

К возможности выявления синдрома «коронарного обкрадывания» на мелких лабораторных животных

Цорин И. Б., Симоненко С. А., Вититнова М. Б., Крыжановский С. А.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Аннотация. Цель исследования. Изучение возможности применения метода лазерной доплеровской флоуметрии для оценки микроциркуляции крови и анализа механизмов её регуляции в условно-интактном и ишемизированном миокарде у мелких лабораторных животных (крысы) для идентификации синдрома «коронарного обкрадывания». **Материалы и методы.** Опыты проводили на белых беспородных наркотизированных (уретан 1300 мг/кг в/б) крысах-самцах массой 200–250 г. Через 28 суток после воспроизведения экспериментального инфаркта миокарда в условиях открытой грудной клетки и искусственной вентиляции лёгких методом лазерной доплеровской флоуметрии оценивали уровень микроциркуляции в условно-интактной и ишемизированной зонах миокарда. Используя спектральный вейвлет анализ, проводили определение нормированных к общей перфузии амплитуд осцилляций микрокровотока, связанных с различными механизмами регуляции. **Результаты.** Установлено, что показатель микроциркуляции значительно ниже в ишемизированной зоне миокарда по сравнению с условно-интактной ($17,3 \pm 2,8$ и $30,3 \pm 1,3$ пер. ед., соответственно, $p = 0,006$, $n = 8$). Спектральный вейвлет анализ показал, что в зоне ишемического повреждения, по сравнению с условно-интактным миокардом, амплитуды осцилляций микрокровотока, нормированные на общий уровень микроциркуляции, увеличиваются для всех механизмов регуляции. **Заключение.** Метод лазерной доплеровской флоуметрии может быть применён для оценки интенсивности микроциркуляции в условно-интактном и ишемизированном миокарде. Использование этого метода даёт возможность в опытах на мелких экспериментальных животных выявить синдром «коронарного обкрадывания».

Ключевые слова: инфаркт миокарда; микроциркуляция; лазерная доплеровская флоуметрия; спектральный вейвлет анализ; синдром «коронарного обкрадывания» у крыс

Для цитирования:

Цорин И. Б., Симоненко С. А., Вититнова М. Б., Крыжановский С. А. К возможности выявления синдрома «коронарного обкрадывания» на мелких лабораторных животных. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2021;(4):36–39. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-4-36-39>

Поступила: 01 декабря 2021 г. **Принята:** 15 декабря 2021 г. **Опубликована:** 30 декабря 2021 г.

To the possibility of detecting the "coronary theft" syndrome in small laboratory animals

Tsorin IB, Simonenko SA, Vititnova MB, Kryzhanovskii SA
FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russia

Abstract. *The purpose of the study.* There are investigation of the possibility of using the laser Doppler flowmetry method to assess blood microcirculation and analyze the mechanisms of its regulation in conditionally intact and ischemic myocardium in small laboratory animals (rats) to identify the "coronary theft" syndrome. *Materials and methods.* The experiments were carried out on white mongrel anesthetized (urethane 1300 mg/kg /b) male rats weighing 200-250 g. 28 days after the reproduction of an experimental myocardial infarction in an open chest and artificial lung ventilation, the microcirculation level was assessed in conditionally intact and ischemic areas of the myocardium by laser Doppler flowmetry. Using spectral wavelet analysis, the amplitudes of microcirculation oscillations normalized to the total perfusion associated with various regulation mechanisms were determined. *Results.* It was found that the microcirculation level is significantly lower in the ischemic zone of the myocardium compared with the conditionally intact one (17.3 ± 2.8 and 30.3 ± 1.3 per. units, respectively, $p = 0.006$, $n = 8$). Spectral wavelet analysis showed that in the ischemic injury zone, in comparison with the conditionally intact myocardium, the amplitudes of microcirculation oscillations normalized to the general level of microcirculation increase for all regulatory mechanisms. *Conclusion.* The laser Doppler flowmetry method can be used to assess the intensity of microcirculation in conditionally intact and ischemic myocardium. Using this method makes it possible to identify the "coronary theft" syndrome in experiments on small experimental animals.

Keywords: Myocardial infarction; microcirculation; laser Doppler flowmetry; spectral wavelet analysis; "coronary theft" syndrome in rats

For citations:

Tsorin IB, Simonenko SA, Vititnova MB, Kryzhanovskii SA. To the possibility of detecting the "coronary theft" syndrome in small laboratory animals. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2021;(4):36–39. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-4-36-39>

Received: December 01, 2021. **Accepted:** December 15, 2021. **Published:** December 30, 2021

Введение / Introduction

При изучении фармакологических средств, предлагаемых для лечения больных ишемической болезнью сердца, большое значение имеет изучение их влияния на кровоснабжение условно-интактного и ишемизированного миокарда, с целью определения наличия/отсутствия синдрома «коронарного обкрадывания» [1]. Ранее для этих целей использовали метод регистрации ретроградного кровотока в дистальном отрезке нисходящей ветви левой коронарной артерии с одновременной оценкой объёмной скорости кровотока в огибающей ветви левой коронарной артерии с помощью электромагнитного или ультразвукового

измерителя потока крови. Модификацией вышеупомянутого метода является оценка кровоснабжения различных зон миокарда по венозному оттоку, измеряемому с помощью ультразвукового измерителя потока крови. Однако эти эксперименты можно проводить только на крупных животных (собаки, свиньи и т. п.) [1–3]. Изучение кровотока в различных зонах миокарда также возможно с помощью метода меченных радиоактивными изотопами микросфер, излучающих гамма-лучи. Однако этот метод требует специально оборудованного блока для работы с радиоактивными изотопами. Кроме того, радиоактивные микросферы закупоривают мелкие сосуды, поэтому более четырёх изотопов, как правило, не применяют, следовательно

кровоток можно оценить только в 4 временных точках [4, 5]. Следует также отметить, что все вышеперечисленные методы не позволяют отдифференцировать нутритивный кровоток от потока по шунтам.

Всех этих недостатков лишён метод лазерной доплеровской флоуметрии, который позволяет оценить в локальной точке интенсивность микроциркуляции, измеренной в перфузионных единицах (перф. ед.). Проведённые этим методом исследования дают возможность с помощью спектрального вейвлет анализа определить абсолютные и нормированные к стандартному отклонению и общей перфузии амплитуды эндотелиальных (A_e), нейрогенных (A_n), миогенных (A_m), пульсовых (A_p) и дыхательных (A_d) осцилляций микрокровотока и показатель шунтирования (ПШ) [6–8].

Целью данного исследования явилось изучение возможности применения метода лазерной доплеровской флоуметрии для оценки микроциркуляции и анализа механизмов её регуляции в условно-интактном и ишемизированном миокарде мелких лабораторных животных (крыс) и выявления, таким образом, синдрома «коронарного обкрадывания».

Материалы и методы / Materials and methods

Животные. Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 200–250 г, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая». Животные содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» при контролируемом освещении (12 ч – свет/12 ч – темнота) и постоянной температуре (21–23 °С) со свободным доступом к воде и брикетированному корму в течение 10 суток до начала тестирования. Условия содержания животных соответствовали ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» (Переиздание) и ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (Переиздание). Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, установленными международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC), на основе стандартных операционных процедур, принятых в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова, а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утверждёнными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Экспериментальный протокол. Инфаркт миокарда воспроизводили по методу Selye [9]. Через 28 суток у наркотизированных животных (уретан 1300 мг/кг в/б) в условиях открытой грудной клетки и искусствен-

ного дыхания, проводимого с помощью аппарата искусственной вентиляции лёгких для грызунов (Ugo Basile, Италия), измеряли уровень микроциркуляции в условно-интактной и ишемизированной зонах миокарда. Эксперименты проводили на подогреваемом лабораторном столике ($t = 38$ °С) Surgi Suite, Kent Scientific Corporation, США. Температуру в лабораторной комнате поддерживали в пределах 24–25 °С.

Метод измерения микроциркуляции. Оценку микроциркуляции в миокарде проводили методом лазерной доплеровской флоуметрии с помощью компьютеризированного лазерного анализатора «ЛАКК-ОП2» (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 3.0.2.395. Световодные зонды фиксировали на поверхности левого желудочка сердца в условно-интактной и ишемизированной зонах. Длительность записи показателей микроциркуляции в каждой точке составляла 8 минут. При оценке микрокровотока рассчитывались показатель микроциркуляции (М) в перфузионных единицах (перф. ед.) и его коэффициент вариации (K_v). На втором этапе с помощью спектрального вейвлет анализа проводили определение абсолютных и нормированных к общей перфузии амплитуд эндотелиальных (A_e), нейрогенных (A_n), миогенных (A_m), пульсовых (A_p) и дыхательных (A_d) осцилляций микрокровотока и показателя шунтирования (ПШ). Такой подход даёт возможность судить о роли различных механизмов регуляции микрокровотока в изменениях кровоснабжения миокарда, вызываемых фармакологическими веществами [6–8].

Статистический анализ. Статистическую обработку результатов проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли по критерию Шапиро–Уилка. Так как результаты измерений микроциркуляции крови были распределены по нормальному закону, то для определения значимости различий использовали t -критерий Стьюдента для зависимых выборок. Полученные результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Распределение результатов частотного анализа механизмов регуляции микроциркуляции значительно отличалось от нормального, в связи с этим для их статистической обработки применяли непараметрический знаково-ранговый критерий Вилкоксона. Полученные результаты представляли в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

Анализ полученных результатов показал, что в зоне ишемического повреждения уровень микроциркуляции значительно ниже, чем в условно-интактном миокарде ($17,3 \pm 2,8$ и $30,3 \pm 1,3$ пер. ед., соответственно, $p = 0,006$, $n = 8$). Согласно данным,

Таблица

Амплитуды эндотелиальных, нейрогенных, миогенных, пульсовых и дыхательных осцилляций микрокровоотока, нормированные к общей перфузии ($n = 7$)

Table

Amplitudes of endothelial, neurogenic, myogenic, pulse and respiratory oscillations of microcirculation normalized to total perfusion ($n = 7$)

	A_e/M A_e/M	A_n/M A_n/M	A_m/M A_m/M	A_c/M A_c/M	A_r/M A_r/M	ППШ ISh
Условно-интактная зона / Conditionally intact zone	0,74 0,38–0,79	0,54 0,41–0,60	0,54 0,52–1,20	4,61 3,06–10,36	1,29 0,70–1,45	–
Зона повреждения / Damage zone	2,51 0,98–4,74	2,60 0,78–4,62	3,45 1,35–8,53	22,18 20,97–40,01	6,61 1,61–10,99	0,64 0,50–0,74
<i>P</i> различий между условно-интактным и повреждённым миокардом / <i>P</i> differences between conditionally intact and damaged myocardium	0,018	0,028	0,028	0,028	0,028	0,173

Примечание: показаны медианы, нижний и верхний квартили.
Note: the medians and the lower, upper quartiles are shown.

полученным при проведении спектрального вейвлет анализа, в зоне ишемического повреждения, по сравнению с условно-интактным миокардом, амплитуды осцилляций микрокровоотока различного происхождения, нормированные на общий уровень микроциркуляции, увеличиваются для всех оцененных механизмов регуляции в 3–5 раз, возрастает также и межквартильный размах этих показателей. Увеличение нормированных амплитуд эндотелиальных осцилляций (A_e/M) указывает на усиление метаболической активности эндотелия и рост уровня секреции оксида азота, что приводит к расширению сосудов. Увеличение амплитуд нейрогенных осцилляций (A_n/M) свидетельствует об активацию регуляторных симпатических влияний на артериолярный тонус. Рост нормированных амплитуд миогенных осцилляций (A_m/M) связан с усилением активности прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метаартериол. Рост амплитуд дыхательных (A_d/M) и пульсовых (A_c/M) ритмов указывает на усиление модуляций венозного микрокровоотока и рост перфузионного давления в микрососудах, соответственно [6–8]. Таким образом, можно полагать, что в условиях ишемического по-

ражения «усиливается» напряжённость механизмов регуляции микроциркуляции и наблюдается их «разбалансировка». В то же время показатель шунтирования не меняется (таблица). Эти данные указывают на то, что доля нутритивного микрокровоотока в зоне поражения практически не меняется [6–8].

Таким образом, метод лазерной доплеровской флоуметрии с помощью компьютеризированного лазерного анализатора «ЛАКК-ОП2» с использованием программы LDF 3.0.2.395 может быть применён для оценки интенсивности микроциркуляции в условно-интактном и ишемизированном миокарде, а также для анализа изменений активности различных механизмов регуляции. Так как с помощью лазерной доплеровской флоуметрии можно одновременно выявить уменьшение кровоснабжения зоны ишемии и оценить изменения кровотока в условно-интактном миокарде в условиях действия фармакологических веществ, то использование этого метода даёт возможность в опытах на мелких экспериментальных животных выявить синдром «коронарного обкрадывания» у изучаемых веществ.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Цорин Иосиф Борисович

Автор, ответственный за переписку

e-mail: tsorin@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>

SPIN-код: 4015-3025

д. б. н., в. н. с. лаборатории

фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Tsorin Iosif B.

Corresponding author

e-mail: tsorin@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>

SPIN code: 4015-3025

Dr. Sci. Biological, Leading researcher of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Симоненко София Алексеевна

e-mail: irvik98@gmail.com

лаборант-исследователь лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Simonenko Sophia A.

e-mail: irvik98@gmail.com

Laboratory assistant of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Вититнова Марина Борисовна

e-mail: MB-Vit@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7516>

SPIN-код: 1901-8919

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Vititnova Marina B.

e-mail: MB-Vit@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7516>

SPIN code: 1901-8919

PhD Biological Sci., Senior researcher scientist of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Крыжановский Сергей Александрович

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>

SPIN-код: 6596-4865

д. м. н., зав. лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Kryzhanovskiy Sergey A.

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>

SPIN code: 6596-4865

Dr. Sci. (Med.), Head of laboratory of pharmacological screening FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Список литературы / References

1. Чичканов Г.Г., Цорин И.Б. Методические рекомендации по изучению противоишемического (антиангинального) действия лекарственных средств. // В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1. – М.: Гриф и К; – 2013. – С. 417–433. [Chichkanov GG, Tsorin IB. Methodological recommendations for the study of anti-ischemic (antianginal) effects of drugs. In the book: Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. Moscow: Grif and K; 2013. (In Russ).].

2. Толмачева Е.А. Новый антиаритмический препарат боннекор: некоторые аспекты фармакодинамики и фармакокинетики. – Дисс. Канд. Мед. Наук. – М.; 1988. [Tolmacheva EA. New antiarrhythmic drug bonneskor: some aspects of pharmacodynamics and pharmacokinetics. [dissertation] Moscow; 1988. (In Russ).].

3. Stavrakis S, Terrovitis J, Tsolakis E, Drakos S, Dalianis A, Bonios M, Koudoumas D, Malliaras K, Nanas J. Relationship between retrograde coronary blood flow and the extent of no-reflow and infarct size in a porcine ischemia-reperfusion model. *J Cardiovasc Transl Res.* 2011;4(1):99–105. DOI: 10.1007/s12265-010-9240-4.

4. Miura T, Downey JM. Critical collateral bloodflow level for salvage of ischemic myocardium. *Can J Cardiol.* 1989;5(4):201–205.

5. Arellano R, Jiang MT, O'Brien W, Hossain I, Boylen P, Demajo W, Cheng DC. Acute graded hypercapnia increases collateral coronary blood

flow in a swine model of chronic coronary artery obstruction. *Crit Care Med.* 1999;27(12):2729–2734. DOI: 10.1097/00003246-199912000-00021.

6. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем, Колебания, информация, нелинейность. – М.; Книжный дом «Либроком»: 2014; 498 с. [Krupatkin AI, Sidorov VV. Functional diagnostics of the state of microcirculatory-tissue systems, Vibrations, information, nonlinearity. Moscow; Book house "Librocom": 2014. (In Russ).].

7. Сидоров В.В., Рыбаков Ю.Л., Гукасов В.М. Диагностический подход для оценки состояния микроциркуляторно-тканевой системы с использованием лазерных технологий и температурной функциональной пробы. *Иноватика и экспертиза.* 2018;1(22):135–142. [Sidorov VV, Rybakov YL, Gukasov VM. Diagnostic approach for estimation of the state of microcirculator-tissue system using laser technologies and temperature functional sample. *Innovation and expertise.* 2018;1(22):135–142. (In Russ).].

8. Раваева М.Ю., Чуюн Е.Н., Бирюкова Е.А., Аблаева Р.Н., Файчук С.Н. Показатели микроциркуляции крыс, находящихся в условиях комбинированного действия хронического и острого стресса. *Орбиталь.* 2018;2(3):23–29. [Ravaeva MYu, Chuyan EN, Birukova EA, Ablava RN, Faichuk SN. Parameters of rats microcirculation under chronic and acute stress combined action. *Orbital.* 2018;2(3):23–29. (In Russ).].

9. Selye AI, Bajuz E, Crasso S, Nendell P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology.* 1960;11:398–407. DOI: 10.1177/000331976001100505.