

Сравнительная оценка эхокардиографических и морфометрических характеристик левого желудочка сердца крыс

Ионова Е. О., Мирошкина И. А., Сорокина А. В., Крыжановский С. А.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Аннотация. Цель исследования. Сравнительная оценка эхокардиографических и морфометрических размеров левого желудочка сердца крыс. *Материалы и методы.* В исследование было включено 10 беспородных крыс-самцов массой 160–180 г. Размеры левого желудочка сердца оценивали при помощи эхокардиографии и морфометрии. Измерения проводили согласно стандартным протоколам. Для проведения морфометрических измерений сердца останавливали в систолу летальной дозой (1,0 мг/кг) 0,025 % раствора строфантина К, а в диастолу — погружением сердец в охлажденный физиологический раствор (бескальциевая среда). *Результаты.* Показано, что систолический размер левого желудочка сердца, согласно данным эхокардиографии, равняется $1,79 \pm 0,10$ мм, а морфометрии — $1,64 \pm 0,09$ мм ($p = 0,302$); диастолический размер левого желудочка, соответственно, $3,42 \pm 0,16$ мм и $3,66 \pm 0,17$ мм ($p = 0,318$). Выявленные расхождения не превышают 10 % и, по всей видимости, связаны с тем, что неинвазивным эхокардиографическим методом измеряются физиологические размеры левого желудочка сердца, а для морфометрических измерений размеров в систолу сердца останавливали инъекцией строфантина К, что влечёт за собой перегрузку клеток сердца ионами Ca^{2+} и вследствие этого контрактуру кардиомиоцитов; посмертная остановка сердца в диастолу, в бескальциевой среде, сопровождается потерей тонуса сердечной мышцы и, следовательно, дилатация левого желудочка будет, естественно, больше, чем физиологическая. *Заключение.* Неинвазивное эхокардиографическое измерение размеров левого желудочка сердца достаточно в полной мере отражает фактические размеры левого желудочка сердца крысы (расхождение не превышает 10 %), т. е. эхокардиографические измерения валидны.

Ключевые слова: эхокардиография; морфометрия; систолический размер левого желудочка сердца; диастолический размер левого желудочка сердца; валидность

Для цитирования:

Ионова Е. О., Мирошкина И. А., Сорокина А. В., Крыжановский С. А. Сравнительная оценка эхокардиографических и морфометрических характеристик левого желудочка сердца крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2023;(1):41–44. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-1-41-44>

Поступила: 21 февраля 2023 г. Принята: 25 февраля 2023 г. Опубликована: 24 марта 2023 г.

Comparative evaluation of echocardiographic and morphometric characteristics of the rat heart left ventricle

Ionova EO, Miroshkina IA, Sorokina AV, Kryzhanovskii SA

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russian Federation

Abstract. *Purpose of the study.* Comparative evaluation of echocardiographic and morphometric dimensions of the rat heart left ventricle. *Materials and methods.* The study included 10 outbred male rats weighing 160–180 g. The size of the heart left ventricle was assessed using echocardiography and morphometry. The measurements were carried out according to standard protocols. To perform morphometric measurements, hearts were stopped in systole with a lethal dose (1.0 mg/kg) of 0.025 % strophanthin K solution, and in diastole, by immersing the hearts in a chilled physiological solution (calcium-free medium). *Results.* It was shown that the systolic size of the left ventricle of the heart according to echocardiography is 1.79 ± 0.10 mm, and morphometry 1.64 ± 0.09 mm ($p = 0,302$); diastolic size of the left ventricle, respectively, 3.42 ± 0.16 mm and 3.66 ± 0.17 mm ($p = 0,318$). The detected discrepancies do not exceed 10 % and, apparently, are due to the fact that the physiological dimensions of the heart left ventricle are measured by a non-invasive echocardiographic method, and for morphometric measurements of the dimensions in the systole, the heart was stopped by injection of strophanthin K, which entails an overload of heart cells with Ca^{2+} ions and as a result, contracture of cardiomyocytes; post-mortem cardiac arrest in diastole, in a calcium-free environment, is accompanied by a loss of cardiac muscle tone and, therefore, dilatation of the left ventricle will naturally be greater than physiological. *Conclusion.* Non-invasive echocardiographic measurement of the size of the heart left ventricle fully reflects the actual size of the left ventricle of the rat heart (the difference does not exceed 10 %), i. e. echocardiographic measurements are valid.

Keywords: echocardiography; morphometry; systolic size of the left ventricle of the heart; diastolic size of the left ventricle of the heart; validity

For citations:

Ionova EO, Miroshkina IA, Sorokina AV, Kryzhanovskii SA. Comparative evaluation of echocardiographic and morphometric characteristics of the rat heart left ventricle. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2023;(1):41–44. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-1-41-44>

Received: February 21, 2023. Accepted: February 25, 2023. Published: March 24, 2023.

Введение / Introduction

В настоящее время эхокардиография на мелких животных достаточно широко используется для изучения особенностей ремоделирования сердца при различных патологических процессах [1–3] и/или возможности коррекции выявленных нарушений при помощи фармакологических агентов [4–6]. Анализ литературы свидетельствует о том, что в большинстве публикаций фракция выброса (ФВ), характеризующая инотропную функцию левого желудочка сердца,

колеблется в среднем в пределах 75–80–90 % [7–9]. Согласно результатам собственных экспериментов, у беспородных крыс ФВ варьирует в этих же пределах [10, 11]. Иная картина наблюдается в отношении эхокардиографических показателей, отражающих размеры левого желудочка сердца — конечно-систолического (КСР) и конечно-диастолического (КДР) размеров. Так, например, КДР колеблется в среднем в пределах от 2,5 мм до 7,0 мм [9, 12]. Не исключено, что эти различия связаны или с возрастом животных [12], и/или наркозом, под которым производится

эхокардиографическое исследование [13]. В наших исследованиях среднее значение КДР составляет $\approx 3,5$ мм [10, 11]. Вместе с тем, поскольку эхокардиографические исследования используются для оценки степени ремоделирования левого желудочка сердца, представляется несомненно важным понимать, насколько неинвазивный метод измерения позволяет получить объективную информацию о фактических размерах левого желудочка.

Цель настоящего исследования — сравнительная оценка эхокардиографических и морфометрических размеров левого желудочка сердца крыс.

Материалы и методы / Materials and methods

Животные. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 160–180 г, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая». Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». 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. В исследование было включено 10 животных. На первом этапе всем животным, находящимся под «рауш»-наркозом (кетамин 100 мг/кг, в/б) проводили стандартное эхокардиографическое исследование. На следующий день крыс рандомизировали на две группы по 5 особей в каждой. Животным 1-й группы, для остановки сердца в систолу, в/в вводили летальную дозу строфантина К (1,0 мг/кг), а животных 2-й группы декапитировали, сердца извлекали и для их остановки в диастолу помещали в охлажденный физиологический раствор (бескальциевая среда).

Эхокардиографическое исследование. Крыс анестезировали и фиксировали на операционном подогреваемом столике Surgi Suite (Kent Scientific Corporation, США) в положении на спине. Измерения производили в условиях закрытой грудной клетки и спонтанного дыхания в одномерном М-

двухмерном В-модальных режимах при положении датчика эхокардиографа в парастернальной позиции по длинной оси сердца. В М-модальном режиме оценивали КСР и КДР размеры левого желудочка сердца. Затем по методу Teichholz рассчитывали показатель сократительной функции сердца — ФВ. Оценку эхокардиографических показателей проводили, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. Все измерения выполняли в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии [14]. В работе использовали цифровой ультразвуковой эхокардиограф Mindray DC-60 (Китай) с электронным фазированным датчиком P10-4E (5,0/11,0 МГц).

Морфометрическое исследование. Извлечённые из грудной клетки сердца фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина (готовый раствор производства ООО «Биовитрум»). Сердца после окончания фиксации и стандартной проводки (автоматизированный тканевой процессор Leica TP1020, Германия) заливали в парафиновые блоки (система заливки тканей с графическим дисплеем Tissue-Tek®ТЕК™, США). Готовили гистологические срезы сердец (толщиной 5 мкм) с помощью микротомы ротационного Accu-Cut®SPM™, США. Морфометрические измерения производили на поперечном срединном срезе сердца. Препараты фотографировали цифровой зеркальной камерой Canon EOD 1000 с использованием макрообъектива. Фотографии сердец сохраняли в формате jpeg и анализировали с помощью программы Adobe Photoshop CS5.

Статистика. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Так как выборки имели распределение близкое к нормальному, то статистическую значимость различий проверяли с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок. Полученные результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Препараты. Кетамин (субстанция), ЗАО «Акрихин», Россия; Строфантин К (0,025 % раствор), ООО «ОЗ ГНЦЛС», Украина; физиологический раствор, ООО «Мосфарм» Россия.

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

Как следует из полученных данных, у всех животных, включённых в эксперимент, ФВ колеблется в пределах 82,3–87,0 %, т. е. соответствует референтным значениям.

У животных 1-й группы, согласно данным эхокардиографии, средняя величина КСР составляет $1,79 \pm 0,10$ мм, а по данным морфометрии максимальный диаметр полости левого желудочка у крыс, у которых сердце было остановлено инъекцией строфантина К в систолу, равняется $1,64 \pm 0,09$ мм. Различия между

показателями, характеризующими размер ЛЖ, при оценке с помощью эхокардиографии и морфометрии, незначительны и статистически не значимы ($p = 0,302$). Максимальные различия зафиксированы у крысы № 3: КСР — 2,00 мм, морфометрия — 1,83 мм; минимальные у крысы № 1: КСР — 1,62 мм, морфометрия — 1,49 мм. Можно полагать, что выявленные различия обусловлены тем, что при эхокардиографическом исследовании оценивается КСР при физиологическом сокращении сердца, тогда как при остановке сердца в систолу, вызванной летальной дозой строфантина К, сокращение миокарда обусловлено перегрузкой клеток сердца ионами Ca^{2+} с последующей контрактурой кардиомиоцитов.

У животных 2-й группы, согласно данным эхокардиографии, средняя величина КДР равна $3,42 \pm 0,16$ мм, а по данным морфометрии максимальный диаметр полости левого желудочка у крыс, у которых сердце было остановлено в диастолу в охлажденном физиологическом растворе (бескальцевая среда), — $3,66 \pm 0,17$ мм. Максимальные различия зафиксированы

у крысы № 10: КДР — 3,62 мм, а морфометрия — 4,02 мм; минимальные у крысы № 6: КДР — 3,23 мм, а морфометрия — 3,39 мм. Так же как и в случае оценки систолического размера сердца, различия между эхокардиографическим и морфометрическим измерениями диастолического размера статистически не значимы ($p = 0,318$). По всей видимости, зафиксированные различия не связаны с ошибкой измерения, а обусловлены тем, что посмертная дилатация миокарда вследствие потери тонуса сердечной мышцы, естественно, больше, чем физиологическая.

Заклучение / Conclusions

Таким образом, можно говорить о том, что проводимое нами неинвазивное эхокардиографическое измерение размеров левого желудочка сердца в достаточной мере отражает фактические размеры левого желудочка сердца крысы (расхождение не превышает 10 %), т. е. наши измерения валидны.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Ионова Екатерина Олеговна

e-mail: mrakusha26@rambler.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0154-722X>

SPIN-код: 5042-1952

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

Ionova Ekaterina O.

e-mail: mrakusha26@rambler.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0154-722X>

SPIN code: 5042-1952

Junior Research Scientist of Laboratory of Pharmacological Screening FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Мирошкина Ирина Александровна

e-mail: iris10.81@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>

SPIN-код: 4697-7938

н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Miroshkina Irina A.

e-mail: iris10.81@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>

SPIN code: 4697-7938

Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Сорокина Александра Валериановна

e-mail: alex-mike5475@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9600-7244>

к. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Sorokina Alexandra V.

e-mail: alex-mike5475@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9600-7244>

PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Крыжановский Сергей Александрович
Автор, ответственный за переписку

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, Российская Федерация

Kryzhanovskii Sergey A.

Corresponding author

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, Russian Federation

Список литературы / References

1. Guo K, Wu J, Kong Y, et al. Label-free and noninvasive method for assessing the metabolic status in type 2 diabetic rats with myocardium diastolic dysfunction. *Biomed Opt Express*. 2020 Dec 17;12(1):480–493. DOI: 10.1364/BOE.413347.

2. Ling Y, Ma J, Qi X, et al. Novel rat model of multiple mitochondrial dysfunction syndromes (MMDS) complicated with cardiomyopathy. *Animal Model Exp Med*. 2021 Dec 6;4(4):381–390. DOI: 10.1002/ame2.12193.

3. Fan ML, Tong HQ, Sun T, et al. Animal model of coronary microembolization under transthoracic echocardiographic guidance in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021 Sep 3;568:174–179. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.05.045.

4. He A, Qian L, Yan S, et al. Speckle Tracking Echocardiography Verified the Efficacy of Qianyangyuyin Granules in Alleviating Left Ventricular Remodeling in a Hypertensive Rat Model. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021 Aug 24;2021:5862361. DOI: 10.1155/2021/5862361.

5. Chen Q, Zeng Y, Yang X, et al. Resveratrol ameliorates myocardial fibrosis by regulating Sirt1/Smad3 deacetylation pathway in rat model with dilated cardiomyopathy. *BMC Cardiovasc Disord*. 2022 Jan 26;22(1):17. DOI: 10.1186/s12872-021-02401-y.

6. Freiwanz M, Kovács MG, Kovács ZZA, et al. Investigation of the Antiremodeling Effects of Losartan, Mirabegron and Their Combination on the Development of Doxorubicin-Induced Chronic Cardiotoxicity in a Rat Model. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 16;23(4):2201. DOI: 10.3390/ijms23042201.

7. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LA, et al. Echocardiographic detection of congestive heart failure in postinfarction rats. *J Appl Physiol* (1985). 2011 Aug;111(2):543–551. DOI: 10.1152/jappphysiol.01154.2010.

8. Di Petta A, Simas R, Ferreira CL, et al. Effects of the association of diabetes and pulmonary emphysema on cardiac structure and function in rats. *Int J Exp Pathol*. 2015 Oct;96(5):350–357. DOI: 10.1111/iep.12146.

9. Ortiz VD, Türck P, Teixeira R, et al. Carvedilol and thyroid hormones co-administration mitigates oxidative stress and improves cardiac function after acute myocardial infarction. *Eur J Pharmacol*. 2019 Jul 5;854:159–166. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.04.024.

10. Ионова Е.О., Барчукова Е.И., Вититнова М.Б., Цорин И.Б., Крыжановский С.А. Сравнительная оценка эхокардиографических характеристик левого желудочка сердца у самок и самцов крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2021;(1):14–17. [Ionova EO, Barchukova EI, Vititnova MB, Tsorin IB, Kryzhanovskii SA. Comparative evaluation of echocardiographic characteristics of the heart left ventricle in female and male rats. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2021;(1):14–17. (In Russ).]. DOI: 10.37489/2587-7836-2021-1-14-17.

11. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Столярчук В.Н., и др. Хроническая сердечная недостаточность: Трансляционная модель. *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* 2019;167(5):655–660. [Kryzhanovskii SA, Tsorin IB, Stolyaruk VN, et al. Chronic Heart Failure: Translational Model. *Bull Exp Biol Med*. 2019;167(5):706–710. (In Russ).]. DOI: 10.1007/s10517-019-04604-y.

12. Hayward R, Lien CY. Echocardiographic evaluation of cardiac structure and function during exercise training in the developing Sprague-Dawley rat. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2011 Jul;50(4):454–461.

13. Stein AB, Tiwari S, Thomas P, et al. Effects of anesthesia on echocardiographic assessment of left ventricular structure and function in rats. *Basic Res Cardiol*. 2007 Jan;102(1):28–41. DOI: 10.1007/s00395-006-0627-y.