результативности с помощью эхокардиографии (ЭХОКГ).

Материалы и методы

В исследовании использовались самцы лабораторных крыс Wistar массой 200-300 г. Во время проведения эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами, утвержденными МЗ СССР 06.07.73 г., по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических вивариев.

Все крысы были разделены на 4 опытные группы. Первая – 7 животных, которым внутрибрюшинно вводили доксорубин (Teva) в кумулятивной дозе 15 мг/кг, разделенной на 6 инъекций в течение 14 дней [9]. Вторая – 12 животных, которым подкожно вводился изопротеренол (изадрин) (Fluka) в дозе 80 мг/кг, дважды с интервалом в 24 ч [1]. Третья – 5 крыс, которым однократно внутрибрюшинно вводили монокроталин (Sigma) в дозе 60 мг/кг [3]. Четвертая – 5 животных, на которых проводилось перманентное лигирование левой коронарной артерии (коронароокклюзия). После наркотизации крыс хлоралгидратом (500 мг/кг, внутрибрюшинно) обрабатывали гортань 2% раствором лидокаина и осуществляли интубацию трахеи. Для проведения искусственной вентиляции легких использовали аппарат ИВЛ (Kent Scientific TORO™ Dual Mode Ventilator; частота ды-

хания – 50/мин, дыхательный объем 1,5-3 мл/ 100 г массы). Доступ к сердцу осуществляли путем торакотомии в четвертом межреберье слева от края тела грудины до передней аксиллярной линии. После рассечения перикарда производили лигирование ствола левой коронарной артерии с помощью атравматической иглы (6-0). Затем производили послойное ушивание раны.

Группу контроля составили интактные животные (по 5 для каждой группы), сопоставимые с исследуемыми по массе и исходным ЭХОКГ-показателям.

На животных с фармакологически моделируемой ХСН ЭХОКГ выполнялась трижды: исходно (1-я точка), через 1 мес. (2-я точка) и через 2 мес. (3-я точка) после моделирования ХСН. На животных четвертой группы ЭХОКГ выполнялась дважды: исходно (1-я точка) и через 6 недель (2-я точка).

ЭХОКГ выполнялась с использованием ультразвуковой системы «Acuson Sequoia 512» с линейным датчиком (частота 8МГц). Исследование животных проводили под тиопенталовым наркозом (60 мг/кг). В М-режиме (рис. 1) регистрировали: диаметр аорты у корня (Ао, мм); передне-задний размер левого предсердия (ЛП, мм); конечные диастолический и систолический размеры левого желудочка (КДР, КСР, мм); толщину межжелудочковой перегородки (Тмжп, мм) и толщину задней стенки левого желудочка (Тзс, мм); частоту сердечных сокращений (ЧСС). В В-режиме (рис. 2): поперечные и вертикальные размеры левого и правого желудочков, левого и правого предсердий (ЛЖп, ЛЖв, ПЖп, ПЖв, ЛПп, ЛПв, ППп, ППв, мм). Рассчитывали: конечный систолический и диастолический объемы (КСО, КДО, мл), показатели сократимости левого желудочка (ЛЖ)

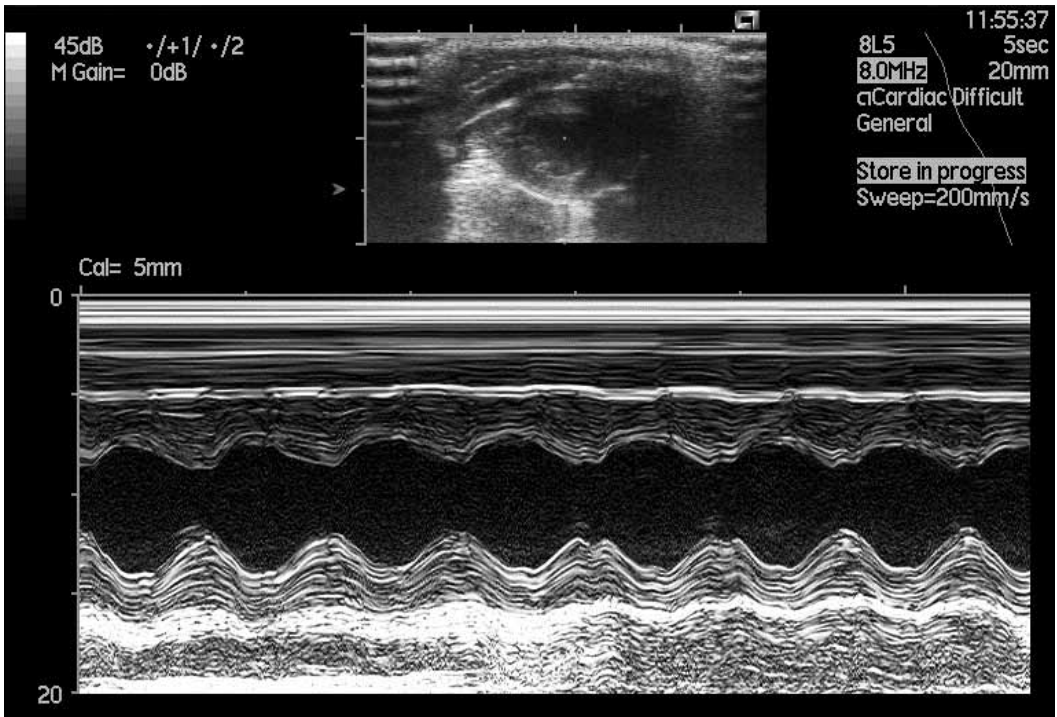


Рис. 1. ЭХОКГ сердца животных в М-режиме.

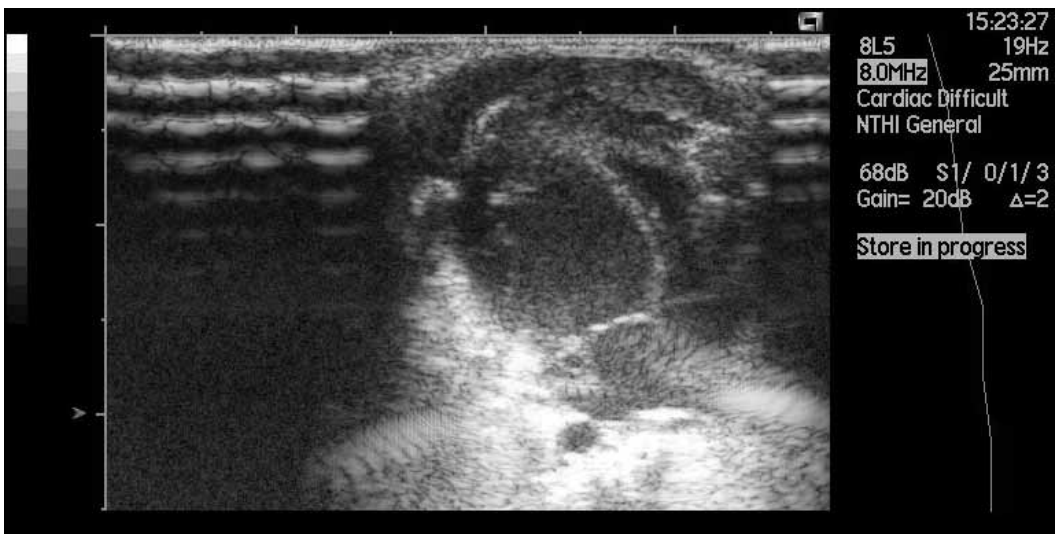


Рис. 2. ЭХОКГ сердца животных в В-режиме.

– фракцию укорочения ($\text{ФУ} = (\text{КДР} - \text{КСР}) / \text{КДР} \cdot 100; \%$) и фракцию выброса ($\text{ФВ} = (\text{КДО} - \text{КСО}) / \text{КДО} \cdot 100; \%$) по Teichholz (1976), ударный объем (УО); показатели ремоделирования ЛЖ – относительную толщину миокарда ($\text{ОТМ} = (\text{Тмжп} + \text{Тзс}) / \text{КДРлж}, \text{ед}$).

Результаты и их обсуждение

За период наблюдения у интактных животных на фоне естественного развития отмечалось достоверное увеличение средней массы тела, при ЭХОКГ – увеличение размеров камер сердца, пропорциональное увеличению массы тела, при неизменных показателях сократимости и ремоделирования левого желудочка (ФУ, ФВ, ОТМ).

У животных 1-й опытной группы (доксорубициновая модель ХСН) отсутствовал прирост массы тела и даже отмечалась тенденция к снижению к 3-й точке наблюдения. Через 1 мес. после введения доксорубицина наблюдались признаки эксцентрического ремоделирования миокарда ЛЖ, характеризующиеся увеличением КДР, значимым в сравнении с контролем уменьшением ОТМ. К третьей точке наблюдения наблюдалось увеличение размеров левого желудочка (КДР, ДКО), значимое в сравнении с контрольной группой снижение показателей сократимости (КСР, ФУ, ФВ), уменьшение ОТМ. Смертность в данной группе составила 30% к концу наблюдения (2 из 7 животных), стойкое снижение сократимости наблюдалось у всех выживших крыс.

Во 2-й группе (изадриновая модель ХСН) через 1 мес. была отмечен достоверный прирост массы, наблюдалось увеличение размеров левого желудочка, с достоверным снижением показателей сократимости (КСР, ФУ и ФВ) и уменьшением ОТМ. К 8-й неделе наблюдения (3-я точка) отмечался дальнейший рост животных с достоверным приростом массы тела и некоторым увеличением размеров камер сердца, отмечалась тенденция к улучшению сократимости левого желудочка. При сравнении с контролем значимо большим оказался лишь диаметр

аорты. Все животные данной группы выжили, к 8-й неделе стойкое снижение сократимости левого желудочка наблюдалось лишь у 17% (2 из 12 крыс).

У крыс 3-й опытной группы (монокроталиновая модель ХСН) через 1 мес. наблюдения значимых различий с группой контроля выявлено не было. У животных отмечалась тенденция к увеличению массы тела и значимое увеличение ЛП. Через 2 мес. наблюдения при сравнительном анализе с контролем значительно различались лишь в меньших величинах диаметра аорты, КДР, КДО и УО. Между тем, следует отметить, что у 2-х животных, получавших монокроталин, к 8-й неделе наблюдения отмечено выраженное уменьшение массы тела, причем у 1-го животного потеря массы составила 40% (2-я точка – 248 г, 3-я точка – 155 г). При ЭХОКГ наибольшие изменения отмечались со стороны правых отделов сердца. У обоих животных выявлялась резкая гипертрофия стенок правого желудочка (до 2 мм), парадоксальное движение межжелудочковой перегородки, увеличение КСР (4,2 и 4,5 мм соответственно), снижение ФУ (35,1% и 28,2% соответственно) и ФВ (70,2 и 60,2% соответственно). Кроме того, у крысы с выраженным дефицитом массы тела была обнаружена выраженная дилатация правого предсердия (ППв и ППп в 2,5 раза больше средних показателей в контрольной группе – 10,2 и 5,4 мм против $4,3 \pm 0,5$ мм и $3,2 \pm 0,5$ мм соответственно) и тяжелая трикуспидальная регургитация. Смертности в данной группе к концу наблюдения не отмечалось.

Наиболее выраженные изменения наблюдались в 4-й группе. Через 6 мес. после выполненной коронароокклюзии у всех животных отмечался прирост массы тела (более выраженный по срав-

нению с другими группами), дилатация всех камер сердца, истончение стенок ЛЖ и уменьшение ОТМ, снижение глобальной сократимости миокарда. У большинства крыс отмечались признаки очагового кардиосклероза и нарушение локальной сократимости. При сравнении с контрольной группой значимо различались КДО, КСО, ФВ. Выявленные изменения наблюдались у всех животных данной группы, смертельных исходов не было.

Таким образом, на всех использованных моделях выявлены нарушения сократительной функции сердца с формированием ХСН, но степень выраженности значительно различалась. Наиболее воспроизводимыми моделями оказались введение доксорубина и перманентное лигирование левой коронарной артерии, причем последнее приводило к более выраженным изменениям. Именно перевязка коронарных артерий, на наш взгляд, является наиболее оптимальным вариантом моделирования ХСН, но требует более сложной технической подготовленности, что может существенно ограничить ее использование.

Высокая летальность в первой группе, по всей видимости, объясняется дозозависимой кардиотоксичностью доксорубина [5]. Данные других авторов о гастроинтестинальной и общей токсичности препарата при внутрибрюшинном введении [8] отчасти объясняют дистрофию животных, так как только в данной группе к концу наблюдения отмечалось снижение массы тела. При этом объяснение данного факта влиянием ХСН кажется маловероятными. С одной стороны, период наблюдения был не достаточно большим, а с другой – в четвертой группе, где снижение сократимости было максимальным, прирост массы тела был наибольшим.

Последнее легче объяснить застойными явлениями на фоне ХСН. В целом, из всех апробированных нами фармакологических моделей доксорубиновая вызывает наиболее прогнозируемое развитие выраженной и прогрессирующей ХСН у большинства животных, что согласуется с результатами работ других авторов [2, 6]. По нашему мнению, использование доксорубиновой модели для оценки различных методов лечения ХСН представляется наиболее интересным.

Оставшиеся две фармакологические модели представляют меньший интерес в плане оценки течения именно ХСН. Так, введение изопротенерола приводило к выраженным изменениям лишь во 2-й точке наблюдения, проявляющимся снижением ФВ и тенденцией к истончению стенок ЛЖ. К 3-й точке отмечалась стабилизация размеров и сократимости ЛЖ, с некоторой тенденцией к ее улучшению. Такая динамика показателей сократимости и ремоделирования ЛЖ позволяет предположить, что введение изопротенерола вызывает компенсированную ХСН и лучше подходит для моделирования не столько хронической, сколько острой сердечной недостаточности.

Введение монокроталина в целом по группе не вызывало снижения сократимости ЛЖ. Наблюдаемые изменения у двух животных в виде выраженной гипертрофии и дилатации правых отделов сердца свидетельствовали о развитии у них вторичной легочной гипертензии. Отрицательная динамика массы тела у них же, вероятно, была обусловлена развитием сердечно-легочной недостаточности. Полученные результаты согласуются с данными других авторов, свидетельствующими о начале формирования легочной гипертензии, индуцирующей развитие гипертрофии правого же-

лудочка к 10-15 суткам после введения монокроталина [7, 10]. При этом критическими считаются первые 2 мес., когда отмечается максимальная летальность. В последующем у животных, адаптировавшихся к развившейся легочной гипертензии, продолжительность жизни может быть достаточно большой, а мор-

фофункциональные изменения сердца длительное время минимальны [4, 7, 10]. Таким образом, введение монокроталина приводит к развитию у части животных вторичной легочной гипертензии с формированием хронического легочного сердца и правожелудочковой сердечной недостаточности.

Таблица 1

Динамика ЭХОКГ-показателей в 1-й и 4-й опытных группах

Показатели	Доксорубин			Коронароокклюзия	
	исходно	4 недели	8 недель	исходно	6 недель
Масса, г	227±30,5	234±23,8	212±11,5 ^{..}	252,6±15,5	419±52,3 ¹
Аорта, см	0,35±0,04	0,35±0,03	0,35±0,2	0,32±0,04	0,39±0,03 ¹
ЛП, см	0,35±0,05	0,45±0,04	0,47±0,5 ¹	0,28±0,03	0,38±0,08 ¹
КДР лж, см	0,56±0,05	0,68±0,06 ¹	0,69±0,04 ¹	0,61±0,06	0,89±0,1 ¹
КДО лж, мл	0,42±0,13	0,71±0,17 ¹	0,74±0,13 ¹	0,56±0,14	1,5±0,4 ¹
КСР лж, см	0,28±0,06	0,4±0,09	0,45±0,05 ¹	0,28±0,04	0,74±0,11 ¹
КСО лж, см	0,07±0,04	0,18±0,1	0,24±0,07 ¹	0,1±0,04	0,97±0,35 ¹
ОТМ, ед.	0,49±0,05	0,41±0,02 [*]	0,37±0,03 ^{1,2}	0,46±0,08	0,32±0,08 ¹
ФУ, %	51,2±6,4	40,9±8,3	34,3±4,51 ^{**,}	47,7±3,5	16,4±5,3 ¹
УО, мл	0,36±0,09	0,53±0,08 ¹	0,51±0,07 ^{**}	0,43±0,11	0,56±0,16 ¹
ЧСС, уд/мин	440±77	457±36 [*]	413±42 ²	428±35	355±84 ¹
ФВ %	86,3±5,1	76,3±9,1	68,9±5,9 ¹	83,6±4,2	38,4±10,3 ¹

Примечание: здесь и в табл. 2 данные представлены в виде М±m, где М – среднее арифметическое значение показателя группы, m – средневекторное отклонение. В надстрочном индексе: 1 – p<0,05 в сравнении с исходными показателями; 2 – p<0,05 в сравнении с показателями 2-й точки; * – p<0,05 в сравнении со 2-й точкой интактных животных; ** – p<0,05 в сравнении с 3-й точкой интактных животных.

Таблица 2

Динамика ЭХОКГ-показателей во 2-й и 3-й опытных группах

Показатели	Монокроталин			Изопротеренол		
	исходно	4 недели	8 недель	исходно	4 недели	8 недель
Масса, г	220±33	263±36 ¹	300±41 ^{1,2}	220±33	263±36 ¹	300±41 ^{1,2}
Аорта, см	0,32±0,04	0,36±0,04 ¹	0,4±0,03 ^{1,2}	0,32±0,04	0,36±0,04 ¹	0,4±0,03 ^{1,2}
ЛП, см	0,34±0,07	0,43±0,05 ¹	0,43±0,04 ¹	0,34±0,07	0,43±0,05 ¹	0,43±0,04 ¹

КДР лж, см	0,59±0,11	0,7±0,04 ^{1,2}	0,7±0,05 ¹	0,59±0,11	0,7±0,04 ^{1,2}	0,7±0,05 ¹
КДО лж, мл	0,54±0,24	0,78±0,14 ^{1,2}	0,79±0,15 ¹	0,54±0,24	0,78±0,14 ^{1,2}	0,79±0,15 ¹
КСР лж, см	0,31±0,07	0,42±0,06 ^{1,2}	0,41±0,05 ¹	0,31±0,07	0,42±0,06 ^{1,2}	0,41±0,05 ¹
КСО лж, см	0,09±0,06	0,19±0,08 ^{1,2}	0,18±0,09 ¹	0,09±0,06	0,19±0,08 ^{1,2}	0,18±0,09 ¹
ОТМ, ед.	0,54±0,12	0,41±0,06 ^{1,2}	0,4±0,04 ¹	0,54±0,12	0,41±0,06 ^{1,2}	0,4±0,04 ¹
ФУ, %	47,7±6,9	39,9±6,6 ^{1,2}	41,7±6,3 ¹	47,7±6,9	39,9±6,6 ^{1,2}	41,7±6,3 ¹
УО, мл	0,45±0,2	0,59±0,11 ¹	0,61±0,14 ¹	0,45±0,2	0,59±0,11 ¹	0,61±0,14 ¹
ЧСС, уд/мин	343±94	382±66 ¹	332±47	343±94	382±66 ¹	332±47
ФВ %	83,4±5,6	75,2±7,7 ^{1,2}	77,4±6,4 ¹	83,4±5,6	75,2±7,7 ^{1,2}	77,4±6,4 ¹

Выводы

1. Наиболее эффективной по воспроизводимости и по выраженности изменений является модель с перманентным лигированием левой коронарной артерии.

2. Особенности доксорубициновой модели хронической сердечной недостаточности являются прогрессирующее снижение сократимости миокарда левого желудочка и развитие его эксцентрического ремоделирования.

3. Изадриновая модель характеризуется развитием лишь умеренной сердечной недостаточности, а введение монокроталина вызывает преимущественное развитие легочной гипертензии, гипертрофии правого желудочка и выраженной правожелудочковой сердечной недостаточности.

4. Эхокардиография (ЭХОКГ) является высокоинформативным неинвазивным методом оценки в динамике сердечно-сосудистой системы у мелких животных при моделировании различной патологии.

Список литературы

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Ремедиум. 2005. 829 с.
2. *Christiansen S., Redmann K., Scheld H.H., et al.* Adriamycin-induced cardiomyopathy in the dog – an appropriate model for research on partial left ventriculectomy // *J. Heart Lung Transplant.* 2002. Vol. 21. № 7. P. 783-790.
3. *Elsner D., Riegger G.A.J.* Characteristics and clinical relevance of animal models of heart failure /D. Elsner // *Curr Opin Cardiol.* 1995. Vol. 10. № 3. P. 253-259.
4. *Gram T.E.* Metabolic activation and toxicity of chemical agents to lung tissue and cells / Pergamon Press, Oxford. 1993. P. 239-254.
5. *Lee V., Randhawa A.K., Singal P.K.* Adriamycin-induced myocardial dysfunction in vitro is mediated by free radicals // *Am J. Physiol.* 1991. Vol. 261. № 4. Pt. 4. P. 989-995.

6. **Monnet E., Orton E.C.** A canine model of heart failure by intracoronary adriamycin injection: hemodynamic and energetic results // *J. Card. Fail.* 1999. Vol. 5. № 3. P. 255-264.
7. **Robinovitch M.** Investigational approaches to pulmonary hypertension // *Toxicol. Pathol.* 1991. Vol. 19. № 4. Pt. 1. P. 458-469.
8. **Toyoda Y., Okada M., Kashem A.M.** A canine model of dilated cardiomyopathy induced by repetitive intracoronary doxorubicin administration // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1998. Vol. 115. № 6. P. 1367-1373.
9. **Weinberg L.E., Singal P.K.** Refractory heart failure and age-related differences in adriamycin-induced myocardial changes in rats // *Can J. Physiol. Pharmacol.* 1987. Vol. 65. № 9. P. 1957-1965.
10. **Wilson D.W., Segall H.J., Pan L.C., et al.** Mechanisms and pathology of monocrotaline toxicity // *Crit. Rev. Toxicol.* 1992. Vol. 22, № 5. P. 307-325.

Experimental modeling of chronic warm insufficiency

A.A. Kazachenko, S.V. Okovityy, A.N. Kulikov, D.Yu. Ivkin, E.B. Shustov

Introduction of new methods of treatment of chronic warm insufficiency demands the adequate evidential base including preclinical researches on experimental models at animals. Successful approbation of several experimental models of formation of warm insufficiency at the laboratory animals allowing by means of a method of an echocardiography to investigate various options of a course of a disease, both on expressiveness of hemodynamic manifestations, and on primary defeat of departments of heart is carried out.

The most effective in terms of reproducibility and intensity of the changes is the model with a permanent ligation of the left coronary artery. Among the features of pharmacological models doxorubicin model of chronic heart failure is a progressive decrease in left ventricular contractility and the development of his eccentric remodeling, whereas izadrin model is characterized by the development of a moderate heart failure, and the introduction of monocrotaline is mainly the development of pulmonary hypertension, right ventricular hypertrophy and severe right heart failure.

Key words: chronic heart failure, modeling.