

© Коллектив авторов, 2014  
УДК 616.13 – 004.6

## ВАРИАНТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ВЕНОЗНОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

*Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников, А.Н. Новиков*

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

**На основании данных научной литературы, посвященных моделированию венозной патологии в экспериментах на животных, сделано заключение, что в настоящее время имеется большое число экспериментальных моделей венозной эндотелиальной дисфункции. Экспериментальные модели венозного тромбоза и L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции являются наиболее простыми и воспроизводимыми.**

**Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, оксид азота (II), тромбоз, L-NAME.

В настоящее время среди вероятных причин сердечно – сосудистых заболеваний всё большее количество сторонников получает теория эндотелиальной дисфункции (ЭД). Причём, «на заре» развития данной теории речь шла только об артериальной патологии, однако, в последние годы, значение функционального состояния эндотелия рассматривается и при венозной патологии. Ряд авторов отмечает увеличение частоты венозных тромбозов у лиц с атеросклеротическим поражением артериального русла, как проявление системных молекулярных сдвигов при нарушении функционального состояния эндотелия [13]. Таким образом, в связи с переосмыслением взглядов на этиопатогенез заболеваний венозной системы, возросла и необходимость воспроизведения венозной эндотелиальной дисфункции в эксперименте.

Среди большого массива литературных данных об экспериментальном воспроизведении эндотелиальной дисфункции нами не выявлено «чистой» модели венозной эндотелиальной дисфункции. Однако, обнаружено множество моделей эндотелиальной дисфункции с потенциальными

возможностями применения для воспроизведения дисфункции венозного эндотелия.

Существует два возможных варианта воспроизведения дисфункции эндотелия венозной стенки в эксперименте: моделирование венозной патологии как таковой, либо воспроизведение системной ЭД, которая в равной степени возникает как в артериальном, так и в венозном русле.

Описаны различные способы получения экспериментальных тромбов у животных. Большинство из них основывается на использовании ведущих факторов, способствующих тромбообразованию (нарушения структуры сосудистой стенки, скорости кровотока, активации компонентов свертывающей системы крови и депрессий противосвертывающих механизмов и т.д.) Важность сочетания этих факторов тромбообразования была доказана многими авторами. Простое лигирование сосуда не вызывает развития тромбоза. Однако наличие гематомы в окружности выключенного участка сосуда обуславливает образование тромба [1].

В настоящее время все способы получения экспериментального тромбоза можно подразделить на:

1. Механические (перевязка, уколы, поколачивание стенки сосуда и введение инородного тела);

2. Химические и биохимические (введение в сосудистое русло 1,5% раствора хлористого железа, раствора Люголя, концентрированных солевых растворов, эфира, хлорэтила, хлороформа, скипидара, 30% раствора салициловокислого натрия, ряда токсинов);

3. Биофизические (применение постоянного электрического тока различного напряжения);

4. Иммунологические (введение в полость кровеносного сосуда сенсibilизированного организма разрешающей дозы сывороток различных видов) [1].

Существенным недостатком такого типа моделирования венозной дисфункции эндотелия можно назвать нарушение истинной хронологии развития сосудистой патологии, т.е. вначале возникает органическое нарушение, а уже затем изменяется содержание продуктов синтеза эндотелия, что противоречит теории эндотелиальной дисфункции, однако, позволяет изучить содержание все тех же метаболитов уже при развернутой клинической картине венозного тромбоза и, соответственно, посттромботического синдрома.

В литературе дается описание множества методик воспроизведения венозного тромбоза и посттромботического синдрома в эксперименте.

J. Zhou и соавторы осуществляли перевязку нижней полой вены на время от 15 до 60 минут с последующим изучением массы полученных тромбов. Иммуногистохимический анализ показал экспрессию тканевого фактора эндотелиальными клетками и лейкоцитами [28].

P. Pottier и соавторы создали модель, в которой венозный стаз может быть откалиброван путем изменения степени стеноза нижней полой вены в условиях предварительного тромботического состояния за счет частичной перевязки нижней полой вены [17].

Y. Saito и соавторы использовали модель фотодинамического венозного тромбоза под действием зеленого аргонового лазера [19].

F. Doutremepuich и соавторы для формирования венозного тромбоза после предварительного повреждения эндотелия лазером вводили фибриноген в различных дозах, при этом отмечена прямая корреляционная связь между повышением концентрации фибриногена в плазме крови и риском тромбоэмболических осложнений [4].

K. Uegersböck и соавторы применяли медленную инфузию суспензии каолин-кефалин в саггитальный синус крыс, после предварительной передней и задней его перевязки [23].

I. Reyers и соавторы перевязывали нижнюю полую вену хлопковой нитью дистальнее левой почечной вены. Через 2 часа дистальный участок нижней полой вены иссекали с последующим измерением массы полученного тромба [18].

J. Millet и соавторы сочетали солевые промывки вен с последующей их перевязкой. Было доказано, что воздействие гипертонического солевого раствора индуцирует дискретные эндотелиальные повреждения [12].

M. Nagai и соавторы использовали в своих экспериментах методики с применением  $FeCl_3$  и фотоактивацией флюоресцеина [15].

P. Gorman и соавторы воспроизводили тромбозы кожных сосудов у крыс путем создания ожога с поражением на всю толщину на спине с помощью латунного бруска [5].

J. Herbert и соавторы вызывали венозный тромбоз перевязкой нижней полой вены у крыс с предварительным внутривенным введением тканевого тромбoplastина [8].

С.В. Андреев и соавторы в 1968 г. описали электролитический метод получения стандартных венозных тромбов с целью изучения различных тромболитических веществ [1].

И.В. Кузнецова и соавторы пришли к выводу, что самым простым, самым воспроизводимым и наименее травматичным является метод S. Wessler и соавторов: сочетание венозного застоя (лигирования вены) и гиперкоагуляции, за счет

активирования свертывания (например, применения тромбина) [2, 25].

Модели системной ЭД, безусловно, в подавляющем большинстве случаев используются с целью воспроизведения артериальной патологии, однако, с успехом могут применяться и для моделирования дисфункции эндотелия вен.

H. Walker и соавторы в 2001 г. описали ЭД на фоне дефицита эстрогенов, вследствие двусторонней овариэктомии у крыс [24].

M. Paganelli и соавторы описали модель никотин-индуцированной ЭД у крыс на фоне введения никотина в течение 4 недель в дозе 2 мг/кг/сут [16].

J. Young и соавторы в 1991 г. и P. Myers и соавторы в 1995 г. описали ЭД на фоне эндотоксинемии: лабораторным крысам однократно внутривенно вводился эндотоксин E. Coli в дозе 15 мг/кг массы [14, 27].

Y. Kumagi и J. Pi описали модель ЭД на фоне применения для водопоя животных водных растворов солей мышьяка с концентрацией 5 мг/л в течение 18 недель [10].

P. Witting и соавторы в 2005 г. описали модель дисфункции эндотелия у кроликов путем однократного энтерального введения водного раствора, содержащего 400 мкмоль хлорноватистой кислоты, в течение 2 часов [26].

G. Chen и соавторы в 2006 г. получили ЭД на фоне гиперурикемии энтеральным введением крысам экстракта дрожжей в дозе 20-30 мг/кг/сут в течение 7 суток [3].

K. Henderson и соавторы в 2004 г. в качестве модели ЭД дисфункции применили у свиней гиперхолестериновую диету, включавшую 2% холестерина, 17,1% кокосового масла, 20,3% кукурузного масла и 0,7% холата натрия [7].

A. Zulli и соавторы в 2003 г. воспроизводили ту же модель у кроликов с применением 1% метионина и 0,5% холестерина [29].

Модель гипергомоцистеинемии как ЭД воспроизводилась D. Shah и M. Singh в 2006 г. у крыс на фоне энтерального введения L-метионина в течение 4 недель. Те же авторы воспроизвели в 2006 г. мо-

дель ЭД при сахарном диабете, путем применения у крыс стрептозоцина дозе 55 мг/кг однократно [21, 22].

Так же хорошо зарекомендовала себя модель ЭД на фоне гипертензии. L. Share и соавторы в 1982 г. воспроизвели вазоренальную гипертензию путем одного и двустороннего клипирования почечных артерий у крыс [20].

B. Gout и соавторы в 1999 г. воспроизводили гипертензию путем однократного введения крысам монокротанина в дозе 40 мг/кг или 100 мг/кг [6].

Особое место среди моделей ЭД занимает L-NAME – индуцированная ЭД, обуславливающая ингибирование eNOS – ключевого фермента в синтезе NO. Именно данная модель позволяет воспроизвести ЭД in vivo в чистом виде, т.е. без затрагивания других систем организма лабораторного животного. При постановке данной модели L-NAME вводится внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 суток [9, 11].

В отличие от экспериментальных моделей первой группы к недостаткам данной группы моделей относится отсутствие воспроизведения изучаемого заболевания как такового. Таким образом, проецируя данные модели на венозную патологию, функциональные нарушения в воспроизведенных моделях системной ЭД с малой долей вероятности достигнут органических изменений с последующим тромбозом, хотя именно это интересует нас как клиницистов.

Обобщая обзор перечисленных экспериментальных моделей эндотелиальной дисфункции напрашивается вывод, что для детального и подробного изучения, системного понимания роли дисфункции эндотелия в развитии заболеваний венозной системы в эксперименте необходимо использовать модели обеих групп, особенно, когда речь идет о ее медикаментозной коррекции.

#### Литература

1. Моделирование заболеваний / под ред. С.В. Андреева. – М.: Медицина, 1973. – 336 с.
2. Экспериментальные модели венозного тромбоза и возможность применения

- клеточных технологий для коррекции тромботических состояний / И.В. Кузнецова [и др.] // Флебология. – 2012. – №1. – С. 43-47.
3. Chen G.L. Effect and mechanism of total saponin of dioscorea on animal experimental hyperuricemia / G.L. Chen, W. Wei, S.Y. Xu // *Am. J. Chin. Med.* – 2006. – Vol. 34. – P. 75-83.
  4. Fibrinogen as a factor of thrombosis: experimental study / F. Doutremepuich [et al.] // *Am. J. Chin. Med.* – 1998. – Vol. 90, № 2. – P. 57-64.
  5. Effects of topical nitroglycerin and flurbiprofen in the rat comb burn model / P.J. Gorman [et al.] // *Ann. Plast. Surg.* – 1999. – Vol. 42, № 5. – P. 529-532.
  6. Impaired endothelium-dependent relaxation by adrenomedullin in monocrotaline-treated rat arteries / B. Gout [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 380. – P. 23-30.
  7. Endothelial function in coronary arterioles from pigs with early-stage coronary disease induced by high fat, high-cholesterol-diet: effect of exercise / K.K. Henderson [et al.] // *J. Applied Physiol.* – 2004. – Vol. 97. – P. 1159-1168.
  8. Herbert J.M. Importance of platelets in experimental venous thrombosis in the rat / J.M. Herbert, A. Bernat, J.P. Maffron // *Blood.* – 1992. – Vol. 80, № 9. – P. 2281-2286.
  9. The effect of taurolidine on experimental thrombus formation / L. Kapronoglu [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 578, № 2-3. – P. 238-241.
  10. Kumagi Y. Molecular basis for arsenic induced alteration in nitric oxide production and oxidative stress. Implication of endothelial dysfunction / Y. Kumagi, J. Pi // *Toxicol. Applied Pharmacol.* – 2004. – Vol. 198. – P. 450-457.
  11. L-NAME hypertension alters endothelial and smooth muscle function in rat aorta / C.F. Kung [et al.] // *Hypertension.* – 1995. – Vol. 26. – P. 744-750.
  12. Millet J. A new experimental model of venous thrombosis in rats involving partial stasis and slight endothelium alterations / J. Millet, J. Theveniaux, M. Pascala // *Thrombosis Res.* – 1987. – Vol. 45, Iss. 2. – P. 123-133.
  13. Association of peripheral venous disease with arterial endothelial dysfunction: a proof-of-concept study / L. Moro [et al.] // *Phlebology.* – 2013. – Vol. 28, № 7. – P. 366-368.
  14. Release of EDRF and NO in ex vivo perfused aorta: inhibition by in vivo E. coli endotoxemia / P.R. Myers [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1995. – Vol. 268. – P. 955-961.
  15. Role of coagulation factors in cerebral venous sinus and cerebral microvascular thrombosis / M. Nagai [et al.] // *Neurosurgery.* – 2010. – Vol. 66, № 3. – P. 560-565.
  16. Acute administration of nicotine impairs the hypotensive responses to bradykinin in rats / M.O. Paganelli [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 413. – P. 241-246.
  17. Development of an experimental model of prethrombosis in rats based on Wessler's principle using a calibrated venous stasis / P. Pottier [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2003. – Vol. 14, № 1. – P. 3-9.
  18. Reyers I. Venostatis-induced thrombosis in rats is not influenced by circulating platelet or leukocyte number / I. Reyers, G. de Gaetono, M.B. Donati // *Agents Actions.* – 1989. – Vol. 28, № 1-2. – P. 137-141.
  19. Experimental preretinal neovascularization by laser-induced venous thrombosis in rats / Y. Saito [et al.] // *Curr. Eye Res.* – 1997. – Vol. 16, № 1. – P. 26-33.
  20. One clip, one-kidney hypertension in rats with hereditary hypothalamic diabetes incipidus / L. Share [et al.] // *Clin. Exp. Hypertens.* – 1982. – Vol. 4. – P. 1261-1270.
  21. Shah D.I. Effect of bis-maltolato-oxovanadium on experimental vascular endothelial dysfunction / D.I. Shah, M. Singh // *Naun. Schmied. Arch. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 373. – P. 221-226.
  22. Shah D.I. Possible role of Akt to improve vascular endothelial dysfunction in diabetic and hyperhomocysteinemic rats /

- D.I. Shah, M. Singh // *Mol. Cell. Biochem.* – 2007. – Vol. 295, № 1-2. – P. 65-74.
23. Ungersböck K. Cerebral blood flow alterations in a rat model of cerebral sinus thrombosis / K. Ungersböck, A. Heimonn, O. Kempfski // *Stroke.* – 1993. – Vol. 24, № 4. – P. 563-569.
24. The phytoestrogen genistein produces acute nitric oxide dependent dilatation of human forearm vasculature with similar potency to 17- $\beta$ -estradiol / H.A. Walker [et al.] // *Circulation.* – 2001. – Vol. 103. – P. 258-262.
25. Wessler S. Biological assay of a thrombosis inducing activity in human serum / S. Wessler, S.M. Reimer, M.C. Sheps // *J. Appl. Physiol.* – 1959. – Vol. 14. – P. 943-946.
26. Probuocol protects against hypochlorite induced endothelial dysfunction: identification of a novel pathway of probuocol oxidation to a biologically active intermediate / P.K. Witting [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 15612-15618.
27. Young J.S. Endothelial dependent and independent responses in the thoracic aorta during endotoxic shock / J.S. Young, J.P. Headrick, R.M. Berne // *Circ. Shock.* – 1991. – Vol. 35. – P. 25-30.
28. Inferior vena cava ligation rapidly induces tissue factor expression and venous thrombosis in rats / J. Zhou [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2009. – Vol. 29, № 6. – P. 863-869.
29. High methionine and cholesterol diet abolishes endothelial relaxation / A. Zulli [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – Vol. 23, Iss. 8. – P. 1358-1363.

#### WAYS OF EXPERIMENTAL MODELING OF VENOUS ENDOTHELIAL DYSFUNCTION: THE PRESENT STATE OF PROBLEM

*R.E. Kalinin, I.A. Suchkov, A.S. Pshennikov, A.N. Novikov*

**Based on the literature data concerning modeling of venous diseases in experiments on animals the authors discuss various models of venous endothelial dysfunction. The models of venous thrombosis and L-NAME-induced endothelial dysfunction are considered to be the simplest and most readily reproducible.**

**Keywords:** *endothelial dysfunction, nitric oxide (II), thrombosis, L-NAME.*

Калинин Р.Е. – д.м.н., проф., зав. кафедрой ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

E-mail: kalinin-re@yandex.ru.

Сучков И.А. – к.м.н, доц. кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

E-mail: suchkov\_med@mail.ru.

Новиков А.Н. – очный аспирант кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

E-mail: anovikovn@rambler.ru.

Пшеников А.С. – к.м.н., ассист. кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

E-mail: pshennikov1610@rambler.ru.