

К возможности применения эхокардиографии у мелких лабораторных животных для проведения острых фармакологических тестов

Ионова Е.О., Цорин И.Б., Барчуков В.В.,
Столярук В.Н., Крыжановский С.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. Цель настоящего исследования – изучение адекватности метода эхокардиографии на мелких лабораторных животных при проведении острых фармакологических тестов. В опытах на белых беспородных крысах-самцах показано, что не-селективный агонист β -адренорецепторов изопротеренол (20 мкг/кг, в/в) уменьшает конечно-систолический и конечно-диастолический размеры и объёмы левого желудочка сердца, измеренные с помощью эхокардиографии, и увеличивает фракции укорочения и выброса, т. е. обладает положительным инотропным эффектом. Кардиоселективный β 1-адреноблокатор метопролол (1 мг/кг, в/в), напротив, увеличивает размеры левого желудочка и уменьшает фракции укорочения и выброса, т. е. обладает отрицательным инотропным эффектом. Таким образом, метод эхокардиографии на мелких лабораторных животных может быть использован для проведения острых фармакологических тестов.

Ключевые слова: эхокардиография; крысы; острые фармакологические тесты; изопротеренол; метопролол

Для цитирования:

Ионова Е.О., Цорин И.Б., Барчуков В.В., Столярук В.Н., Крыжановский С.А. К возможности применения эхокардиографии у мелких лабораторных животных для проведения острых фармакологических тестов // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – №2. – С.59–64. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10015.

The possibility of using echocardiography in small laboratory animals for acute pharmacological tests

Ionova E.O., Tsorin I. B., Barchukov V.V., Stolyaruk V. N., Kryzhanovskii S.A.
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. The purpose of this investigation is to study the adequacy of the echocardiography method in small laboratory animals for performing acute pharmacological tests. In experiments on white mongrel male rats, a nonselective β -adrenoreceptor agonist isoproterenol (20 μ g /kg, i.v.) reduces the end-systolic and end-diastolic dimensions and volumes of the heart left ventricle, measured by echocardiography, and increases the shortening and ejection fractions, i.e. has a positive inotropic effect. Cardioselective β 1-adrenoblocker metoprolol (1 mg / kg, i.v.), on the contrary, increases the left ventricle sizes and reduces the shortening and ejection fractions, i.e. has a negative inotropic effect. Thus, the method of echocardiography in small laboratory animals can be used to conduct acute pharmacological tests.

Keywords: echocardiography; rats; acute pharmacological tests; isoproterenol; metoprolol

For citations:

Ionova EO, Tsorin IB, Barchukov VV, Stolyaruk VN, Kryzhanovskii SA. The possibility of using echocardiography in small laboratory animals for acute pharmacological tests. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;2:59–64. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10015.

Введение

Метод эхокардиографии достаточно широко применяется при проведении экспериментальных исследований на мелких лабораторных животных. В подавляющем большинстве случаев его используют для оценки интенсивности ремоделирования левого желудочка сердца при воспроизведении различных видов патологии миокарда [1–3]. Помимо этого, эхокардиографию используют для изучения влияния лекарственных средств и/или биологически активных веществ на процессы патологического ремоделирования миокарда [4–6]. В литературе (библиотека

PubMed) не приводится сообщений об использовании эхокардиографии при проведении острых фармакологических тестов, оценивающих влияние вновь синтезированных соединений на инотропную функцию сердца. Обычно для этих целей используют инвазивные методы исследования: измеряют максимальную скорость нарастания внутрижелудочкового давления в фазу изометрического сокращения (dp/dt макс), что требует катетеризации левого желудочка сердца [7, 8] или с помощью расходомера крови оценивают фазовый кровоток в восходящей части дуги аорты, для чего необходимо вскрытие грудной клетки и перевод животного на искусственное дыхание [9]. Естественно,

что использование достаточно травматичных процедур, приводящих или к нарушению функциональной активности аортального клапана, или к сдавлению дуги аорты, может негативно влиять, а при определённых условиях и искажать результаты исследований. В силу этого, представляется целесообразным внедрение в повседневную практику неинвазивных методов исследований, не обладающих отрицательными воздействиями на организм и позволяющих в реальном масштабе времени получить максимально адекватные результаты. Одним из таких возможных подходов является использование метода эхокардиографии, который ранее для проведения острых фармакологических тестов не применялся.

Цель исследования

Цель настоящего исследования — изучение возможности использования метода эхокардиографии на мелких лабораторных животных при проведении острых фармакологических тестов.

Материалы и методы

Животные

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г, полученных из Филиал «Столбовая» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова». Животных содержали в соответствии с приказом Минздрава России № 199 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. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/ЕЕС)), а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утверждёнными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Экспериментальный протокол

Наркотизированных (уретан 1300 мг/кг в/б) крыс рандомизировали на две группы: 1-я ($n = 5$) — изопроterenол (20 мкг/кг, в/в, болюсом), 2-я ($n = 5$) метопролол (1 мг/кг, в/в, болюсом). Регистрацию эхокардиограммы проводили за 5 мин до введения изучаемых лекарственных средств и в течение 5 мин после окон-

чания их введения. В работе использовали изопроterenол («Sigma», Германия) и метопролол («Astra Zeneca», Швеция).

Эхокардиографические исследования

При помощи эхокардиографии оценивали состояние внутрисердечной гемодинамики. Измерения проводили в одномерном М- и двухмерном В-модальных режимах при положении датчика эхокардиографа в парастернальной позиции по длинной оси. В М-модальном режиме оценивали конечно-систолический (КСР) и конечно-диастолический (КДР) размеры левого желудочка сердца, затем по методу Teichholz рассчитывали такие показатели, как фракция выброса (ФВ), фракция укорочения (ФУ), конечно-систолический объём (КСО), конечно-диастолический объём (КДО) левого желудочка, а также ударный объём (УО) сердца. Эхокардиографические показатели оценивали, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. Все измерения выполняли в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии [10]. В работе использовали цифровой ультразвуковой эхокардиограф DP-6600 с электронным микроконвексным датчиком 65С15ЕА (6,5/8,0 МГц).

Статистическая обработка полученных данных

Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Так как выборки имели распределение близкое к нормальному, то для определения статистической значимости изменений, вызываемых тестируемыми веществами, использовали дисперсионный анализ повторных измерений с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$, критерии двухсторонние. Полученные результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок.

Результаты и обсуждение

Как следует из результатов первой серии экспериментов (табл. 1, рис. 1), неселективный β -адреномиметик изопроterenол (20 мкг/кг, в/в, $n = 5$) через 1 мин после окончания введения вызывает статистически значимое по сравнению фоном перед введением увеличение показателей, характеризующих систолическую (инотропную) функцию левого желудочка сердца: фракции укорочения (соответственно, $52,1 \pm 1,5 \%$ и $46,5 \pm 1,5 \%$; $p = 0,0007$) и фракции выброса (соответственно, $88,7 \pm 1,0 \%$ и $82,3 \pm 1,4 \%$; $p = 0,041$). Помимо этого, отмечаются известные из классической фармакологии характерные для β -адреномиметиков изменения показателей, отра-

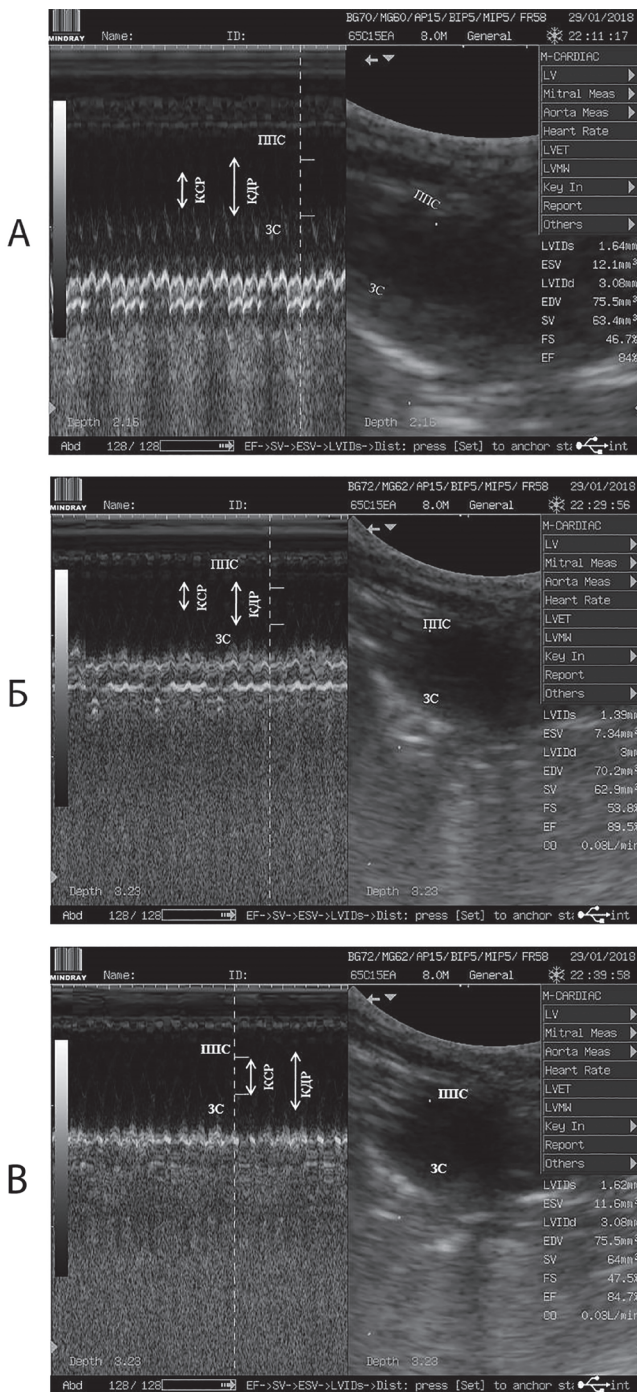


Рис. 1. Фармакологическая проба с изопроterenолом. Эхограмма сердца крысы до (А) и через 1 (Б) и 5 (В) минут после введения препарата

жающих состояние внутрисердечной гемодинамики [11, 12]. Так, например, конечно-диастолический объём левого желудочка сердца снижается по сравнению фоном перед введением с $59,42 \pm 6,53$ до $47,18 \pm 5,87$ мм³ ($p = 0,001$). Однако это снижение существенно меньше, чем уменьшение конечно-систолического объёма, соответственно, с $9,68 \pm 1,48$ до $5,51 \pm 0,83$ мм³ ($p = 0,0013$). Согласно

Таблица 1

Влияние изопроterenолола (20 мкг/ кг, в/в) на показатели внутрисердечной гемодинамики наркотизированных крыс (уретан, 1300 мг/кг, в/б; $n = 5$)

Показатель	Исходный уровень	Через 1 мин после введения вещества	Через 5 мин после введения вещества
КСР, мм	$1,51 \pm 0,08$	$1,25 \pm 0,06$ $p = 0,0002$	$1,45 \pm 0,06$ $p > 0,2$
КСО, мм ³	$9,68 \pm 1,48$	$5,51 \pm 0,83$ $p = 0,0013$	$8,71 \pm 1,22$ $p > 0,2$
КДР, мм	$2,82 \pm 0,11$	$2,60 \pm 0,10$ $p = 0,0086$	$2,82 \pm 0,07$ $p > 0,2$
КДО, мм ³	$59,42 \pm 6,53$	$47,18 \pm 5,87$ $p = 0,001$	$59,01 \pm 4,55$ $p > 0,2$
УО, мм ³	$49,74 \pm 5,28$	$41,66 \pm 5,17$ $p = 0,031$	$50,30 \pm 3,67$ $p > 0,2$
ФУ, %	$46,5 \pm 1,5$	$52,1 \pm 1,5$ $p = 0,0007$	$48,5 \pm 1,7$ $p > 0,2$
ФВ, %	$82,3 \pm 1,4$	$88,7 \pm 1,0$ $p = 0,041$	$84,2 \pm 1,4$ $p > 0,2$

Примечания: указаны средние арифметические и их стандартные ошибки; p – по отношению к исходному уровню.

Таблица 2

Влияние метопролола (1,0 мг/кг, в/в) на показатели внутрисердечной гемодинамики наркотизированных крыс (уретан, 1300 мг/кг, в/б; $n = 5$)

Показатель	Исходный уровень	Через 2 мин после введения вещества	Через 5 мин после введения вещества
КСР, мм	$1,29 \pm 0,04$	$1,99 \pm 0,07$ $p < 0,001$	$2,14 \pm 0,06$ $p < 0,001$
КСО, мм ³	$6,06 \pm 0,55$	$21,43 \pm 2,03$ $p < 0,001$	$26,51 \pm 1,87$ $p < 0,001$
КДР, мм	$2,93 \pm 0,12$	$3,54 \pm 0,09$ $p < 0,001$	$3,74 \pm 0,14$ $p < 0,001$
КДО, мм ³	$66,21 \pm 7,38$	$113,79 \pm 8,51$ $p = 0,0014$	$134,12 \pm 13,78$ $p < 0,001$
УО, мм ³	$60,15 \pm 7,20$	$92,36 \pm 7,48$ $p = 0,0051$	$107,61 \pm 12,18$ $p < 0,001$
ФУ, %	$55,6 \pm 1,6$	$43,8 \pm 1,4$ $p < 0,001$	$42,6 \pm 1,1$ $p < 0,001$
ФВ, %	$90,5 \pm 0,9$	$81,1 \pm 1,33$ $p < 0,001$	$79,9 \pm 1,1$ $p < 0,001$

Примечания: указаны средние арифметические и их стандартные ошибки; p – по отношению к исходному уровню.

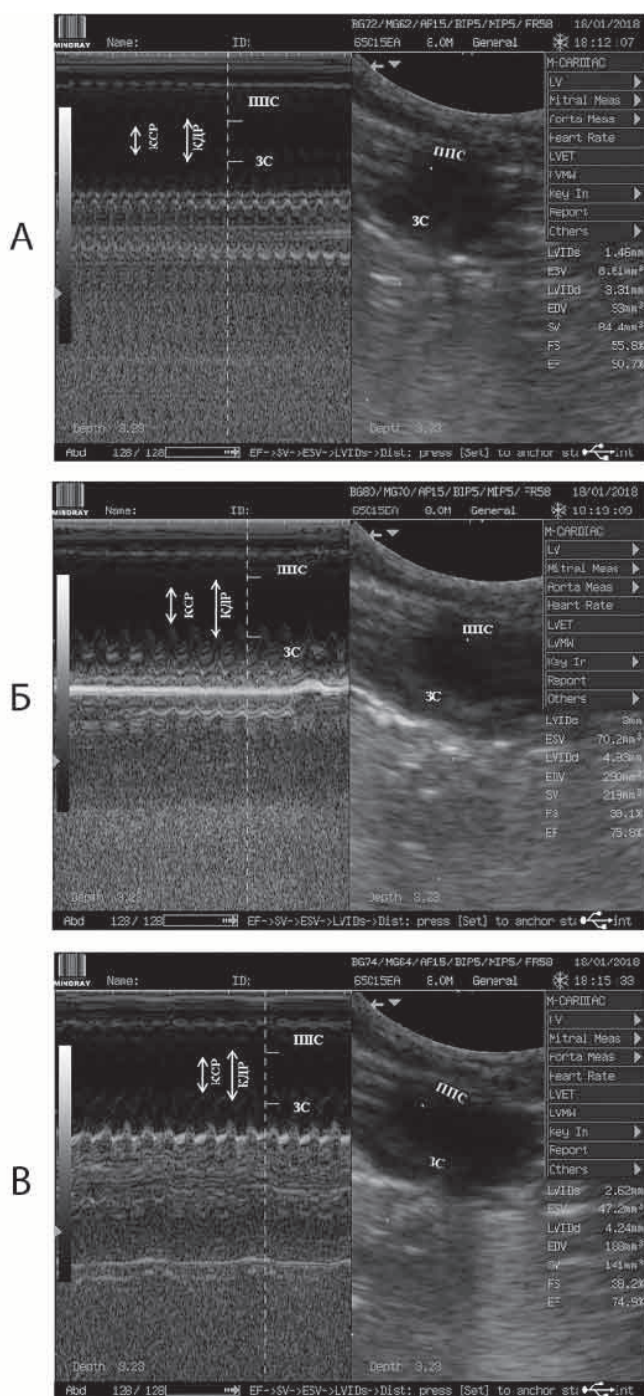


Рис. 2. Фармакологическая проба с метопрололом. Эхограмма сердца крысы до (А) и через 2 (Б) и 5 (В) минут после введения препарата

но полученным результатам, длительность действия изопротеренола, введённого однократно болюсом, незначительна и уже через 5 мин после окончания его введения все регистрируемые показатели практически не отличаются от фона (табл. 1), что полностью соответствует известным из литературы фармакокинетическим характеристикам препарата.

Во второй серии экспериментов изучали воз-

можность использования эхокардиографии при проведении острых фармакологических тестов для оценки отрицательного инотропного действия изучаемых соединений. Показано, что кардиоселективный β_1 -адреноблокатор метопролол (1 мг/кг в/в, $n = 5$) вызывает статистически значимое снижение систолической функции левого желудочка сердца (табл 2, рис. 2). Так, через 2 мин после окончания введения препарата фракция укорочения снизилась по сравнению с фоном с $55,6 \pm 1,6$ до $43,8 \pm 1,4$ % ($p < 0,001$), а фракция выброса – с $90,5 \pm 0,9$ до $81,1 \pm 1,33$ % ($p < 0,001$). Также зарегистрированы характерные для β -адреноблокаторов изменения геометрии левого желудочка сердца [13, 14] – увеличение по сравнению с фоном конечно-систолического и конечно-диастолического объёмов левого желудочка сердца, соответственно, с $6,06 \pm 0,55$ до $21,43 \pm 2,03$ мм ($p < 0,001$) и с $66,21 \pm 6,53$ мм до $113,79 \pm 8,51$ мм ($p < 0,0014$). Через 5 мин после окончания введения препарата его кардиодепрессивные эффекты полностью сохраняются (см. табл. 2, рис. 2), что обусловлено тем, что $T_{1/2}$ метопролола при внутривенном введении колеблется в пределах 3–5 ч.

Заключение

Таким образом, результаты настоящего исследования убедительно свидетельствуют о том, что метод эхокардиографии на мелких лабораторных животных может быть использован при проведении острых фармакологических тестов по изучению влияния биологически активных соединений на инотропную функцию сердца. В отличие от традиционно применяемых для этих целей инвазивных методов исследования, (определение dp/dt_{max} или величины фазового кровотока в восходящей части дуги аорты) метод эхокардиографии имеет ряд преимуществ. Во-первых, он атравматичен, что практически нивелирует риск получения некорректных результатов, связанных с травматичным операционным вмешательством, а во-вторых, позволяет получить информацию не только о состоянии инотропной функции сердца, но и об изменении геометрии левого желудочка сердца под влиянием изучаемых соединений, что представляется достаточно важным. Также есть, все основания говорить о том, что метод эхокардиографии на мелких лабораторных животных может быть использован не только при проведении острых фармакологических тестов по оценке инотропной функции сердца, но и при проведении экспериментов по изучению механизмов, лежащих в основе изменения сократимости миокарда.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Крыжановский Сергей Александрович

Автор, ответственный за переписку

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN-код: 6596-4865

д. м. н., зав. лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Kryzhanovskii Sergey

Corresponding author

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN-код: 6596-4865

Doctor of Medical Sciences, Head of Laboratory of pharmacological screening FSBI “ZAKUSOV INSTITUTE OF PHARMACOLOGY”, Moscow

Ионова Екатерина Олеговна

ORCID ID: 0000-0003-0154-722X

SPIN-код: 5042-1952

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

Ionova Ekaterina

ORCID ID: 0000-0003-0154-722X

SPIN code: 5042-1952

Junior researcher, laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Цорин Иосиф Борисович

ORCID ID: 0000-0002-3988-7724

SPIN-код: 4015-3025

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

Tsorin Iosif

ORCID ID: 0000-0002-3988-7724

SPIN code: 4015-3025

Doctor of Biological Sciences, leading researcher, laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Барчуков Владимир Валерьевич

ORCID ID: 0000-0003-4229-3107

SPIN-код: 6743-4280

н. с., лаборатория фармакологического скрининга, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Barchukov Vladimir

ORCID ID: 0000-0003-4229-3107

SPIN code: 6743-4280

Research Officer, laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Столярук Валерий Николаевич

ORCID ID: 0000-0002-4779-427X

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

Stolyaruk Valeriy

ORCID ID: 0000-0002-4779-427X

Senior researcher, laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. Boudia D, Domergue V, Mateo P, et al. Beneficial effects of exercise training in heart failure are lost in male diabetic rats. *J Appl Physiol.* (1985). 2017 Dec 1;123(6):1579–1591. DOI: 10.1152/jappphysiol.00117.2017
2. Squair JW, Liu J, Tetzlaff W, et al. Spinal cord injury-induced cardiomyocyte atrophy and impaired cardiac function are severity dependent. *Exp Physiol.* 2018 Feb 1;103(2):179–189. DOI: 10.1113/EP086549
3. Wu LH, Zhang Q, Zhang S, et al. Effects of gene knockdown of CNP on ventricular remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury through NPRB/Cgmp signaling pathway in rats. *J Cell Biochem.* 2018 Feb;119(2):1804–1818. DOI: 10.1002/jcb.26341
4. Wang B, Ma X, Zhao L, et al. Injection of basic fibroblast growth factor together with adipose-derived stem cell transplantation: improved cardiac remodeling and function in myocardial infarction. *Clin Exp Med.* 2016 Nov;16(4):539–550. DOI: 10.1007/s10238-015-0383-0

5. Yu B, Wang W. Cardioprotective effects of morroniside in rats following acute myocardial infarction. *Inflammation.* 2018 Mar;41(2):432–436. DOI: 10.1007/s10753-017-0699-x
6. Pessoa FG, Mady C, Fonseca KCB, et al. Erythropoietin reduces collagen deposition after myocardial infarction but does not improve cardiac function. *Can J Physiol Pharmacol.* 2018 Jun;96(6):541–549. DOI: 10.1139/cjpp-2017-0169
7. Shu L, Zhang W, Huang C, et al. Troxerutin protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via pi3k/akt pathway in rats. *Cell Physiol Biochem.* 2017;44(5):1939–1948. DOI: 10.1159/000485884
8. Rostamzadeh F, Najafipour H, Yeganeh-Hajahmadi M, Joukar S. Opioid receptors mediate inotropic and depressor effects of apelin in rats with 2K1C-induced chronic renovascular hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2018 Feb;45(2):187–197. DOI: 10.1111/1440-1681.12860
9. Tsorin IB, Palka IP, Chichkanov GG. Specific features of the effect of selective anxiolytic afobazole on cardiovascular system. *Exp. Clin.*

Pharmacol. 2009;72(5):41–45.

10. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr.* 2005;18(12):1440–1463. DOI: 10.1016/j.echo.2005.10.005

11. Fowler NO, Holmes JC. Hemodynamic effects of isoproterenol and norepinephrine in acute cardiac tamponade. *J Clin Invest.* 1969;48(3):

502–507. DOI: 10.1172/JCI106007

12. Fehske W, Grube E, Steinborn W, et al. Cardiac effects of isoproterenol in the complex echocardiographic evaluation. *Z Kardiol.* 1980;69(2):81–91.

13. Nigri A, Mangieri E, Martuscelli E, Reale A. Acute hemodynamic effects of acebutolol and propranolol. *Clin Ther.* 1984;6(5):693–698.

14. Kalischer AL, Johnson LL, Johnson YE, et al. Effects of propranolol and timolol on left ventricular volumes during exercise in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1984;3(1):210–218.