

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ФАРМАКОЛОГИИ ИМЕНИ В.В.ЗАКУСОВА»**

*На правах рукописи*

**ИОНОВА  
ЕКАТЕРИНА ОЛЕГОВНА**

**ВОЗМОЖНОСТИ ЭХОКАРДИОГРАФИИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ЭФФЕКТОВ  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ  
И ИНОТРОПНУЮ ФУНКЦИЮ НА МОДЕЛЯХ ПАТОЛОГИИ МИОКАРДА  
У КРЫС**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук  
Сергей Александрович Крыжановский

Москва 2023

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1 Эхокардиография на мелких животных. Состояние проблемы .....	13
1.2 Патологическое ремоделирование сердца. Возможности фармакотерапии .....	15
1.2.1 Лекарственные средства, влияющие на активность симпатoadренальной системы – $\beta$ -адреноблокаторы .....	16
1.2.2 Лекарственные средства, влияющие на активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы .....	19
1.2.2.1 Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ингибиторы АПФ) .....	19
1.2.2.2 Блокаторы ангиотензиновых рецепторов 1 типа (блокаторы AT1-R) .....	20
1.2.2.3 Прямые ингибиторы ренина – кирены .....	21
1.2.3 Антагонисты минералокортикоидных рецепторов (антагонисты MR) .....	21
1.2.4 Ингибиторы нейтральной эндопептидазы (ингибиторы NEP) .....	24
1.2.5 Статины .....	26
1.2.6 Ингибиторы эндотелина 1 (блокаторы ET-R) .....	28
1.2.7 Ингибиторы вазопрессина (блокаторы V-R) .....	30
1.2.8 Ингибиторы металлопротеиназ (ингибиторы MMP) .....	31
1.2.9 Ингибиторы цитокинов .....	33
1.2.10 Ингибиторы активных (реактивных) форм кислорода (ингибиторы АФК), антиоксиданты .....	35
1.2.11 Ингибиторы фосфодиэстеразы-5 (ингибиторы PDE-5) .....	37

1.2.12 Стволовые клетки .....	38
1.3 Заключение .....	40
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	43
2.1 Препараты .....	43
2.2 Экспериментальные животные .....	43
2.3. Метод регистрации и измерения эхокардиографических показателей ..	44
2.4 Методы воспроизведения коронарогенной патологии миокарда .....	45
2.4.1 Метод воспроизведения острого инфаркта миокарда .....	45
2.4.2 Метод воспроизведения хронической сердечной недостаточности	45
2.5 Метод воспроизведения некоронарогенной патологии миокарда .....	46
2.6 Статистическая обработка результатов .....	47
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	48
3.1 Валидация метода эхокардиографии на мелких животных .....	48
3.1.1 Выбор оптимальной позиции для эхокардиографических исследований на крысах со спонтанным дыханием и закрытой грудной клеткой .....	48
3.1.2 Выбор оптимальной позиции для эхокардиографических исследований на крысах с открытой грудной клеткой, находящихся на искусственном дыхании .....	56
3.2 Доказательство возможности использования метода эхокардиографии на мелких животных для проведения острых фармакологических тестов ...	59
3.2.1 Острый фармакологический тест с неселективным агонистом $\beta_{1,2}$ -адренорецепторов изопротеренолом .....	59
3.2.2 Острый фармакологический тест с селективным антагонистом $\beta_1$ -адренорецепторов метопрололом .....	63
3.3 Изучение возможности использования метода эхокардиографии на мелких животных для оценки эффектов фармакологических средств при коронарогенной патологии миокарда .....	66

3.3.1 Доказательство возможности использования метода эхокардиографии для оценки эффективности фармакологических средств на модели острой ишемии миокарда .....	67
3.3.1.1 Оценка эхокардиографических показателей у крыс с одномоментной окклюзией коронарной артерии .....	67
3.3.1.2 Эхокардиографическое изучение кардиопротективных эффектов селективного блокатора металлопротеиназ 2 и 9 типов на модели одномоментной окклюзии коронарной артерии .....	76
3.3.2 Доказательство возможности использования метода эхокардиографии у крыс для оценки эффективности фармакологических средств на трансляционной модели постинфарктной хронической сердечной недостаточности .....	87
3.3.2.1 Эхокардиографическая оценка этапов формирования постинфарктной хронической сердечной недостаточности у крыс как основа для разработки трансляционной модели .....	89
3.3.2.2 Эхокардиографическое изучение на трансляционной модели ХСН у крыс возможности использования фабомотизола для профилактики и лечения постинфарктной ХСН .....	96
3.4 Изучение возможности использования метода эхокардиографии для оценки эффективности фармакологических средств при некоронарогенной патологии миокарда .....	109
3.4.1 Эхокардиографическая оценка этапов формирования алкогольной кардиомиопатии у крыс как основа для разработки трансляционной модели .....	112
3.4.2 Изучение возможности использования эхокардиографии для оценки кардиопротективного действия лекарственных средств на трансляционной модели АКМП .....	117

3.4.2.1 Эхокардиографическое изучение возможности использования триметазидина для лечения АКМП в условиях продолжающегося систематического приема алкоголя .....	119
3.4.2.2 Эхокардиографическое изучение возможности использования триметазидина для лечения АКМП в условиях алкогольной депривации	123
3.4.3 Эхокардиографическое изучение эффективности экспериментальной терапии фабомотизолом алкогольной кардиомиопатии .....	129
3.4.3.1 Эхокардиографическое изучение эффективности экспериментальной терапии фабомотизолом АКМП в условиях алкогольной депривации .....	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	137
ВЫВОДЫ .....	141
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	142
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ .....	143
ЛИТЕРАТУРА .....	145

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** В РФ в 2020 г., несмотря на изменение структуры смертности из-за появления новой причины – коронавирусной инфекции (7% в структуре смертности за 2020 г.), основную долю, как и прежде, составляет смертность от болезней системы кровообращения (БСК) – 47% от всех причин [59]. Более того, показатель смертности от БСК в РФ за январь – декабрь 2020 года составил 754,6 на 100 тыс. населения, что выше индикаторного показателя (595,0 на 100 тыс. населения) на 21,2% и на 23,4% выше показателя 2019 года (611,0 на 100 тыс. населения) [3]. Ранее сообщалось, что в РФ экономический ущерб от БСК равняется 2,7 трлн руб., что эквивалентно 3,2% ВВП [17].

Патологическое ремоделирование сердца является одной из основных причин летальности от БСК, в том числе и от хронической сердечной недостаточности (ХСН). Так, согласно данным Фрамингемского эпидемиологического исследования (Framingham Heart Study), средняя 5-летняя летальность во всей популяции больных ХСН, являющейся исходом практически всех БСК, составляет 65% для мужчин и 47% – для женщин [199, 185]. В РФ, согласно результатам эпидемиологических исследований ЭПОХА-О-ХСН и ЭПОХА-ХСН, распространенность ХСН I-IV функционального класса составила 7% (7,9 млн. человек) от общего числа населения [60]. Примерно половина больных ХСН умирает в течение первых 4-х лет с момента постановки диагноза, а в тяжелых случаях – столько же в течение первого года, и это происходит несмотря на повсеместное внедрение в широкую медицинскую практику самых эффективных на современном этапе лекарственных средств: ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента,  $\beta$ -блокаторов, антагонистов рецепторов альдостерона и т.д. [96, 129]. В настоящее время единственным эффективным способом лечения декомпенсированной ХСН является пересадка сердца [258]. Поскольку лекарственные средства, эффективно препятствующие развитию патологического

ремоделирования сердца, в клинике практически отсутствуют, их создание представляется несомненно актуальной задачей, позволяющей существенно снизить не только инвалидизацию, но и летальность от БСК.

Не менее актуальной задачей является внедрение в повседневную практику экспериментальных фармакологических исследований новых неинвазивных методических приемов, позволяющих в реальном масштабе времени, в динамике оценить как этапы формирования патологического процесса, так и особенности действия лекарственных средств, а также разработка на основе неинвазивных методов исследований трансляционных моделей, в максимально полном объеме воспроизводящих основные клинко-диагностические критерии моделируемой патологии. При этом желательно, чтобы используемый методический прием обладал универсальностью, т.е. позволял проводить, в случае необходимости, и острые эксперименты в условиях вивисекции. Одним из таких методических приемов является эхокардиография, позволяющая, как минимум, в полном объеме оценить размеры камер сердца и его инотропную функцию.

**Степень разработанности проблемы.** Первые сообщения о проведении эхокардиографических исследований на мелких лабораторных животных, преимущественно крысах, относятся к концу XX века [108, 114]. Их авторы пришли к очень важному выводу о том, что «Метод является потенциально полезным инструментом для изучения динамики развития или регрессии сердечной гипертрофии» [108]. В дальнейшем этот методический прием стал достаточно широко применяться для оценки этапов формирования и/или подтверждения наличия моделируемой патологии, преимущественно степени ремоделирования левого желудочка сердца [150, 135], а также для изучения особенностей изменения состояния левого желудочка сердца в постинфарктном периоде [241, 123]. Согласно базе данных библиотеки PubMed (запрос «echocardiographic studies on rats») на январь 2023 года опубликовано 815 результатов исследований, при проведении которых использовался метод трансторакальной эхокардиографии на мелких животных, приблизительно 25% из них посвящено изучению особенностей

кардиопротективного действия различных групп лекарственных средств. Однако анализ этих публикаций свидетельствует о том, что методологические исследования, посвященные полномасштабному изучению возможностей эхокардиографии при проведении фармакологических исследований, в том числе и на мелких животных, в литературе не представлены. Также в литературе на момент начала настоящего исследования (2013 год) не были представлены публикации о проведении в РФ эхокардиографических исследований при постановке фармакологических экспериментов. В настоящий момент подобные публикации единичны [39, 40].

Вместе с тем, использование этого методического приема позволило бы интенсифицировать и оптимизировать исследования, направленные на создание инновационных лекарственных средств для профилактики/лечения патологического ремоделирования сердца, которое, как известно, сопутствует и определяет тяжесть/прогноз большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы [235, 121, 232].

**Цель исследования.** Целью настоящей работы является систематическое методологическое изучение возможности использования метода эхокардиографии на мелких лабораторных животных при проведении острых и хронических экспериментов по оценке влияния фармакологических средств на инотропную функцию и ремоделирование сердца как в норме, так и при коронарогенной и некоронарогенной патологии миокарда.

Задачи исследования:

1. Валидация метода эхокардиографии на мелких грызунах.
2. Изучение возможностей метода эхокардиографии при проведении острых фармакологических тестов с изопротеренолом и метопрололом.
3. Изучение возможностей метода эхокардиографии для оценки эффектов фабомотизола и селективного блокатора металлопротеиназ 2 и 9 типов на модели острой ишемии миокарда.



4. Изучение возможностей метода эхокардиографии у крыс для разработки трансляционной модели постинфарктной хронической сердечной недостаточности (ХСН) и оценки эффективности фабомотизола для профилактики и лечения ХСН в условиях модели.

5. Изучение возможностей метода эхокардиографии у крыс для разработки трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии и оценки эффективности триметазида и фабомотизола в условиях модели.

6. Изучение возможности использования эхокардиографии на мелких животных как базового метода для разработки трансляционных моделей, воспроизводящих коронарогенную и некоронарогенную патологию миокарда.

**Научная новизна.** Впервые на основании систематических методологических исследований продемонстрирована возможность применения и преимущества метода эхокардиографии на мелких животных для проведения острых и хронических экспериментов по изучению особенностей действия лекарственных средств на инотропную функцию и ремоделирование левого желудочка сердца. Впервые разработаны трансляционные модели хронической сердечной недостаточности и алкогольной кардиомиопатии у крыс, при создании которых эхокардиография являлась базовым методом исследований. Впервые на трансляционной модели хронической сердечной недостаточности показана высокая эффективность курсовой терапии анксиолитиком фабомотизолом. Впервые на трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии получены данные, свидетельствующие о наличии высокой кардиопротективной активности у р-FOX ингибитора триметазида и фабомотизола.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Впервые с использованием метода эхокардиографии изучены особенности влияния фабомотизола на инотропную функцию и ремоделирование левого желудочка сердца в модельных экспериментах, воспроизводящих коронарогенную и некоронарогенную патологию миокарда, что позволяет говорить о целесообразности его дальнейшего доклинического фармакологического изучения

в качестве кардиопротектора и разработки новых показаний к применению препарата. Впервые с использованием метода эхокардиографии показаны особенности ремоделирования миокарда в острейшую фазу инфаркта миокарда и возможность коррекции выявленных нарушений с использованием блокатора цинк-зависимых металлопротеиназ 2 и 9 типов доксициклина, что составило фундаментальную основу для поиска новых оригинальных кардиопротекторов, селективно блокирующих локализованные в цитозоле кардиомиоцитов металлопротеиназы 2 и/или 9 типов. Разработанные трансляционные модели хронической сердечной недостаточности и алкогольной кардиомиопатии у крыс используются в повседневной практике НИИ фармакологии имени В.В. Закусова для поиска новых биомишеней с целью создания оригинальных кардиотропных лекарственных средств.

**Методология и методы исследования.** В настоящей работе использован комплекс методических приемов, модельных экспериментов и фармакологическая методология, позволившие в полной мере оценить возможности метода эхокардиографии на мелких животных при проведении скрининга и изучении кардиопротективной активности лекарственных средств.

**Связь темы диссертации с научными планами института.** Исследования были начаты в рамках НИР ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» «Поиск и изучение средств коррекции цереброваскулярных расстройств и регуляции функций сердца» и продолжены в рамках НИР ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» № 0521-2019-0005 «Поиск фармакологических мишеней для создания инновационных кардио- и ангиотропных лекарственных средств».

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Эхокардиографические исследования на мелких грызунах позволяют оценить геометрию и инотропную функцию левого желудочка в условиях закрытой

грудной клетки и на открытом сердце в норме, а также на моделях коронарогенной и некоронарогенной патологии миокарда.

2. Метод эхокардиографии может быть использован при проведении острых фармакологических тестов с изопротеренолом и метопрололом у крыс.

3. Метод эхокардиографии может быть использован для оценки эффектов фармакологических средств на модели острой ишемии миокарда.

4. С использованием метода эхокардиографии в качестве базового разработана трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс и доказана эффективность фабомотизола для профилактики и лечения ХСН в условиях модели.

5. С использованием метода эхокардиографии в качестве базового разработана трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии и доказано кардиопротективное действие триметазидина и фабомотизола в условиях модели.

**Степень достоверности.** Исследование выполнено на большом экспериментальном материале с использованием адекватных методических приемов. Статистическая обработка полученных данных была проведена с привлечением соответствующих, современных методов математической статистики. Выводы базируются на собственных экспериментальных данных и анализе литературы.

**Апробация материалов диссертации.** Материалы диссертационной работы были представлены на IV съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» (Казань, 2012; Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения академика АМН СССР Артура Викторовича Вальдмана «Инновации в фармакологии: от теории к практике», (Санкт-Петербург, 2014); 6-й Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Клязьма, 2015); конференции Европейского общества биомедицинских исследований алкоголизма (Валенсия, Испания, 2015); 7-м Европейском фармакологическом конгрессе (Стамбул, Турция, 2016); II Всероссийской научной конференции

"Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты" Материалы конференции (Томск, 2017); V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018); Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина (Рязань, 2018); VII Евразийском конгрессе кардиологов (Ташкент, Узбекистан, 2019). Диссертационная работа была апробирована на расширенной межлабораторной конференции НИИ фармакологии имени В.В. Закусова 2 февраля 2023 года.

**Личный вклад автора** состоит в проведении экспериментов, систематизации и интерпретации результатов исследований, анализа литературных данных по теме диссертации, статистической обработке полученных результатов, написании статей и тезисов, представлении результатов на российских и международных съездах и конференциях.

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 23 статьи, из них 20 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, в том числе 11 статей в журналах, входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus; 3 статьи – в журнале, входящем в РИНЦ; получено 4 патента РФ. Результаты работы представлены в 24 тезисах в материалах научных съездов и конференций.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 182 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов, заключения и выводов. Содержит 17 таблиц и 28 рисунков. Список литературы включает в себя 62 отечественных и 249 зарубежных англоязычных источника.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Эхокардиография на мелких животных. Состояние проблемы

Впервые сообщение о возможности использования эхокардиографии на мелких животных, согласно базе данных библиотеки PubMed, было опубликовано в журнале *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* в мае 1988 года [108]. Авторы этого исследования высказали предположение о том, что «эхокардиографию можно рассматривать как простой неинвазивный метод для выявления сердечно-легочных нарушений у крыс и, таким образом, она может быть полезна при постановке последующих экспериментальных процедур без необходимости предварительных хирургических вмешательств». Следующее исследование было опубликовано в 1990 году и было посвящено изучению наличия корреляций между результатами эхокардиографических и морфометрических исследований, т.е. доказательству валидности метода [114]. На основании полученных данных авторы пришли к заключению, что «эхокардиография может быть использована для оценки структуры и функции левого желудочка (ЛЖ) сердца у крыс». В 1995 году J.M. Gardin с соавт. впервые показали, что при помощи трансторакальной эхокардиографии можно визуализировать ЛЖ и оценить его размеры у мышей [134]. В том же году J.M. Nagar в журнале *J Am Soc Echocardiogr* сообщил о «невозможности выполнения двухмерной эхокардиографии на сердце крысы с открытой грудной клеткой [142]. Годом позже в журнале *J. Am. Coll. Cardiol.* были опубликованы результаты исследования, где эхокардиография впервые была использована при проведении фармакологических исследований – оценивали влияние длительной терапии каптоприлом на ремоделирование ЛЖ сердца у крыс, перенесших острый инфаркт миокарда (ОИМ) [191]. В 1996 году были опубликованы результаты исследования, подтверждающие валидность трансторакальной эхокардиографии при оценке сердечной функции после инфаркта миокарда средней тяжести у крыс [87].

Всего за период 1988 – 1999 гг. было опубликовано 79 работ, в которых метод эхокардиографии использовали при проведении исследований на мелких лабораторных животных, 16 из которых были посвящены фармакологическим исследованиям.

К моменту начала настоящей диссертационной работы (2013 год) были опубликованы результаты 452 исследований, при проведении которых использовали трансторакальную эхокардиографию. Согласно базе данных библиотеки PubMed (запрос «echocardiographic studies on rats») на январь 2023 года подобных публикаций 815 (рисунок 1), из которых приблизительно 25% ( $\approx 175$  статей) имеет фармакологическую направленность. В подавляющем большинстве случаев этот методический прием используется для оценки влияния фармакологических средств на интенсивность патологического ремоделирования сердца при коронарогенном и/или некоронарогенном повреждении миокарда, а также для подтверждения наличия/отсутствия моделируемой патологии [88, 289, 304, 133 и др.].

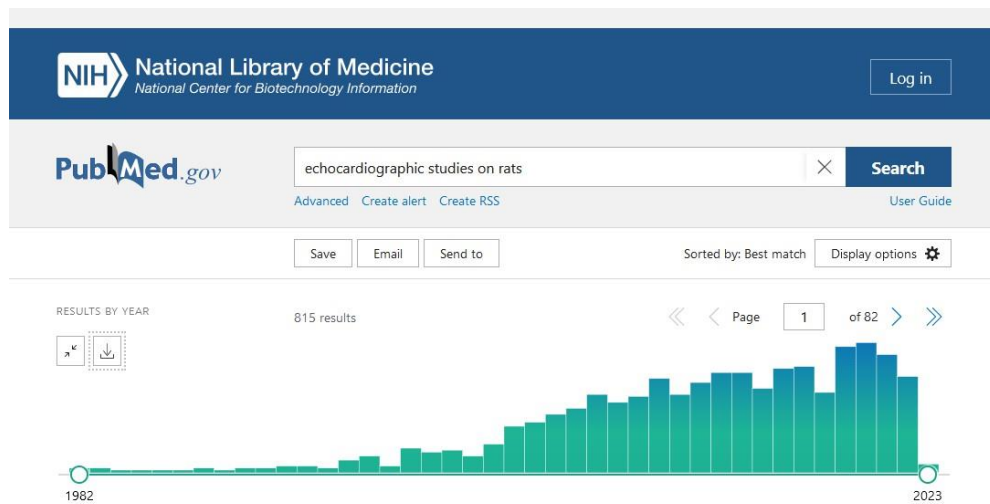


Рисунок 1 – Количество статей, приведенных в библиотеке PubMed, за период с 1988 по 2023 год, в которых использовали метод эхокардиографии на мелких ЖИВОТНЫХ

Анализ этих публикаций свидетельствует, том, что, по сути, они носят рутинный характер: в них, зачастую, меняются только модели патологии (чаще

всего инфаркт миокарда и хроническая сердечная недостаточность), название препаратов и сроки проведения исследований. Какие-либо данные о методологическом изучении возможностей эхокардиографии на мелких животных при проведении фармакологических исследований в литературе не представлены. В том числе, отсутствует информация о возможности использования этого методического приема при проведении острых фармакологических тестов; не представлены сравнительные данные об особенностях и валидности проведения фармакологических эхокардиографических исследований у животных с открытой грудной клеткой и искусственной вентиляцией легких; нет сведений о возможной продолжительности экспериментов на открытом сердце и т.д. Анализ отечественной литературы свидетельствует о том, что в РФ на момент начала настоящего исследования при проведении фармакологических экспериментов эхокардиографические исследования при проведении экспериментов на мелких животных не применялись. В настоящий момент подобные публикации единичны [39, 40].

## **1.2 Патологическое ремоделирование сердца. Возможности фармакотерапии**

Проблема лечения/профилактики патологического ремоделирования миокарда крайне актуальна. Ремоделирование ЛЖ сердца является одним из важных, если не ключевым, звеном патогенеза хронической сердечной недостаточности (ХСН), которая, как известно, является исходом практически всех заболеваний сердечно-сосудистой системы [199, 185]. Не менее важно и то, что степень ремоделирования ЛЖ не только определяет тяжесть течения ХСН, но прямо пропорциональна риску возникновения внезапной сердечной смерти [230].

Исторически полагают, что фармакологическое пособие, направленное на реверсное, или обратное, ремоделирование миокарда, должно оказать значимое положительное влияние на течение и прогноз заболевания. Однако в последнее время появились достаточно убедительные данные, свидетельствующие о том, что аномальные изменения во внутриклеточных сигнальных каскадах, обусловленные

ХСН, сохраняются и в период обратной реконструкции миокарда, несмотря на определенную нормализацию его функциональной активности [166]. Исходя из этого, можно полагать, что существующие в настоящий момент способы инициации обратного ремоделирования далеки от истинного восстановления миокарда, при котором протекающие в нем метаболические и электрофизиологические процессы аналогичны таковым в интактной сердечной мышце. Сказанное можно проиллюстрировать на примере результатов крупного (более 1 200 участников) рандомизированного плацебоконтролируемого исследования PREAMI (Perindopril and Remodeling in Elderly with Acute Myocardial Infarction) [128]. Из результатов этого исследования следует, что несмотря на то, что длительная (в течение 1 года) терапия периндоприлом (8 мг/сут.) значительно, статистически значимо ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой плацебо уменьшала интенсивность ремоделирования ЛЖ, улучшения клинических результатов (летальность, повторные госпитализации) не было отмечено.

Из используемых в настоящее время в лечебной практике препаратов для профилактики/лечения патологического ремоделирования (точнее, в том числе для профилактики/лечения патологического ремоделирования) у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, клиническая эффективность доказана для  $\beta$ -адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ингибиторы АПФ), блокаторов ангиотензиновых рецепторов 1 типа (блокаторы AT1-R), антагонистов минералокортикоидных рецепторов (антагонисты MR) и статинов. Как правило, эти лекарственные средства назначают в первые дни от момента начала заболевания и рекомендуют продолжение приема неопределенно долго.

### 1.2.1 Лекарственные средства, влияющие на активность симпатoadренальной системы – $\beta$ -адреноблокаторы

Согласно рекомендациям международных (Американская коллегия кардиологов/Американская ассоциация сердца-АСС/АНА; Европейское общество



кардиологов – ESC) и отечественных (Российское кардиологическое общество – РКО) кардиологических ассоциаций, оральное применение  $\beta$ -адреноблокаторов у пациентов с инфарктом миокарда ( $ФВ \leq 40\%$ ) относится к I классу вмешательств с уровнем доказательности A. Эти рекомендации основываются на результатах крупных рандомизированных плацебоконтролируемых исследований, выполненных в так называемую «дореперфузионную эпоху», однако репрезентативность этих исследований не вызывает сомнений. Так, например, в январе 2018 года были опубликованы результаты системного анализа 11 рандомизированных плацебоконтролируемых исследований, включивших в себя 18 637 пациентов, страдающих ХСН с различной ФВ –  $<20\%$ ,  $20-25\%$ ,  $26-34\%$ ,  $35-39\%$ ,  $40-49\%$ , и  $\geq 50\%$ , систематически принимавших  $\beta$ -адреноблокаторы (бисопролол, карведилол, метопролол или небиволол) [102]. Согласно результатам проведенного анализа, прием  $\beta$ -адреноблокаторов способствует значимому восстановлению сократительной функции левого желудочка преимущественно у пациентов с исходной ФВ  $\leq 20\%$  –  $\leq 39\%$ . Если проанализировать литературу за последние 10 лет, посвященную использованию  $\beta$ -адреноблокаторов у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, то предпочтение отдается селективным блокаторам  $\beta_1$ -адренорецепторов (бисопролол, метопролол и др.). Однако с фундаментальных позиций такой подход представляется не совсем оправданным, поскольку профибротические сигнальные каскады, активирующиеся в постинфарктном периоде, связаны с активацией  $\beta_2$ -адренорецепторов. В этом плане показательными представляются результаты выполненного еще в 1998 году метаанализа, включившего в себя 18 двойных слепых плацебоконтролируемых исследований, посвященных использованию  $\beta$ -адреноблокаторов у пациентов с ХСН [181]. Согласно его результатам, вне зависимости от селективности  $\beta$ -адреноблокаторов,  $\beta$ -блокада увеличила ФВ в среднем на 29%, однако неселективные  $\beta$ -блокаторы статистически значимо по сравнению с  $\beta_1$ -селективными снижали риск сердечной смерти (49% против 18%,  $p=0,049$ ). С этих позиций не менее интересны и результаты рандомизированного плацебоконтролируемого исследования COMET (Carvedilol or Metoprolol European

Trial), в котором сравнивалась эффективность терапии селективным  $\beta_1$ -адреноблокатором метопрололом и «гибридным»  $\beta$ -блокатором карведилолом [286]. Карведилол является неселективным  $\beta$ -блокатором, обладающим также  $\alpha_1$ -адреноблокирующим действием, в силу чего он обладает не только отрицательным ино- и хронотропным действием, но и проявляет вазодилатирующую активность и тем самым уменьшает постнагрузку на миокард. Его клиническая эффективность у пациентов с инфарктом миокарда была доказана в крупном рандомизированном плацебоконтролируемом исследовании CAPRICORN (Carvedilol Post-Infarct Survival Control in Left Ventricular Dysfunction) [164]. Согласно результатам исследования COMET, карведилол по своей кардиопротективной активности значимо ( $p = 0,03$ ) превосходит селективный  $\beta_1$ -адреноблокатор метопролол [286]. В 2016 году были опубликованы результаты рандомизированного исследования, в котором у пациентов с инфарктом миокарда сравнивали эффективность карведилола, метопролола и небиволола [226]. Последний, так же как и карведилол, обладает вазодилатирующей активностью, которая реализуется за счет способности небиволола увеличивать в эндотелиальных клетках сосудов экспрессию гена, ответственного за синтез NO-синтазы, что ведет к увеличению образования и высвобождения ими оксида азота. Не менее важно и то, что небиволол является агонистом  $\beta_3$ -адренорецепторов, встроенных в клеточную мембрану кардиомиоцитов желудочков сердца [255, 202]. В последнее время показано, что агонисты  $\beta_3$ -адренорецепторов обладают цитопротективной, в частности кардиопротективной активностью [211, 306]. Как следует из результатов цитируемого исследования [226], карведилол и небиволол по своей кардиопротективной активности значимо превосходят метопролол.

В июне 2020 года были опубликованы результаты многоцентрового рандомизированного плацебоконтролируемого клинического исследования METOCARD-CNIC (Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction trial), в котором приняли участие 191 пациент с острым передним инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST. В этом исследовании при помощи функционально-отслеживающего сердечно-сосудистого магнитного резонанса

оценивали срочные и отдаленные эффекты ранней терапии метапрололом (15 мг, в/в, непосредственно перед реперфузией) на функциональное состояние зоны инфаркта и отдаленной зоны миокарда ЛЖ. Как следует из полученных результатов, ранняя терапия метапрололом способствовала статистически значимому ( $p < 0,001$ ) уменьшению деформации зоны инфаркта как через 1 неделю, так и через 6 месяцев от момента развития инфаркта, однако не влияла на интенсивность деформации отдаленной зоны [240]. Хотя авторы этого исследования делают вывод о том, что они продемонстрировали длительные кардиопротекторные эффекты раннего внутривенного введения метапролола, в статье не приводится каких-либо данных о различиях в функциональном состоянии пациентов контрольной и основной группы.

## 1.2.2 Лекарственные средства, влияющие на активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы

### *1.2.2.1 Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ингибиторы АПФ)*

Согласно рекомендациям экспертов ACC/AHA, ESC и РКО применение ингибиторов АПФ у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, относится к I классу вмешательств с уровнем доказательности A. В рандомизированных плацебоконтролируемых исследованиях, выполненных в конце XX – начале XXI века (4th International Study of Infarct Survival – ISIS-4; Survival and Ventricular Enlargement study – SAVE; Acute Infarction Ramipril Efficacy – AIRE; Trandolapril Cardiac Evaluation – TRACE и др.), было убедительно продемонстрировано, что ингибиторы АПФ тормозят процессы ремоделирования миокарда, инициированные инфарктом миокарда. В более поздних систематических обзорах и метаанализах результаты этих исследований в целом, за небольшим уточнением, были подтверждены. Так, например, согласно результатам метаанализа (проанализировано 16 рандомизированных плацебоконтролируемых исследований, оценивающих эффективность ингибиторов АПФ у пациентов, перенесших инфаркт

миокарда) терапия ингибиторами АПФ у пациентов с ФВ <45% сопровождается статистически значимым уменьшением по сравнению с группой плацебо конечно-систолического ( $p=0,041$ ) и конечно-диастолического ( $p=0,046$ ) объемов левого желудочка и увеличением ФВ ( $p=0,021$ ) [67]. Позднее эти данные были подтверждены и в других клинических исследованиях [251, 301].

#### *1.2.2.2 Блокаторы ангиотензиновых рецепторов 1 типа (блокаторы АТ1-Р)*

Как следует из рекомендаций экспертов АСС/АНА, ESC и РКО, применение блокаторов АТ1-Р у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, относится к I классу вмешательств с уровнем доказательности В. Клинические исследования, выполненные в начале XXI века, свидетельствовали о высокой эффективности блокаторов АТ1-Р у пациентов с различной этиологией ХСН [303]. Согласно результатам опубликованного в 2004 году метаанализа (24 исследования с участием 38 080 пациентов), по своей эффективности у пациентов с инфарктом миокарда и ХСН блокаторы АТ1-Р, как минимум, не уступают ингибиторам АПФ [183]. В многоцентровом клиническом исследовании (495 пациентов) оценивали влияние длительной (1 год) терапии различными дозами валсартана на ремоделирование ЛЖ у пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST и фракцией выброса <50% [231]. Согласно полученным данным, на фоне курсовой терапии валсартаном просходит динамическое уменьшение конечно-систолического и конечно-диастолического объема ЛЖ ( $p<0,05$ ) и увеличение фракции выброса ЛЖ ( $p<0,05$ ). Данные об изменении функционального состояния пациентов в статье не приводятся.

Однако согласно результатам опубликованного в 2017 году метаанализа (38 исследований, посвященных лечению дисфункции левого желудочка после перенесенного инфаркта миокарда, включивших в себя 47 662 испытуемых), по своей эффективности блокаторы АТ1-Р значимо уступают ингибиторам АПФ [280]. Не менее важно и то, что в литературе появляются сообщения о том, что систематическая терапия блокаторами АТ1-Р пациентов, перенесших инфаркт

миокарда, сопровождается повышением риска развития повторного инфаркта миокарда [117].

### *1.2.2.3 Прямые ингибиторы ренина – кирены*

Первые кирены (занкирен, ремикирен) были синтезированы еще в начале 70-ых годов XX века, однако лишь в 2007 году к клиническому применению был разрешен представитель этой группы – препарат алискирен. Алискирен представляет собой высокоселективный непептидный ингибитор синтеза ренина. В основе механизма действия алискирена лежит его способность аккумулироваться в секретирующих ренин гранулярных клетках юкстагломерулярного аппарата почек и блокировать его активность – препарат связывается с гидрофобными сайтами (S1/S3) и/или субсайтом S3(sp) активного центра ренина, что приводит к потере его ферментативной активности [72]. Первая попытка использовать алискирен для лечения ХСН (Aliskiren Observation of Heart Failure Treatment Investigators, ALOFT) вселила определенные надежды [207]. Однако более поздние и более продолжительные рандомизированные плацебоконтролируемые исследования (Aliskiren Trial to Mediate OutcomeS Prevention in HEart failure, ATMOSPHERE и AliSkiren TRial ON Acute heart failure oUTcomes, ASTRONAUT) не подтвердили ранее полученные обнадеживающие результаты [205, 293]. По их окончании было сделано заключение о том, что добавление алискирена к стандартной терапии не оказывает какого-либо положительного влияния на течение ХСН, более того, в группе пациентов, получавших алискирен, достоверно чаще отмечались случаи клинически значимой гипотензии ( $p=0,005$ ) и повышения уровней сывороточного креатинина ( $p=0,009$ ) и калия ( $p<0,001$ ).

### 1.2.3 Антагонисты минералокортикоидных рецепторов (антагонисты MR)

Согласно рекомендациям экспертов ACC/AHA, ESC и РКО, применение антагонистов MR у пациентов, перенесших инфаркт миокарда ( $ФВ\leq 40\%$ , при

отсутствии почечной недостаточности и/или гиперкалиемии), относится к I классу вмешательств с уровнем доказательности В.

Первым рандомизированным плацебоконтролируемым исследованием, документально доказавшим целесообразность включения антагонистов MR в комплексную терапию ХСН, было исследование RALES (Randomized Aldactone Evaluation Study), включившее в себя 1 663 пациентов с тяжелой формой сердечной недостаточности и ФВ левого желудочка не более 35% [175]. Было показано, что антагонист MR спиронолактон статистически значимо ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой плацебо уменьшает летальность и дисфункцию левого желудочка. Однако поскольку спиронолактон является неселективным антагонистом MR, то на фоне его применения у 10% мужчин, по сравнению с 1% в контрольной группе, развивалась гинекомастия ( $p < 0,001$ ). Позднее (в 2004 году) в клиническую практику для лечения больных с ОИМ, осложненным сердечной недостаточностью и систолической дисфункцией ЛЖ, было внедрено  $\alpha$ -эпокси-производное спиронолактона – препарат эплеренон, который имел большее чем спиронолактон сродство к MR и в 50-100 раз меньшее сродство к андрогеновым и прогестероновым рецепторам, т.е. являлся селективным антагонистом MR. В силу высокой селективности на фоне приема эплеренона практически не развивались присущие спиронолактону побочные эффекты – гинекомастия, масталгия, импотенция, гирсутизм, нарушение менструального цикла и т.д.

Клиническая эффективность эплеренона у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, была подтверждена в двух крупных рандомизированных плацебоконтролируемых исследованиях – EPHECUS (Epleronone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study) и EMPHASIS-HF (Epleronone in Mild Patients Hospitalization And Survival Study in Heart Failure) [239, 106]. Так, например, в исследовании EPHECUS добавление эплеренона к стандартной терапии в ранние сроки ОИМ приводит не только к снижению госпитализаций по поводу прогрессирования ХСН ( $p = 0,03$ ) и общего риска летальности ( $p = 0,008$ ), но и к значимому снижению риска внезапной смерти на 21% ( $p = 0,03$ ). Вместе с тем, последующий анализ результатов рандомизированного

исследования EMPHASIS-HF, включившего в себя 2 737 пациентов, продемонстрировал, что на фоне длительной терапии эплереноном развивается ухудшение функции почек и гиперкалиемия [254].

Недавно в клиническую практику был внедрен нестероидный селективный антагонист MR препарат финеренон. По сравнению с эплереноном он обладает более высокой селективностью и аффинностью в отношении MR [101]. В отличие от эплеренона, который, покинув циркуляторное русло, преимущественно распределяется в почках, финеренон в равной степени распределяется и в сердце, и в почках [101].

Количество клинических исследований, посвященных изучению эффективности финеренона, незначительно. Вместе с тем, в апреле 2018 года были опубликованы результаты первого метаанализа (3 рандомизированных плацебоконтролируемых сравнительных исследования; 1 520 пациентов с ХСН), посвященного оценке эффективности финеренона в сравнении со спиронолактоном и эплереноном у пациентов с ХСН [236]. Авторы метаанализа пришли к заключению, что финеренон по способности вызывать обратное ремоделирование миокарда, как минимум, не уступает стероидным антагонистам MR.

Следует отметить, что в ряде достаточно крупных рандомизированных плацебоконтролируемых исследований (Early eplerenone treatment in patients with acute ST-elevation myocardial infarction without heart failure – REMINDER, Early Aldosterone Blockade in Acute Myocardial Infarction – ALBATROSS и др.) клиническая эффективность стероидных антагонистов MR не продемонстрирована. Так, например, авторы исследования ALBATROSS пришли к заключению, что им не удалось показать преимущества раннего назначения антагонистов MR в дополнение к стандартной терапии у пациентов с инфарктом миокарда [81].

#### 1.2.4 Ингибиторы нейтральной эндопептидазы (ингибиторы NEP)

Нейтральная эндопептидаза (син. эндопептидаза, энкефалиназа, мембранная металлоэндопептидаза – ММЕ, антиген CD 10, неприлизин, общий антиген острого лейкоза – CALLA (common acute lymphocytic leukemia antigen)) – относится к группе цинк-зависимых металлопептидаз (олигопептидаз) [220]. NEP представляет собой интегральный мембранный белок второго типа, состоящий из 742 аминокислотных остатков. Активный центр NEP обращен во внеклеточное пространство, что является идеальным для осуществления процессов деградации пептидов, локализованных во внеклеточном пространстве или ассоциированных с мембраной [298, 209]. NEP секретируется во многих тканях организма (мозг, почки, легкие, эпителиальные клетки, фибробласты и др.), в том числе и эндотелиальными клетками сосудов. Показано, что в эндотелии сосудов активированная NEP деградирует пептиды вазодилатирующего каскада (натрийуретический пептид, брадикинин, адренomedуллин), что влечет за собой повышение сосудистого тонуса [130] и, как следствие этого, повышение постнагрузки на миокард. Естественно, что представлялось перспективным создание лекарственных средств, подавляющих вазоспастическую активность NEP.

Первый селективный ингибитор NEP – препарат кандокситрил, – был создан в 90-х годах прошлого века. Несмотря на большие ожидания, его клинические испытания закончились полным провалом. Так, в небольшом пилотном плацебоконтролируемом исследовании было показано, что препарат вызывает дозозависимое увеличение системного сосудистого сопротивления и уменьшение сердечного индекса, а также увеличение концентрации эндотелина-1 в плазме крови [165]. Несколько позже в развитие этого направления был создан и передан на клинические испытания ряд потенциальных лекарственных средств (омапатрилат, сампатрилат, фазидоприлат, илепатрил и др.), получивших название ингибиторы вазопептидаз, поскольку они помимо ингибирования NEP обладали свойствами ингибиторов АПФ. С теоретических позиций такая комбинация имела



большие клинические перспективны, однако для большинства из них клинические испытания закончились на уровне II – III фазы.

Наиболее подробно был изучен омапатрилат. Так, в большом (5 770 пациентов с ХСН II – IV класса по NYHA) рандомизированном двойном слепом плацебоконтролируемом исследовании OVERTURE (Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events) было показано, что омапатрилат по своей эффективности не превосходит ингибитор АПФ эналаприл, однако на фоне его применения частота ангионевротического отёка оказалась статистически значимо ( $p < 0,05$ ) выше – соответственно 2,2% и 0,68% случаев [228]. На основании результатов данного и ряда других клинических исследований омапатрилат не был допущен FDA (Управление США по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, Food and Drug Administration) к широкому клиническому применению [200].

Следующей попыткой создания оригинального ингибитора вазопептидаз стал комбинированный препарат LCZ696, состоящий из ингибитора NEP сакубитрила и блокатора AT1-R валсартана. Выбор валсартана был обусловлен тем, что на фоне его применения ниже риск развития ангионевротического отёка. Сакубитрил является пролекарством и, попадая в организм, дезилируется с образованием активного метаболита сакубитрила (LBQ657) [140]. В 2014 году были опубликованы результаты крупного (8 442 пациентов с ХСН II – IV класса по NYHA и ФВ  $\leq 40\%$ ) рандомизированного двойного слепого плацебоконтролируемого исследования PARADIGM-HF (Prospective Comparison of ARNI [Angiotensin Receptor-Neprilysin Inhibitor] with ACEI [Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibitor] to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure Trial), в котором сравнивали эффективность препарата LCZ696 и ингибитора АПФ эналаприла [206]. Авторы исследования пришли к заключению, что применение препарата LCZ696, по сравнению с изолированным приемом ингибитора АПФ, приводит к статистически значимому ( $p < 0,001$ ) снижению риска смерти и госпитализаций по поводу прогрессирования ХСН и открывает широкие перспективы в лечении этого заболевания. Однако следует учитывать, что к

дизайну этого исследования есть определенные вопросы, касающиеся как выбора пациентов [266], так и дозы эналаприла [79]. Также следует отметить, что последующий анализ исследования PARADIGM-HF, включивший в себя 1 872 пациента, показал, что по сравнению с эналаприлом, терапия препаратом LCZ696 приводила к более медленному улучшению скорости клубочковой фильтрации почек ( $p < 0,001$ ) и отсроченному улучшению сердечно-сосудистых исходов даже у пациентов с хронической болезнью почек, несмотря на умеренное увеличение в моче соотношения альбумин/креатинин [110]. В 2021 году были опубликованы результаты крупного рандомизированного (5 661 пациентов) исследования PARADISE-MI, посвященного изучению эффективности систематической терапии препаратом LCZ696 пациентов с ОИМ. Авторы этого исследования пришли к выводу, что препарат LCZ696 по своей эффективности (частота смерти от сердечно-сосудистых причин или сердечная недостаточность) не превосходит ингибитор АПФ рамиприл [237].

### 1.2.5 Статины

Как следует из рекомендаций экспертов ACC/AHA, ESC и РКО, применение статинов у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, относится к I классу вмешательств с уровнем доказательности A. Первые экспериментальные исследования, продемонстрировавшие способность статинов препятствовать развитию патологического ремоделирования ишемизированного миокарда, были выполнены в начале XXI века [218, 146]. Так, например, было показано, что систематическая терапия флувастатином, начатая непосредственно после воспроизведения инфаркта у крыс, не только значительно ( $p < 0,05$ ) по сравнению с ишемизированным контролем снижает летальность, но и препятствует ремоделированию левого желудочка: КСР, соответственно,  $3,9 \pm 0,1$  и  $5,2 \pm 0,1$  мм ( $p < 0,01$ ); КДР  $4,8 \pm 0,1$  и  $5,9 \pm 0,1$  мм ( $p < 0,01$ ); ФУ  $18,6 \pm 1,1\%$  и  $12,4 \pm 0,6\%$  ( $p < 0,01$ ) [146]. Поскольку эти эксперименты проводились на животных с нормальным уровнем холестерина в плазме крови ( $109,0 \pm 8,0$  –  $122 \pm 12,0$  мг/дл), можно

утверждать, что полученные результаты не связаны с коррекцией гиперлипидемии. Позднее и в клинических исследованиях была продемонстрирована способность статинов препятствовать/уменьшать интенсивность постишемического ремоделирования миокарда [136, 177, 141, 195].

К настоящему времени известны механизмы, лежащие в основе кардиопротективного действия статинов. Полагают, что поддержание инотропной функции сердца связано со способностью статинов стимулировать экспрессию СПР-опосредованных  $Ca^{2+}$ -регулирующих белков, в частности  $Ca^{2+}$ -АТФазы (SERCA) и рианодиновых рецепторов (RyR2) [308], а также с их способностью модулировать активность внутриклеточных сигнальных путей, сопряженных с  $\beta$ -AD-R, и уменьшать интенсивность трансмембранного тока ионов  $Ca^{2+}$  [227]. Антигипертрофические эффекты статинов связаны с их способностью ингибировать активность геранилгеранилтрансферазы-1 (Geranyl Geranyl Pyrophosphate Synthase-1, GGTase-1) и фарнезилпирофосфата синтазы (Farnesyl Pyrophosphate Synthase, FPPase) и тем самым препятствовать геранилгеранилированию и фарнезилированию, и, следовательно, активации малых GTPases – Ras и Rho (Rho/Rac/cdc42) [180, 243]. Известно, что в кардиомиоцитах малые GTPases – Ras и Rho активируют (NADPH)-оксидаза-сопряженные прогипертрофические сигнальные каскады. Способность статинов препятствовать фиброзу миокарда связана с их способностью блокировать в миофибробластах ERK1/2/PKC и/или PI3K/AKT профиброзные сигнальные пути [148]. Помимо этого, имеются данные о том, что определенный вклад в способность статинов препятствовать развитию профибротических процессов в сердечной ткани вносит их ингибирующее влияние на активность металлопротеиназы 9-го типа [243]. Также имеются данные о том, что статины препятствуют цитокин-опосредованной гиперэкспрессии iNOS (NOS2) в кардиомиоцитах [198]. Эта точка зрения нашла свое подтверждение в опубликованных в 2018 году результатах рандомизированного контролируемого исследования, в котором приняли участие 103 пациента с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST [195]. В работе оценивали влияние терапии

высокими дозами аторвастатина, который назначали сразу же после первичного чрескожного коронарного вмешательства, на ремоделирование ЛЖ, уровень в плазме крови высокочувствительного С-реактивного белка (hs-CRP), малонового диальдегида (MDA), эндотелина-1 (ЕТ-1), матриксных металлопротеиназ. Показано, что через неделю от момента возникновения инфаркта в группе пациентов, получавших аторвастатин, по сравнению с контрольной группой, в плазме крови статистически значимо снижен уровень содержания hs-CRP ( $p=0,009$ ), ЕТ-1 ( $p=0,006$ ) и металлопротеиназы 9-го типа ( $p=0,028$ ). Вместе с тем, ни через 1 неделю, ни через 1 год не было выявлено различий между группами по величине конечно-систолического и конечно-диастолического объемов ЛЖ и его фракции выброса. Авторы исследования делают заключение о том, что кардиопротективный эффект аторвастатина в высоких дозах ассоциирован с более низкими уровнями в плазме крови hs-CRP, ЕТ-1 и ММП-9 и, скорее всего, не связан с ремоделированием ЛЖ. Вместе с тем, следует отметить, что у пациентов с бессимптомной постинфарктной ХСН аторвастатин уменьшает интенсивность ремоделирования ЛЖ [299].

#### 1.2.6 Ингибиторы эндотелина 1 (блокаторы ЕТ-R)

Известно, что в условиях патологии миокарда эндотелин 1 вызывает ремоделирование миокарда за счет активации прогипертрофических каскадов и инициации фиброза. Гипертрофические эффекты ЕТ-1 преимущественно обусловлены активацией сопряженного со встроенным в клеточную мембрану кардиомиоцитов ЕТ<sub>A</sub>-R трехуровневого протеинкиназного сигнального каскада Raf-MKK1/2-ERK1/2 [75]. Фосфорилированная ERK1/2 перемещается от внутренней поверхности клеточной мембраны в цитоплазму кардиомиоцита, где активирует такие транскрипционные факторы как фактор ответа сыворотки (serum response factor; SRF) и миоцит-специфичный энхансер фактор 2А (myocyte enhancer factor-2; MEF2), имеющие сайты связывания, расположенные в регуляторных областях генов, контролирующих миогенез. Большинство исследователей

полагает, что ET-1-опосредованный фиброз миокарда также связан с активацией локализованных на клеточных мембранах сердечных фибробластов ET<sub>A</sub>-R и следующей за этим активацией TGF-β1 [172]. Вместе с тем, в литературе имеются данные о том, что в реализации этого патологического процесса могут быть задействованы не только ET<sub>A</sub>, но и ET<sub>B</sub>-рецепторы [252]. В этом случае в фибробластах активируется патологический сигнальный каскад, начинающийся с активации киназы фокальной адгезии (focal adhesion kinase; FAK; синоним – протеин тирозин киназа 2; protein tyrosine kinase 2; PTK2) и, далее, интегрин-связанной киназы (integrin-linked kinase; ILK) – JNK-ERK [252].

Исходя из роли эндотелина 1 в патогенезе постинфарктного ремоделирования миокарда, полагали, что создание лекарственных средств, блокирующих ET-R, внесет позитивный вклад в комплексную терапию этой патологии [247]. В настоящее время в клиническую практику внедрены 3 блокатора ET-R: неселективный блокатор ET<sub>A</sub>-R и ET<sub>B</sub>-R – препарат бозентан и 2 селективных блокатора ET<sub>A</sub>-R – амбризентан и ситаксентан. К сожалению, клинические исследования, оценивающие эффективность блокаторов ET-R у пациентов с ХСН, не оправдали возлагаемых на них надежд [229, 310]. Так, в 2017 году были опубликованы результаты крупного (1 613 пациентов с ХСН ШВ – IV класса по NYHA и ФВ <35%) рандомизированного плацебоконтролируемого исследования ENABLE Trials (Bosentan on the Morbidity and Mortality of Patients With Severe Chronic Heart Failure), в котором оценивали кардиопротективные эффекты систематической терапии (1,5 года) бозентаном [229]. Как следует из полученных результатов, бозентан не улучшал клиническое течение ХСН, более того, в первые недели терапии бозентаном отмечено значимое увеличение периферических отеков и массы тела, снижение уровня гемоглобина и увеличение риска госпитализации по поводу прогрессирующей ХСН. Кроме того, у 10% пациентов, получавших бозентан, отмечено значительное увеличение в сыворотке крови печеночных трансаминаз.

### 1.2.7 Ингибиторы вазопрессина (блокаторы V-R)

Согласно современным представлениям, вазопрессин (антидиуретический гормон; аргинин-вазопрессин; AVP) играет достаточно важную роль в развитии патологического ремоделирования ЛЖ [223, 270]. В сердце и сосудах экспрессируются только рецепторы V<sub>1A</sub>-типа (V<sub>1A</sub>-R), которые сопряжены с сигнальным Gq-белком [276]. Стимуляция V<sub>1A</sub>-R на клетках гладкой мышцы сосудов вызывает повышение сосудистого сопротивления и, следовательно, увеличение постнагрузки на миокард [290]. Полагают, что повышение постнагрузки и прямое повреждающее действие AVP на кардиомиоциты лежат в основе AVP-опосредованного ремоделирования (гипертрофии) миокарда [139]. Существенный вклад в ремоделирование сердца вносит и AVP-опосредованная стимуляция V<sub>1A</sub>-R, расположенных на клеточной мембране популяции сердечных фибробластов: активация V<sub>1A</sub>-R индуцирует в них избыточный синтез белков, что способствует как росту, так и пролиферации этих клеток [302, 290]. Помимо этого, активированные V<sub>1A</sub>-R, встроенные в клеточную мембрану фибробластов, стимулируют экспрессию эндотелина-1 и фактора роста соединительной ткани – CTGF [100].

С внедрением в клиническую практику блокаторов V-R (ваптанов), так же как и блокаторов ET-R, были связаны большие надежды в плане лечения ХСН [247]. Первым препаратом из этой группы был селективный блокатор V<sub>1A</sub>-R препарат релковаптан (BR 49059), клинические испытания которого прекратили на уровне II фазы (причины не сообщаются). В дальнейшем в практику был внедрен ряд селективных блокаторов V<sub>2</sub>-R (ликвиптан, мозаваптан, сатаптан и толваптан) и неселективный блокатор V<sub>1A</sub>-R/V<sub>2</sub>-R. Согласно результатам клинических испытаний, эффективность блокаторов V-R при ХСН не доказана [173, 256]. Так, в рандомизированном двойном слепом, плацебоконтролируемом исследовании (4 133 пациента с ХСН II – IV класса по NYHA) EVEREST (Efficacy of Vasopressin Antagonism in Heart Failure Outcome Study With Tolvaptan) не было выявлено различий между группой толваптана и плацебо, однако пациенты, получавшие

толваптан, постоянно испытывали жажду и/или сухость во рту [173]. Вместе с тем, блокаторы V-R оказались эффективны в плане коррекции эводемической и гиперводемической гипонатриемии [221]. Однако в более поздних исследованиях было отмечено, что у пациентов с гипонатриемией терапии блокаторами V-R сопутствуют достаточно серьезные побочные эффекты [250].

### 1.2.8 Ингибиторы металлопротеиназ (ингибиторы ММП)

Деградация компонентов внеклеточного матрикса (ВМ) осуществляется матриксными металлопротеиназами (ММП), относящимися к семейству внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз. ММП – единственные протеолитические ферменты, обладающие способностью денатурировать фибриллярные коллагены, а также такие компоненты ВМ как эластин и фибронектин, что позволяет считать ММП эффекторами патологического ремоделирования миокарда [171, 291]. Однако степень участия этих металлопротеиназ в ремоделировании сердца различна. Собственно, в деструкции фибриллярных белков (коллагенов), составляющих основную массу ВМ, ведущую роль играют желатиназы – ММП-2 и ММП-9 [190, 296]. Механизмы, лежащие в основе активации ММП-2 и ММП-9 в условиях патологии миокарда, остаются до конца не ясными, поскольку согласно литературным данным во ВМ они могут быть активированы:

- Провоспалительными цитокинами (факторы роста) – трансформирующий фактор роста альфа (TNF- $\alpha$ ), трансформирующий фактор роста бета (TGF- $\beta$ ), фактор роста соединительной ткани (CTGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF), интерлейкин 1 (IL-1) и интерлейкин 6 (IL-6) [213, 242, 105];

- Вазоактивными пептидами – ангиотензин II, эндотелин-1, натрийуретический пептид [242, 260];

- Связанным с рецептором липопротеина низкой плотности белком 1 (low density lipoprotein receptor-related protein 1 – LRP 1; син. альфа-2-макроглобулина рецептор-A2MR; аполипопротеин-E рецептор-APOER; кластер дифференцировки

91 – CD91) [242]. Показано, что в условиях инфаркта миокарда LRP 1 активирует ММП-9, мало влияя на активность ММП-2 [249].

Помимо внеклеточного матрикса, ММП-2 и ММП-9 идентифицированы и в кардиомиоцитах [212, 77, 95], где в условиях ишемии под влиянием оксидативного стресса они активируются в течение нескольких секунд от момента ее начала [157]. В кардиомиоцитах ММП-2 локализуется в миофиламентах, где регулирует протеолиз, а также в кавеолах и ядре [112]. В отличие от ММП-2, ММП-9 локализована только в митохондриях кардиомиоцитов. Хотя механизмы кардиодепрессивного действия внутриклеточно локализованных ММП-2 и ММП-9 к настоящему времени до конца не изучены, исследователи сходятся во мнении, что увеличение их экспрессии в первые минуты ишемии обуславливает снижение сократительного статуса кардиомиоцитов [212, 132].

Несмотря на то, что роль ММП-2 и ММП-9 в ремоделировании миокарда достаточно хорошо изучена в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo*, клинические исследования, посвященные изучению кардиопротективной активности ингибиторов ММР, крайне немногочисленны, а их результаты противоречивы [92, 156]. В небольшом (110 пациентов, ФВ<40%) рандомизированном плацебоконтролируемом исследовании TIPTOP trial (Early Short-term Doxycycline Therapy In Patients with Acute Myocardial Infarction and Left Ventricular Dysfunction to Prevent The Ominous Progression to Adverse Remodeling) оценивали эффективность краткосрочной (7 дней) терапии неселективным ингибитором ММР (ММР 2 и 9) антибиотиком тетрациклинового ряда доксициклином. Препарат назначали сразу же после первичного чрескожного коронарного вмешательства у пациентов с острым инфарктом миокарда [92]. Показано, что краткосрочная терапия доксициклином значительно уменьшает негативное ремоделирование левого желудочка сердца: индекс конечно-диастолического объема левого желудочка (LVEDVi) у пациентов, получавших доксициклин, был статистически значимо ( $p=0,012$ ) меньше; также статистически значимо меньше был размер и степень тяжести инфаркта – соответственно  $p=0,052$  и  $p=0,014$ . Ретроспективный анализ этого исследования, проведенный при помощи многомерного регрессионного



анализа, показал, что существует прямая статистически значимая корреляция между активностью в плазме крови MMP-2 и величиной LVEDVi – через 24 ч  $p < 0,05$ ; и 7-й день:  $p < 0,01$  [93]. Авторы этого исследования высказывают предположения о том, что акцептором действия доксициклина преимущественно является MMP-2.

В международном рандомизированном двойном слепом плацебоконтролируемом исследовании PREMIER (Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling), включившем в себя 253 пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST на ЭКГ и фракцией выброса от 15% до 40%, оценивали эффективность длительной терапии (90 дней) неселективным ингибитором MMP (MMP-2, -3, -8, -9, -13, и -14) препаратом под шифром PG-116800 [156]. Как следует из полученных результатов, на фоне систематической терапии PG-116800 не удалось снизить интенсивность ремоделирования левого желудочка или улучшить клинические исходы.

### 1.2.9 Ингибиторы цитокинов

В экспериментальных исследованиях убедительно доказана роль провоспалительных цитокинов в патогенезе постинфарктного ремоделирования миокарда. Так, например, показано, что провоспалительные цитокины (TNF- $\alpha$  ИЛ-1, ИЛ-6, интерферон  $\gamma$  и др.) секретируются как структурными элементами сердечной ткани, так и привлеченными в зону ишемии клетками, участвующими в воспалительной реакции (нейтрофилы, лейкоциты и др.) [97, 201]. К настоящему времени синтезировано достаточно большое количество разнообразных ингибиторов цитокинов, эффективность которых экспериментально подтверждена [210]. Так, например, на модели острого инфаркта миокарда показано, что фармакологическая блокада ИЛ-1 не только статистически значимо по сравнению с контролем уменьшает площадь инфаркта ( $p = 0,015$ ) и способствует поддержанию инотропной функции сердца ( $p = 0,008$ ), но и препятствует развитию постинфарктного ремоделирования левого желудочка [63]. В опытах на нокаутных

по ИЛ-6 мышцах продемонстрировано, что у них по сравнению с контролем площадь инфаркта значимо меньше – соответственно  $14,6 \pm 4,4$  % и  $25,1 \pm 3,0$  % ( $p < 0,05$ ) [162].

Первые сообщения об изучении клинической эффективности цитокинов связаны с использованием антагониста TNF-alpha у пациентов с ревматоидным артритом и ХСН [263]. Анализируя полученные результаты, авторы исследования пришли к выводу, что «пациенты с ХСН III – IV класса по NYHA, в любом случае, не должны лечиться блокаторами TNF-alpha». Несколько позднее были опубликованы результаты пилотного, рандомизированного, двойного слепого, плацебоконтролируемого исследования VCU-ART (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial), в которое были включены пациенты с острым инфарктом миокарда и подъемом сегмента ST на ЭКГ [65]. Показано, что краткосрочная (14 дней) терапия рекомбинантным антагонистом интерлейкинов (IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ) препаратом анакинра препятствовала развитию постинфарктового ремоделирования: LVESVi был статистически значимо ( $p = 0,006$ ) меньше, чем в группе плацебо, тоже касалось и LVEDVi ( $p = 0,033$ ). Однако, согласно результатам рандомизированного, двойного слепого, плацебоконтролируемого исследования VCU-ART2 (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial-2), выполненного на аналогичном контингенте больных и по той же схеме, что и исследование VCU-ART, ранее полученные данные о способности препарата анакинра препятствовать развитию постинфарктового ремоделирования не подтвердились [64]. В ноябре 2017 года были опубликованы результаты рандомизированного, плацебоконтролируемого исследования REDHART (Recently Decompensated Heart Failure Anakinra Response Trial), в котором оценивали протективное действие препарата анакинра у пациентов с декомпенсированной ХСН [295]. По окончании курса лечения авторы исследования пришли к заключению о том, что различия между группами плацебо и пациентами получавшими анакинра, не были статистически значимыми.

### 1.2.10 Ингибиторы активных (реактивных) форм кислорода (ингибиторы АФК), антиоксиданты

Фундаментальные исследования свидетельствуют о важной роли оксидативного стресса в патогенезе ишемического повреждения миокарда. Активные формы кислорода (супероксидный радикал –  $O_2^{\cdot-}$ ; гидроксильный радикал –  $OH^{\cdot}$ ; перекись водорода –  $H_2O_2$ ; пероксидный ион –  $HO_2$  и др.) в норме играют важную роль в регуляции функциональной активности кардиомиоцитов, модулируя внутриклеточную сигнализацию и/или экспрессию регуляторных генов [214]. Однако в условиях острой ишемии миокарда избыточная генерация активных форм кислорода (АФК), нарушающая хрупкое равновесие между их образованием и инактивацией, провоцирует развитие воспалительной реакции, которая негативно влияет на систолическую и диастолическую функцию сердца, способствуя его ремоделированию, что преимущественно связано с дезорганизацией цитозольного гомеостаза ионов  $Ca^{2+}$  [151, 69]. Основным источником АФК, инициирующих внутриклеточный окислительный стресс, являются митохондрии. Показано, что окислительный стресс в первую очередь развивается не из-за снижения интенсивности митохондриальной антиоксидантной защиты, а вследствие гиперпродукции активных форм кислорода [287]. Повышение продукции АФК приводит к повреждению электрон-транспортной цепи митохондрий, что влечет за собой уменьшение синтеза АТФ и, как следствие этого, понижение активности АТФ-зависимых ферментов, ответственных за поддержание мембранного потенциала, приводящее к массивному поступлению ионов  $Ca^{2+}$  во внутреннее пространство митохондрий. Увеличение концентрации ионов  $Ca^{2+}$  активирует фосфолипазы, отщепляющие жирные кислоты от фосфолипидов, что в конечном итоге приводит к разобщению процессов окислительного фосфорилирования и нарушению проницаемости митохондриальной мембраны [107]. Индуцированная перегрузкой ионами  $Ca^{2+}$  аномальная проницаемость митохондриальной мембраны связана с открытием неспецифической митохондриальной поры (Mitochondrial Permeability Transition

Pore; mPTP), структурными единицами которой являются потенциал-зависимый анионный канал (voltage-dependent anion channel; VDAC), белки наружной (регулятор mPTP – циклофилин D – CypD) и внутренней (транслоказа адениновых нуклеотидов – adenine nucleotide translocase; ANT и АТФ/АДФ-антипортер) митохондриальных мембран [287, 184]. В экспериментах, воспроизводящих острую ишемию миокарда/реперфузию, показано, что у нокаутных по CypD мышам площадь некроза статистически значимо меньше, чем у интактных животных [219]. В опытах на генномодифицированных мышам, сердца которых экспрессируют человеческую супероксиддисмутазу, показано, что ее суперэкспрессия подавляет воспалительный ответ в условиях ишемии/реперфузии [282]. Образовавшиеся АКФ не только оказывают повреждающее действие на внутриклеточные структуры кардиомиоцитов, но и экспортируются в межклеточное пространство, где активируют матриксные металлопротеиназы (ММП) и, как следствие, этого деградиацию внеклеточного матрикса [154].

Помимо кардиомиоцитов, АКФ в условиях инфаркта миокарда генерируются эндотелиальными клетками коронарных сосудов, фибробластами и активированными лейкоцитами [287, 154].

Вместе с тем, несмотря на наличие большого числа фундаментальных исследований, свидетельствующих о важной роли АКФ в патогенезе ишемического повреждения миокарда, клинические исследования, посвященные возможности использования ингибиторов АКФ при этой патологии, не подтвердили наличие у них кардиопротективной активности [144, 137]. В рандомизированном, плацебоконтролируемом исследовании OPT-CHF study (Охурpurinol in patients with symptomatic heart failure), в котором приняло участие 405 пациентов с ХСН III – IV класса по NYHA, оценивали эффективность активного метаболита аллопуринола – оксипуринола (син. аллоксантин), обладающего свойствами ингибитора фермента ксантиноксидазы (ксантиноксидоредуктазы), которая, как известно, восстанавливает кислород до супероксида, спонтанно дисмутирующегося в пероксид водорода [144]. Как следует из полученных результатов, добавление к стандартной терапии

оксипуринола не сопровождалось какими-либо положительными сдвигами в течении ХСН. Также безуспешно закончилось и рандомизированное, плацебоконтролируемое исследование EXACT-HF (Xanthine Oxidase Inhibition for Hyperuricemic Heart Failure Patients), в котором приняло участие 523 пациента с ХСН (ФВ  $\leq 40\%$ ), получавших систематическую терапию (24 недели) аллопуринолом [137]. Авторы исследования пришли к выводу, что «у пациентов с ХСН высокого риска со сниженной фракцией выброса и повышенным уровнем мочевой кислоты ингибирование ксантиноксидазы аллопуринолом не привело к улучшению клинического состояния, увеличению толерантности к физической нагрузке и фракции выброса левого желудочка, а также качества жизни». Говоря в целом о значимости назначения антиоксидантов пациентам, страдающим заболеваниями сердечно-сосудистой системы, уместно привести результаты метаанализа (50 рандомизированных, плацебоконтролируемых исследований, 294 478 участников), свидетельствующие о том, что нет никаких данных, подтверждающих эффективность использования витаминов и антиоксидантов для профилактики/лечения сердечно-сосудистых заболеваний [216].

#### 1.2.11 Ингибиторы фосфодиэстеразы-5 (ингибиторы PDE-5)

Изначально ингибиторы PDE-5 (варденафил, силденафила цитрат, тадалафил и др.) были внедрены в клиническую практику для лечения эректильной дисфункции, однако, после того как PDE-5 была идентифицирована в кардиомиоцитах, возник интерес к возможности применения этих препаратов в кардиологии [281, 120]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что в гипертрофированном миокарде экспрессия PDE-5 существенно возрастает, что приводит к нарушению сократительной способности кардиомиоцитов [281, 217]. Также было продемонстрировано, что PDE-5 инициирует гипертрофию миокарда посредством активации кальциневрин/NFAT/PI3K/Akt и/или MAPK/ERK1/2 прогипертрофических сигнальных каскадов. Авторы этих исследований высказали мнение о том, что внедрение в клиническую практику ингибиторов PDE-5 «может

предоставить новые стратегии лечения сердечной гипертрофии и ремоделирования миокарда». В рандомизированном, плацебоконтролируемом исследовании RELAX (Phosphodiesterase-5 Inhibition to Improve Clinical Status and Exercise Capacity in HFpEF), включившем в себя 216 пациентов с ХСН II – IV класса по NYHA ( $ФВ \geq 50\%$ ) и дисфункцией правого желудочка, оценивали кардиопротективную активность систематической терапии (24 недели) ингибитором PDE-5 – силденафила цитратом [158]. Показано, что терапия ингибитором PDE-5 не оказала какого-либо положительного влияния ни на функцию правого желудочка, ни на течение ХСН. В 2017 г. были опубликованы результаты метаанализа (13 рандомизированных, плацебоконтролируемых исследований, 898 пациентов), в котором оценивали эффективность терапии ингибиторами PDE-5 у пациентов с ХСН [159]. На основании проведенного анализа сделан вывод о том, что ингибиторы PDE-5 не эффективны в плане лечения ХСН, но потенциально могут улучшать состояние легочной гемодинамики. Вместе с тем, в 2021 году были опубликованы результаты проспективного рандомизированного исследования, авторы которого делают вывод о том, что терапия ингибитором PDE-5 силденафилом вызывает улучшение систолической функции ЛЖ независимо от наличия тяжелой легочной гипертензии [66].

### 1.2.12 Стволовые клетки

Принципиально стволовые клетки подразделяют на тотипотентные (могут образовывать клетки любой ткани), плюрипотентные (могут образовывать клетки многих тканей), мультипотентные (могут образовывать клетки нескольких тканей), олигопотентные (могут дифференцироваться лишь в близкие по свойствам типы клеток) и унипотентные (могут дифференцироваться только в один тип клеток). Последние 3 вида клеток объединяют под названием прогениторные стволовые клетки. В кардиологической практике для регенерации ишемизированных тканей миокарда используют следующие типы стволовых клеток: тотипотентные эмбриональные стволовые клетки (ESC); стволовые клетки костного мозга

(BMSC), которые подразделяют на плюрипотентные гемопоэтические стволовые клетки (HSC) и эндотелиальные прогениторные клетки (EPC); индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC); мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки (MSC); прогениторные резидентные стволовые клетки сердца (CSC), подразделяющиеся на Sca1<sup>+</sup> (Cells Stem Cell Antigen1) резидентные клетки и c-kit<sup>+</sup> резидентные клетки и прогениторные скелетные миобласты (SkM). Известно, что ряд стволовых клеток обладает плеiotропным действием. Так, например, MSC способны не только дифференцироваться в кардиомиоциты, но и проявляют выраженную паракринную активность, секретируя ряд цитокинов (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  и др.) и ростовых факторов (MCP-1, VEGF, HGF и др.). Первые пилотные клинические исследования, посвященные оценке эффективности терапии стволовыми клетками пациентов с инфарктом миокарда, внушали определенный оптимизм [272, 76]. Так, в пилотном плацебо-контролируемом исследовании (12 пациентов) BMSC вводили субэндокардиально в ишемизированную область во время операции по аортокоронарному шунтированию [272]. Как следует из полученных результатов, терапия BMSC приводила к статистически значимому по сравнению с группой плацебо уменьшению LVEDV ( $p=0.004$ ) и увеличению ФВ ( $p=0.007$ ). В пилотном плацебо-контролируемом исследовании (20 пациентов) TOPCARE-AMI (Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction), включившем в себя 20 пациентов с острым инфарктом миокарда, BMSC вводили сразу же после реперфузии в инфаркт-связанную коронарную артерию [76]. Показано, что у пациентов, получавших BMSC, по сравнению с группой плацебо через 4 месяца ФВ и движение стенки левого желудочка в зоне инфаркта значимо выше, соответственно  $p=0,003$  и  $p<0,001$ . Однако со временем оптимизм исследователей существенно угас. Согласно результатам метаанализа (23 рандомизированных, плацебо-контролируемых исследований, 1 624 пациента), терапия стволовыми клетками приводит лишь к умеренному увеличению ФВ и сокращению LVESV без значимого влияния на LVEDV или размер инфаркта [115]. Более того, в ряде клинических исследований показано, что терапия стволовыми

клетками у пациентов с передним инфарктом [174] и с острым инфарктом миокарда и подъемом ST сегмента на ЭКГ [257] не эффективна. Также не увенчалась успехом и попытка комбинированной терапии BMSC и гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF или CSF 3) – гликопротеином, который обладает способностью стимулировать производство костным мозгом стволовых клеток и высвобождение их в системный кровоток [311].

Анализируя состояние проблемы, сотрудники института клинических исследований Дьюка (Северная Каролина, США) делают обоснованный вывод о том, что «Подходы первого поколения к проблеме стволовых клеток в кардиологии, вероятно, были чрезмерно упрощенными и основывались на относительно примитивном понимании механизмов и возможностей регенерации. Тем не менее, область продолжает развиваться, и предполагает более светлое будущее» [244].

### 1.3 Заключение

Как следует из вышеизложенного, лекарственные препараты, в той или иной мере способные предотвращать/уменьшать интенсивность постинфарктного ремоделирования миокарда, были внедрены в клиническую практику в 80-х годах XX века. В дальнейшем, несмотря на огромное количество экспериментальных исследований, убедительно показывавших, преимущественно в экспериментах *in vitro*, ключевую роль того или иного сигнального белка и/или фермента в развитии ремоделирования миокарда, в клинику за этот период практически не было внедрено ни одного препарата. На наш взгляд, это связано с несколькими причинами. Во-первых,  $\beta$ -адреноблокаторы, ингибиторы АПФ, антагонисты MR создавались как препараты, воздействующие на основные регуляторные системы организма, принимающие участие в поддержании его гомеостаза. Во-вторых, подавляющее большинство исследований было выполнено в экспериментах на крупных лабораторных животных (собаки, кошки, мини свиньи и т.п.), что существенно облегчало экстраполяцию полученных результатов. В-третьих,



эффективность изучаемых соединений оценивали в модельных экспериментах, достаточно полно воспроизводящих клиническую ситуацию – модель злокачественных инфаркт-обусловленных желудочковых нарушений сердечного ритма по Харрису (собаки), модель стабильной стенокардии по Секерешу (собаки), модель ваготонической фибрилляции предсердий (кошки) и многие другие. Начиная с конца XX века и по настоящее время, поиск и доклиническое фармакологическое изучение потенциальных кардиотропных лекарственных проводится преимущественно на мелких лабораторных животных, поскольку использование крупных лабораторных животных проблематично (административные барьеры, движение «зеленых» и т.д.). Не менее важно и то, что изучение механизмов, лежащих в основе постинфарктного ремоделирования миокарда, как правило, проводится в экспериментах *in vitro*, а целесообразность воздействия на выявленные биомиссии с целью коррекции выявленных нарушений – в экспериментах *in vivo* на генномодифицированных животных, что крайне далеко от реальной клинической ситуации. Таким положением вещей в существенной мере и определяется отсутствие на рынке новых инновационных кардиотропных лекарственных средств. Возможным решением этой проблемы представляется как разработка на мелких лабораторных животных трансляционных моделей, в достаточно полной мере воспроизводящих наблюдаемую в клинике ситуацию, так и внедрение в повседневную фармакологическую практику новых неинвазивных методических приемов, позволяющих в динамике, в реальном масштабе времени оценивать и особенности развития патологического процесса, и корректирующее воздействие на него потенциальных лекарственных средств. Есть все основания полагать, что одним из таких методических приемов является эхокардиография на мелких животных.

Не менее важно и то, что данные о проведении систематических исследований по изучению спектра возможностей метода эхокардиографии на мелких животных при проведении фармакологических исследований в литературе не представлены. Вместе с тем, проведение такого рода исследований представляется достаточно важным, поскольку есть все основания полагать, что

метод эхокардиографии на мелких животных далеко не ограничивается изучением особенностей ремоделирования сердца при проведении неинвазивных модельных экспериментов по оценке кардиопротективного действия лекарственных средств. Однако до настоящего времени не оценены возможности метода эхокардиографии на мелких животных при проведении острых фармакологических тестов; не представлены сравнительные данные об особенностях и валидности проведения фармакологических эхокардиографических исследований у животных с открытой грудной клеткой и животных со спонтанным дыханием; нет сведений о возможной продолжительности экспериментов на открытом сердце и т.д.

Таким образом, исходя из вышесказанного, проведение систематических исследований по оценке возможностей метода эхокардиографии на мелких животных при проведении фармакологических исследований представляется целесообразным и актуальным.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Препараты

Средства для наркоза:

- кетамин (ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия)
- уретан (“Acros organics”, Индия)
- эфир для наркоза (ООО «Кузбассоргхим», Россия)

Субстанции:

– АЛ-828, МЛ-269, МЛ-292, МЛ-293 (ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В.Заксова», Россия)

- Фабомотизола дигидрохлорид (афобазол) (АО «Фармстандарт», Россия)
- Изопротеренола гидрохлорид (“Sigma”, США)
- Метопролола гидрохлорид (“Sigma”, США)
- Триметазидин (АО «Фармстандарт», Россия)

Лекарственные средства:

- Доксциклин капсулы по 0,1 г (Борисовский ЗМП, Республика Беларусь)
- Раствор натрия хлорида 0,9% изотонический (ООО «Мосфарм», Россия)
- Цефазолин-натрий (ОАО «Биосинтез», Россия)

### 2.2 Экспериментальные животные

Исследования выполнены на 447 белых беспородных крысах самцах и самках массой 160-350 г, 40 крысах самцах линии Wistar массой 200-220 г, 5 трехцветных морских свинок, полученных из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА Россия. 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). Организацию и проведение работ осуществляли в соответствии с российскими и международными

нормативно-правовыми документами: Приказ Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 23.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Эксперименты проводили во временном интервале с 9.00 по 17.00. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

### 2.3 Метод регистрации и измерения эхокардиографических показателей

Наркотизированных крыс фиксировали на операционном столике в положении на спине. Регистрацию эхокардиограммы производили в условиях закрытой/открытой грудной клетки и спонтанного дыхания/ИВЛ в одномерном М- и двухмерном В-модальном режимах при положении датчика эхокардиографа в парастернальной позиции по длинной оси сердца. Оценку эхокардиографических показателей проводили, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. Измерения проводили в М-режиме, начиная с определения конечно-диастолического размера (КДР) ЛЖ (в конце фазы диастолы на уровне инцизуры на задней стенке ЛЖ – момент систолы предсердия) и конечно-систолического размера (КСР) (в месте максимального сближения задней стенки и межжелудочковой перегородки). Затем по формуле L. Teichholz [285] рассчитывали:

конечно-диастолический (КДО) и конечно-систолический (КСО) объемы левого желудочка сердца:

$$\text{КСО} = 7 \times (\text{КСР})^3 / (2,4 + \text{КСР});$$

$$\text{КДО} = 7 \times (\text{КДР})^3 / (2,4 + \text{КДР})$$

Зная КСО и КДО, можно рассчитать ударный объем (УО) левого желудочка:

$$\text{УО} = \text{КДО} - \text{КСО}.$$

Исходя из величины УО, рассчитывают фракцию выброса (ФВ) ЛЖ, характеризующую его инотропную функцию:

$$\text{ФВ}\% = \text{УО} / \text{КДО} \times 100 \%$$

Кроме ФВ рассчитывают еще один показатель, характеризующий насосную функцию ЛЖ – фракцию укорочения (ФУ), которая отражает изменение размера полости ЛЖ к концу систолы по отношению к таковому в конце диастолы:

$$\text{ФУ}\% = (\text{КДР} - \text{КСР})/\text{КДР} \times 100 \%$$

Все измерения выполняли в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии [178]. Оценку динамики изменений эхокардиографических показателей проводили в зависимости от дизайна исследований.

В работе использовали цифровой ультразвуковой аппарат DP6600 (Mindray Bio-Medical Electronics Co.Ltd, Китай) с электронным микроконвексным датчиком 65C15EA с частотой 8,0 МГц.

## **2.4 Методы воспроизведения коронарогенной патологии миокарда**

### 2.4.1 Метод воспроизведения острого инфаркта миокарда

Наркотизированных (уретан 1300 мг/кг, в/б) беспородных крыс самцов массой 300-350 г переводили на искусственное дыхание при помощи аппарата искусственной вентиляции легких для мелких животных (Ugo Basele, Италия), после чего производили торако- и перикардотомию и под левую нисходящую коронарную артерию на 1-2 мм ниже ее выхода из-под ушка с помощью круглой изогнутой атравматической иглы подводили лавсановую лигатуру (3/0). Ишемию с дальнейшим развитием острого инфаркта миокарда вызывали одномоментной перевязкой коронарной артерии.

### 2.4.2 Метод воспроизведения хронической сердечной недостаточности

Хроническую сердечную недостаточность (ХСН) моделировали на крысах. На первом этапе у животных вызывали инфаркт миокарда по методу А. Selye [267]. С этой целью наркотизированную эфиром крысу массой 180-200 г фиксировали на операционном столике в положении на спине. Кожу в области грудной клетки

депилировали и обрабатывали антисептическим раствором. Производили продольный разрез кожи, грудные мышцы раздвигали ранорасширителями. Прилежащие к краю раны ткани изолировали стерильным бинтом. По 5-му межреберью проводили торакотомиию, ребра раздвигали и производили перикардотомиию. Сердце извлекали из грудной клетки и осторожно отводили кверху ушко левого предсердия. Визуально идентифицировали левую коронарную артерию, которая, как правило, выходит из-под левого ушка. С помощью стерильной атравматической иглы с нитью 3/0 под коронарную артерию в 2-3 мм от ее начала подводили лигатуру, которую завязывали, нитку обрезали. Сердце возвращали в грудную полость, стягивали мышцы. Рану, после внесения в нее антибиотика, послойно ушивали. Операционное поле обрабатывали спиртовым 5% раствором йода. Операцию проводили с максимально возможным соблюдением правил асептики и антисептики, использовали только стерильные резиновые перчатки, инструменты шовный материал.

На вторые сутки после воспроизведения инфаркта миокарда на наркотизированных кетаминном (100 мг/кг в/б) крысах проводили эхокардиографические исследования и в дальнейший эксперимент отбирали только тех животных, у которых диагностировался передний трансмуральный инфаркт миокарда. Критерием формирования постинфарктной ХСН было статистически значимое, по сравнению со 2-м днем после перевязки коронарной артерии, снижение фракции выброса + дилатация левого желудочка сердца. Установлено, что при этом способе моделирования ХСН развивается через 90 дней после перевязки коронарной артерии.

## **2.5 Метод воспроизведения некоронарогенной патологии миокарда**

Для изучения некоронарогенной патологии миокарда была выбрана алкогольная кардиомиопатия (АКМП). АКМП моделировали на беспородных белых крысах самцах массой 180-200 г. Животных содержали в индивидуальных клетках стандарта Т/3 в условиях вивария (температура 21-23 °С, относительная влажность воздуха 40-60%) при регулируемом 12 ч/12 ч световом режиме

(свет/темнота) с предоставлением брикетированного стандартного корма *ad libitum*. Животных подвергали принудительной алкоголизации, предоставляя в качестве единственного источника жидкости 10%-ный раствор этанола. Среднесуточное потребление алкоголя в пересчете на чистый этанол колебалось в пределах 5,0-6,5 г/кг. Показано, что через 24 недели принудительной алкоголизации у животных развивается АКМП.

## 2.6 Статистическая обработка результатов

Нормальность распределения полученных данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий оценивали по Левену. В большинстве случаев распределение данных статистически значимо не отличалось от нормального, а выборочные дисперсии были равны. В связи с указанным, в этих случаях для определения статистической значимости различий между несколькими независимыми выборками использовали однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу. При анализе зависимых выборок использовали дисперсионный анализ повторных измерений с дальнейшей обработкой методами множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу или по Даннету (в случае сравнения только с исходным уровнем). В случае сравнения только двух выборок использовали t-критерий Стьюдента. Результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок.

В тех случаях, когда полученные данные не соответствовали условиям, необходимым для применения параметрических методов, для определения статистической значимости различий между несколькими независимыми выборками использовали непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по Крускалу-Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Результаты представляли в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей.

Во всех случаях различия считали статистически значимыми, если вероятность ошибки I рода была меньше или равна 0,05 ( $p \leq 0,05$ ).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Валидация метода эхокардиографии на мелких животных

Настоящее исследование было начато с выбора оптимальной позиции датчика прибора и положения животного при проведении эхокардиографических исследований, т.е. техники выполнения исследований, а также доказательства валидности полученных результатов.

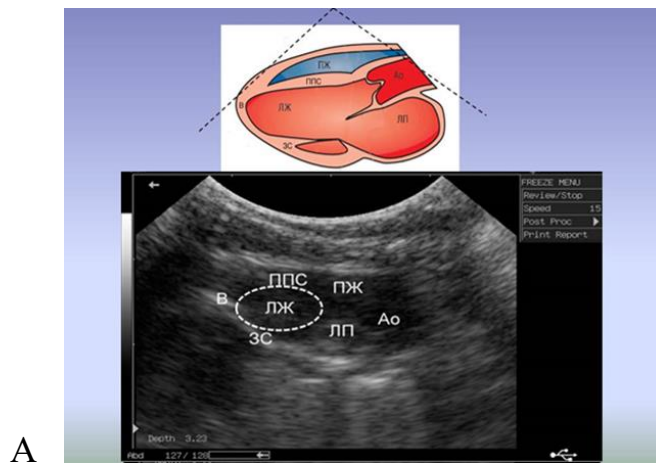
#### 3.1.1 Выбор оптимальной позиции для эхокардиографических исследований на крысах со спонтанным дыханием и закрытой грудной клеткой

Целью первого этапа явился выбор оптимальной техники проведения исследований и доказательство валидности метода эхокардиографии (В- и М-режим) в экспериментах, выполненных на наркотизированных (кетамин, 100 мг/кг, в/б) беспородных белых крысах-самцах. Двухмерную эхокардиографию или В-режим в реальном времени на сегодняшний день выполняют с помощью фазированных датчиков. Преимуществом метода является возможность оценки сердца и магистральных сосудов *on line*. Ограничением В-режима является плохая визуализация границы эндокард-кровь, что может привести к ошибкам измерения. В ходе опытов соблюдали определенный протокол. Оптимальным акустическим доступом посчитали парастернальную позицию в положении датчика по длинной оси левого желудочка сердца. Данная позиция удобна для стандартных измерений и расчетов. Для получения оптимального изображения датчик располагали по левому краю грудины в 4-м или 5-м межреберье, направляли по длинной оси сердца от правого плеча к левой подвздошной области. Полученное изображение сердца по длинной оси считали оптимальным, если на экране межжелудочковая перегородка горизонтальна, а верхушка видна слева. Если межжелудочковая перегородка располагалась под углом справа налево, то датчик смещали на одно межреберье выше. В такой позиции на экране слева визуализировали правый

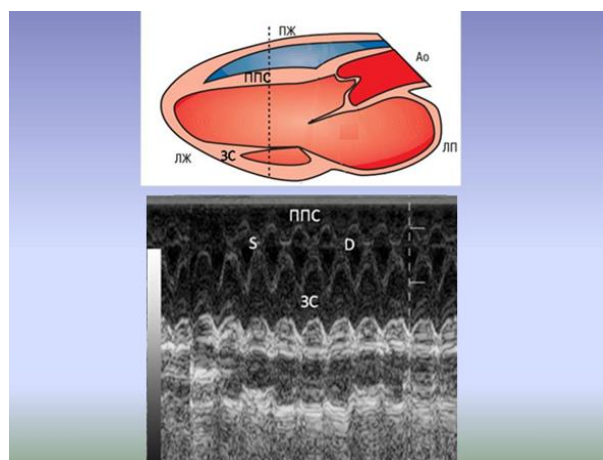


желудочек, межжелудочковую перегородку, полость левого желудочка, заднюю стенку левого желудочка, заднемедиальную папиллярную мышцу, справа визуализировали корень аорты, часть восходящего отдела аорты, две створки аортального клапана. Под аортой располагалось левое предсердие. В данной позиции хорошо визуализировались створки митрального клапана.

После получения оптимального изображения в В-режиме (рисунок 2А) переходили на М-режим (рисунок 2Б) и производили измерения полости левого желудочка на уровне хорд митрального клапана. На этом уровне ультразвуковой луч пересекает последовательно сверху вниз грудную клетку, переднюю стенку правого желудочка, межжелудочковую перегородку, полость ЛЖ, наружный край створок митрального клапана, или хорды, заднюю стенку ЛЖ (рисунок 2Б).



А



Б

Примечание: А – В-режим; Б – М-режим.

Рисунок 2 – Эхокардиограмма наркотизированной (кетамин 100 мг/кг) интактной крысы, парастеральная позиция по длинной оси левого желудочка сердца

Преимуществом М-режима является возможность проведения линейных измерений в фазу диастолы и систолы, обеспечивающих возможность расчета показателей центральной гемодинамики, а также регистрация, в случае наличия, эхокардиографических признаков нарушений гемодинамики. Ограничением метода является необходимость соблюдения угла  $90^{\circ}$  с большой точностью. На графике М-развертки по вертикали откладывается расстояние, по горизонтали – время. Наличие в ультразвуковом приборе функции анатомического М-режима позволяет изменить направление курсора и получить график движения в различных плоскостях.

Проводя такого рода измерения, мы в первой серии экспериментов определили референтные показатели геометрии и инотропной функции сердца крыс. Величины этих показателей, полученные при обработке эхокардиограмм 160 крыс-самцов массой 160-250 г, приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Референтные величины эхокардиографических показателей геометрии и деятельности сердца интактных наркотизированных (кетамин 100 мг/кг в/б) самцов крыс массой 160-250 г (n=160)

Показатель	Минимум	Максимум	Медиана	Среднее арифметическое
КСР, мм	1,16	2,23	1,75	1,72
КСО, мм <sup>3</sup>	4,34	29,59	14,57	14,34
КДР, мм	2,93	4,93	3,62	3,65
КДО, мм <sup>3</sup>	65,38	289,93	120,23	125,96
СО, мм <sup>3</sup>	56,83	272,78	103,08	111,62
ФУ, %	44,3	68,0	51,9	52,6
ФВ, %	81,5	94,0	88,0	88,3

Величины эхокардиографических показателей, полученные в наших экспериментах, практически совпадают или близки к таковым, известным из литературы [14, 234, 194, 147, 98 и многие др.]. Вместе с тем следует отметить, что если по литературным данным показатели, характеризующие насосную функцию, например средние значения ФВ левого желудочка сердца, в большинстве исследований, также как и в наших, варьируют в пределах 75-90 %, то КСР и КДР

размеры левого желудочка существенно различаются – например КСР от  $1,2 \pm 0,06$  мм до  $6,5 \pm 0,3$  мм. Эти различия, скорее всего, обусловлены различием в массе тела, возрасте и линии животных, глубине наркоза, под которым проводится эхокардиографическое исследование, а также наличием/отсутствием у используемого средства для наркоза кардиодепрессивного действия. Такое предположение связано с тем, что из литературы известно, что для проведения эхокардиографических исследований достаточно часто животных наркотизируют, используя комбинации нескольких средств для наркоза, например комбинацию с ксилазина гидрохлоридом [153, 224, 300 и др.], который обладает кардиодепрессивным действием и может негативно влиять на результаты эхокардиографических измерений [272].

В настоящей серии экспериментов, также как и во всех хронических экспериментах, выполненных на крысах с закрытой грудной клеткой, эхокардиографические исследования проводились под «рауш»-наркозом, вызванным минимально эффективной дозой кетамина ( $\approx 70-100$  мг/кг, в/б), поскольку измерение показателей обычно не занимает более 5-7 минут.

На следующем этапе настоящей серии экспериментов, на следующие сутки после проведения эхокардиографического исследования животных забивали, после чего сердца извлекали для проведения морфометрических измерений, которые выполняли совместно с в.н.с. лаборатории лекарственной токсикологии нашего института к.б.н. А.В. Сорокиной. Отобранных случайным образом 10 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. Извлеченные сердца после окончания фиксации в 10%-ном забуференном растворе формалина и стандартной проводки заливали в парафиновые блоки и готовили гистологические срезы толщиной 5 мкм. Морфометрические измерения производили на поперечном срединном срезе сердца.

Как следует из полученных данных, у всех животных, включенных 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 (эхокардиография) 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.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что данные эхокардиографических измерений внутренних размеров левого желудочка сердца совпадают с таковыми, полученными при проведении морфометрических измерений. Не менее важно и то, что полученные эхокардиографические величины, характеризующие размеры и инотропную функцию левого желудочка сердца, хорошо соотносятся с таковыми, известными из литературы.

В следующей серии экспериментов в сравнительном аспекте изучили величины основных эхокардиографических показателей деятельности сердца самцов и самок крыс.

Анализ эхокардиографических показателей нелинейных самцов (n=160) и самок (n=20) крыс показал, что у самок размеры левого желудочка сердца значительно меньше, чем у самцов, в то время как показатели инотропной функции статистически значимо больше (таблица 2). Так, например, КСР и ФВ у самцов в среднем составляли  $1,72 \pm 0,01$  мм и  $88,3 \pm 0,2\%$ , соответственно, в то время как у самок эти показатели были равны  $1,31 \pm 0,03$  мм ( $p < 0,0001$ ) и  $91,1 \pm 0,4\%$  ( $p < 0,0001$ ).

Таблица 2 – Эхокардиографические показатели геометрии и инотропной функции левого желудочка сердца самцов и самок беспородных наркотизированных (кетамин 100 мг/кг, в/б) крыс

Пол крыс	n	Показатели			
		КСР, мм	КДР, мм	ФУ, %	ФВ, %
Самцы	160	$1,72 \pm 0,01$	$3,65 \pm 0,03$	$52,6 \pm 0,4$	$88,3 \pm 0,2$
Самки	20	$1,31 \pm 0,03$	$3,00 \pm 0,06$	$56,5 \pm 0,6$	$91,1 \pm 0,4$
		$p < 0,0001$	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$	$p < 0,0001$
Примечания: 1) Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; 2) P указано по отношению к самцам.					

Так как во многих случаях исследования по изучению влияния фармакологических веществ на функции сердца проводятся на крысах стока Wistar,

мы в следующей серии экспериментов в сравнительном аспекте оценили эхокардиографические показатели нелинейных самцов крыс ( $n=160$ ) с таковыми у крыс самцов стока Wistar ( $n=40$ ).

Анализ результатов экспериментов показал, что у крыс самцов стока Wistar размеры левого желудочка сердца статистически значимо меньше, а ФУ и ФВ больше, чем у нелинейных животных (таблица 3). Так, например, КСР и ФВ у нелинейных животных были в среднем равны  $1,72 \pm 0,01$  мм и  $88,3 \pm 0,2$  %, соответственно, в то время как у крыс стока Wistar эти показатели составляли  $1,58 \pm 0,03$  мм ( $p < 0,0001$ ) и  $89,6 \pm 0,4$  % ( $p = 0,0135$ ), соответственно. Однако эти различия малы и биологического значения не имеют. В обоих случаях величины измеренных показателей укладываются в референтные пределы значений для нелинейных животных.

Таким образом, измерения эхокардиографических показателей у крыс стока Wistar и нелинейных животных дают практически сопоставимые величины (таблица 3).

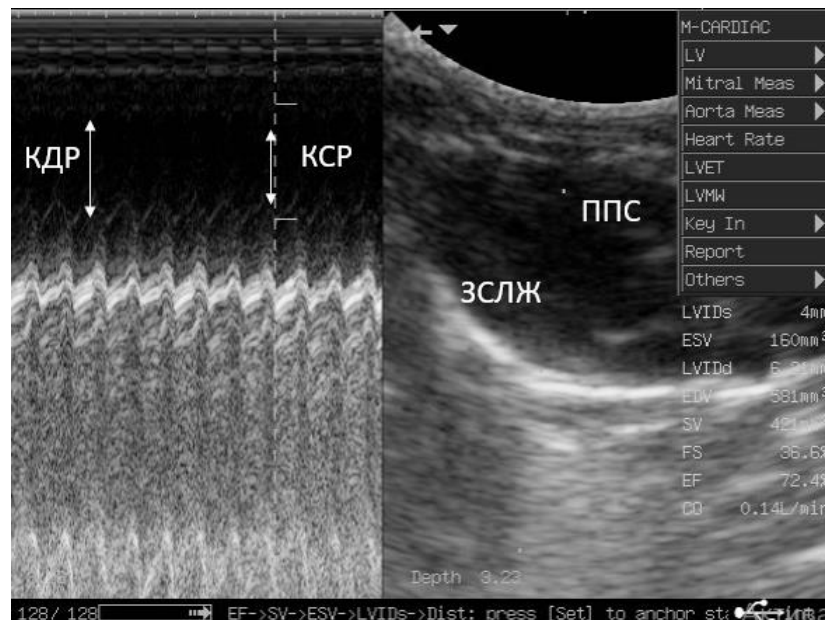
Таблица 3 – Эхокардиографические параметры наркотизированных (кетамин 100 мг/кг в/б) самцов крыс стока Wistar и нелинейных животных

Линия крыс	n	Показатели			
		КСР, мм	КДР, мм	ФУ, %	ФВ, %
Нелинейные	160	$1,72 \pm 0,01$	$3,65 \pm 0,03$	$52,6 \pm 0,4$	$88,3 \pm 0,2$
Wistar	40	$1,58 \pm 0,03$	$3,47 \pm 0,06$	$54,4 \pm 0,6$	$89,6 \pm 0,4$
		$p < 0,0001$	$p = 0,0041$	$p = 0,0233$	$p = 0,0135$
Примечания: 1 Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; 2 p указано по отношению к беспородным крысам.					

Проанализировав результаты этих и других эхокардиографических исследований, выполненных на крысах-самцах с закрытой грудной клеткой, находящихся на спонтанном дыхании, в дальнейшие исследования включали

только крыс, у которых значения ФВ, за минимальным исключением, колебалось в пределах 80 – 90%%, что позволяло после рандомизации и включения животных в эксперимент получать сопоставимые, репрезентативные опытные группы.

Для подтверждения возможности использования и валидности метода эхокардиографии для оценки размеров, объемов и инотропной функции левого желудочка сердца у мелких животных были оценены эхокардиографические показатели у самцов морских свинок (n=5) массой 230-280 г (рисунок 3). Полученные результаты свидетельствуют о том, что конечные внутренние размеры полости левого желудочка морских свинок самцов несколько больше, чем у крыс (например, КДР у крыс в среднем равен  $3,65 \pm 0,14$  мм, а у морских свинок –  $4,72 \pm 0,14$  мм), тогда как ФВ у морских свинок несколько ниже –  $71,6 \pm 1,8\%$  (таблица 4). По литературным данным у морских свинок ФВ колеблется в пределах 67,0-78,0% [94].



Примечание: слева направо: М-режим; В-режим.

Рисунок 3 – Эхокардиограмма наркотизированной (кетамин 100 мг/кг в/б) морской свинки, парастернальная позиция по длинной оси левого желудочка

Таблица 4 – Эхокардиографические параметры наркотизированных (кетамин 100 мг/кг в/б) самцов морских свинок (масса тела 230-280 г, n=5)

Показатель	Значения
КСР, мм	2,79±0,13
КДР, мм	4,72±0,14
ФУ, %	40,9±1,5
ФВ, %	71,6±1,8
Примечание – Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки.	

Таким образом, можно говорить о том, что у мелких животных с закрытой грудной клеткой, находящихся на самостоятельном дыхании, адекватно проведенное эхокардиографическое исследование позволяет получить достаточно точную информацию о размерах, объемах и инотропной функции левого желудочка сердца.

### 3.1.2 Выбор оптимальной позиции для эхокардиографических исследований на крысах с открытой грудной клеткой, находящихся на искусственном дыхании

В фармакологических исследованиях на сердце часто проводят острые эксперименты в условиях открытой грудной клетки и искусственного дыхания. В следующей серии экспериментов оценили правомочность использования метода эхокардиографии на крысах-самцах (n=10, масса 160-200 г) с открытой грудной клеткой, находящихся на искусственном дыхании ( $\approx$  180 мл/мин). После торако- и перикардотомии датчик устанавливали непосредственно на сердце. При этом выбирали угол наклона таким образом, чтобы получить на дисплее эхокардиографа оптимальное изображение стандартной парастернальной позиции в положении датчика по длинной оси левого желудочка.

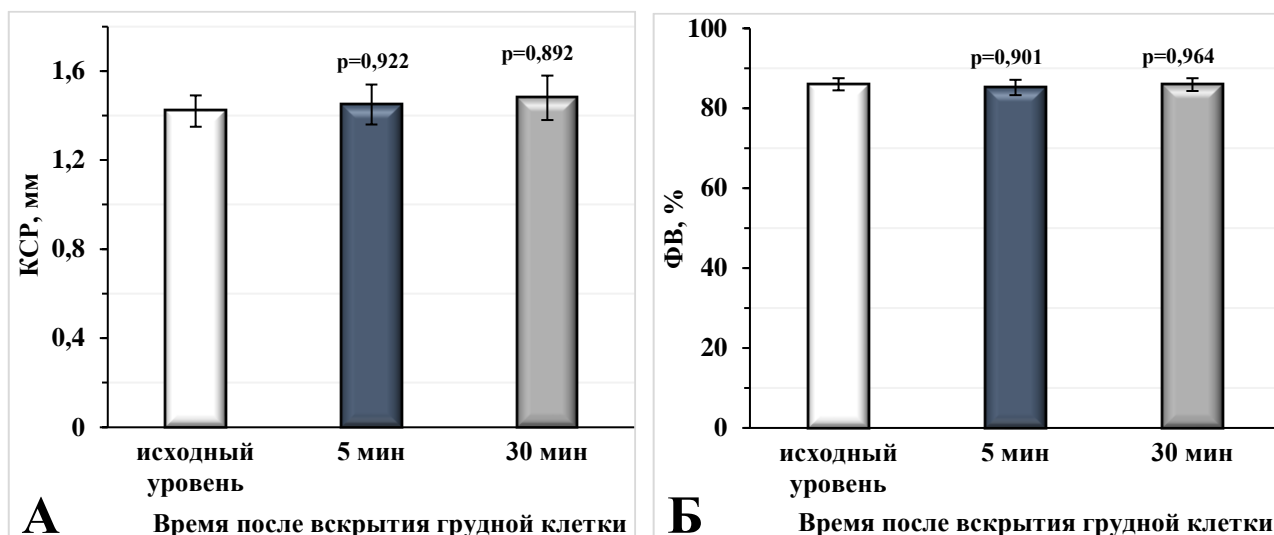
Как следует из полученных данных, перевод животных на искусственную вентиляцию легких, торако- и перикардотомия не оказывают существенного



влияния на регистрируемые эхокардиографические показатели (таблица 5, рисунок 4, 5). Отмечается лишь незначительное, статистически незначимое увеличение (менее 0,5 мм) КСР и КДР, что, по всей видимости, является последствием перикардотомии. В последующих сериях экспериментов (подробно см. подраздел 3.3.1) было продемонстрировано, что эхокардиографические показатели у животных с открытой грудной клеткой остаются стабильными, как минимум, в течение 1-го часа. Сравнить наши данные с литературными не представляется возможным, поскольку при обращении к базам данных библиотек PubMed и NCBI (запрос – echocardiography open chest rat t) ссылок на подобные публикации не найдено, хотя представлена работа, в которой говорится о том, что проведение эхокардиографии на открытом сердце технически невозможно [142].

Таблица 5 – Влияние торако- и перикардотомии на эхокардиографические параметры наркотизированных (уретан 1300 мг/кг в/б) крыс (масса тела 160-200 г, n=10)

Показатель	Исходный уровень	Уровень после перевода на искусственную вентиляцию	5 мин после вскрытия грудной клетки	30 мин после вскрытия грудной клетки
КСР, мм	1,42±0,07	1,44±0,09 p=0,957	1,45±0,12 p=0,922	1,48±0,1 p=0,892
КДР, мм	3,29±0,05	3,30±0,13 p=0,983	3,33±0,2 p=0,917	3,38±0,19 p=0,868
ФУ, %	53,6±1,9	53,5±2,7 p=0,969	53,2±1,1 p=0,897	53,4±1,7 p=0,952
ФВ, %	86,0±1,5	85,1±1,6 p=0,885	85,2±1,9 p=0,901	85,9±1,6 p=0,964
Примечания: 1 Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; 2 Р указано по отношению к исходному уровню.				



Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат ФВ в %. По оси абсцисс время после вскрытия грудной клетки в минутах. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки.

Рисунок 4 – Влияние торако- и перикардотомии на эхокардиографические показатели у наркотизированных крыс (уретан, 1300 мг/кг, в/б; n=5)

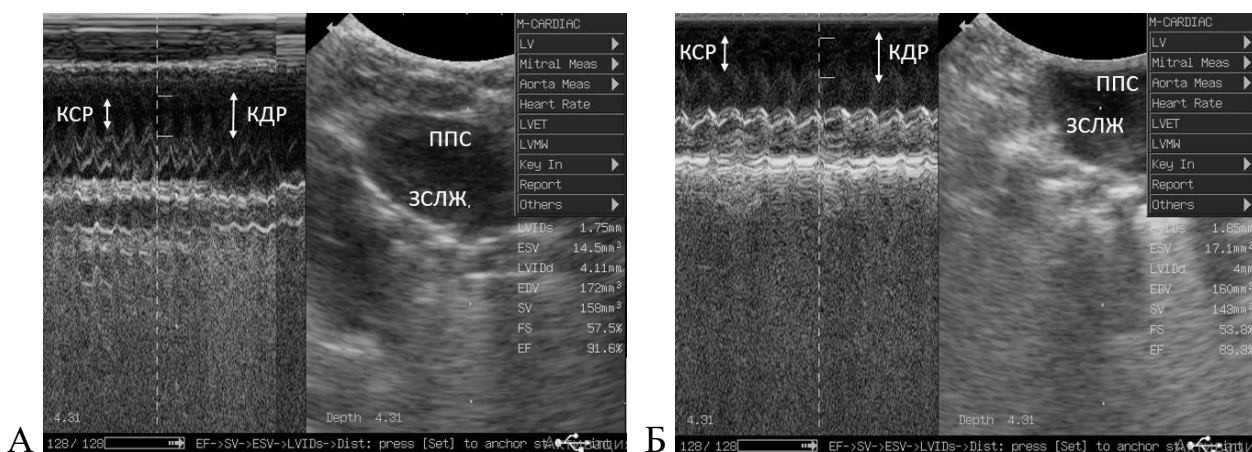


Рисунок 5 – Эхокардиограммы наркотизированной (уретан 1300 мг/кг в/б) крысы в парастеральной позиции по длинной оси левого желудочка сердца в условиях закрытой (А) и открытой (Б) грудной клетки

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что эхокардиография на мелких животных позволяет адекватно оценить размеры и инотропную функцию левого желудочка сердца, т.е. этот метод представляется валидным.

Результаты, изложенные в разделе 3.1, опубликованы в работах с соавторами [10, 12, 21].

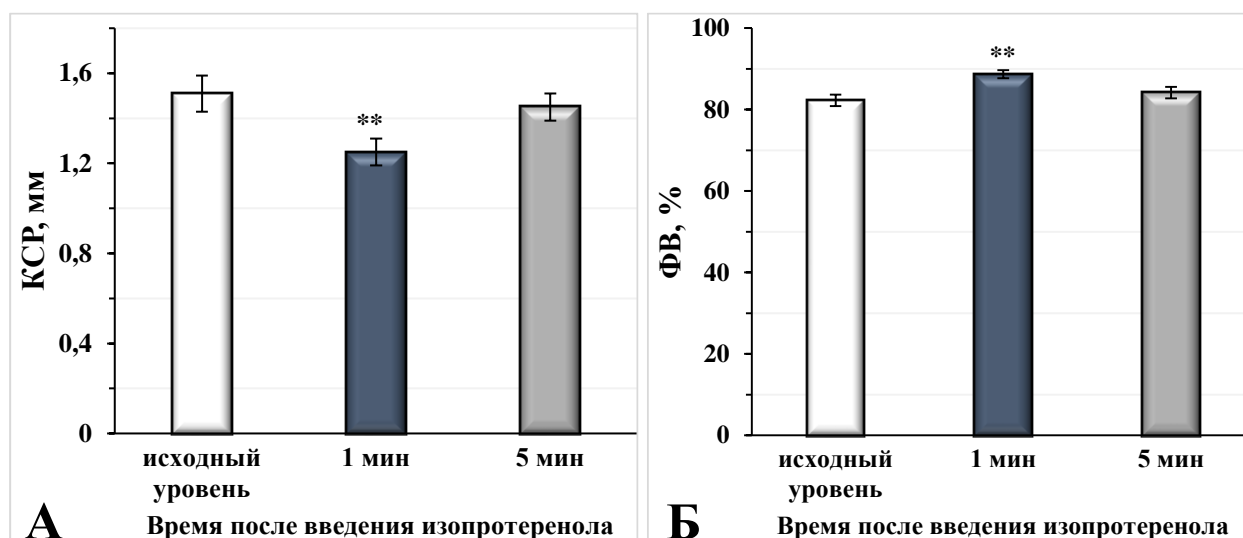
### 3.2 Доказательство возможности использования метода эхокардиографии на мелких животных для проведения острых фармакологических тестов

Оценка влияния потенциальных кардиотропных лекарственных средств на сократительную функцию сердца в острых фармакологических тестах является обязательным атрибутом доклинических исследований. Как правило, для этих целей используют инвазивные методы исследования: измеряют максимальную скорость нарастания внутрижелудочкового давления в фазу изометрического сокращения ( $dp/dt_{\text{макс}}$ ), что требует катетеризации левого желудочка сердца, 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. Естественно, что использование достаточно травматичных процедур, приводящих или к нарушению функциональной активности аортального клапана, или к сдавлению дуги аорты, может негативно влиять, а при определенных условиях и исказить результаты исследований. Безусловно, использование для этой цели неинвазивных методов исследования, например, эхокардиографии, представляется предпочтительней. В литературе (библиотека PubMed) не приводится сообщений об использовании эхокардиографии при проведении острых фармакологических тестов, оценивающих влияние вновь синтезированных соединений на инотропную функцию сердца. В настоящем исследовании мы предприняли попытку оценить возможность использования эхокардиографии при проведении острых фармакологических тестов на крысах-самцах со спонтанным дыханием.

#### 3.2.1 Острый фармакологический тест с неселективным агонистом $\beta_{1,2}$ -адренорецепторов изопротеренолом

Агонисты  $\beta$ -адренорецепторов, активируя  $\beta_1$ -рецепторы, встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов, оказывают мощное положительное ино- и хронотропное действие и наряду с сердечными гликозидами являются эталонными

препаратами для оценки инотропного действия потенциальных кардиотонических средств. Эксперименты были выполнены на анестезированных (уретан, 1300 мг/кг в/б) крысах-самцах (n=5) массой 160-180 г. У всех включенных в исследование животных исходные значения ФВ согласно данным эхокардиографии не выходили за пределы референтных величин. В качестве эталонного средства с положительной инотропной активностью использовали неселективный агонист  $\beta_{1,2}$ -адренорецепторов ультракороткого действия изопротеренол, который вводили в/в болюсом в дозе 20 мкг/кг. Показано, что через 1 минуту после окончания введения изопротеренола происходит значимое по сравнению с фоном перед введением увеличение ЧСС (с  $389 \pm 16$  уд/мин до  $450 \pm 18$  уд/мин;  $p=0,003$ ) и показателей, характеризующих систолическую (инотропную) функцию левого желудочка сердца: ФУ увеличилась с  $46,5 \pm 1,5\%$  до  $52,1 \pm 1,5\%$  ( $p=0,0007$ ), а ФВ – с  $82,3 \pm 1,4\%$  до  $88,7 \pm 1,0\%$  ( $p=0,0009$ ) (таблица 6, рисунок 6, 7).



Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат ФВ в %. По оси абсцисс в обоих случаях время после введения изопротеренола в минутах. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \*\* –  $p < 0,01$  по отношению к исходному уровню

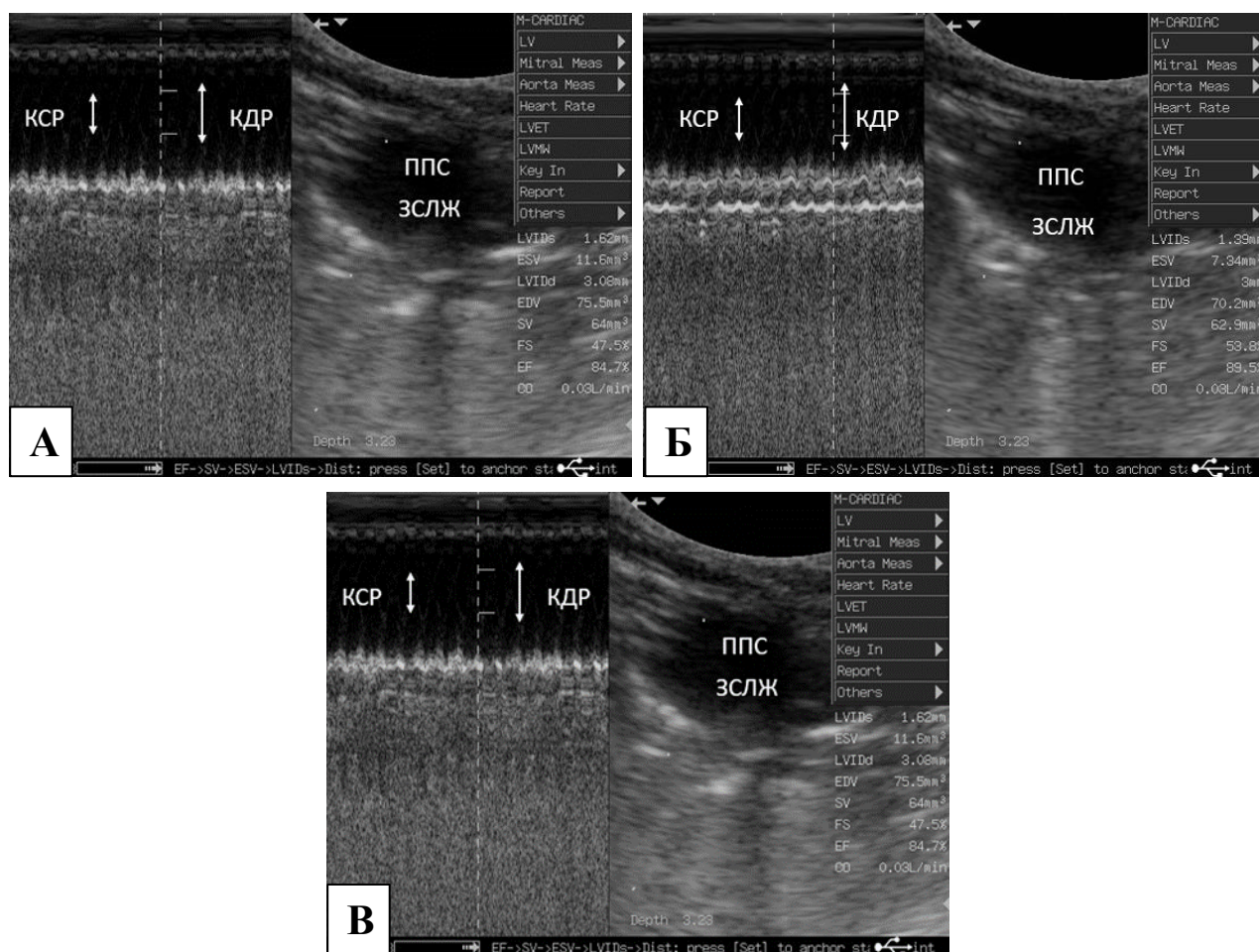
Рисунок 6 – Влияние изопротеренола (20 мкг/кг, в/в, болюсом) на эхокардиографические показатели у наркотизированных крыс (уретан, 1300 мг/кг, в/б; n=5)

Таблица 6 – Влияние изопротеренола (20 мкг/кг, в/в, боллюсом) на эхокардиографические показатели у наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг в/б; n=5)

Показатель	Исходный уровень	Через 1 минуту после введения	Через 5 минут после введения
ЧСС, уд/мин	389±16	450±18 p=0,003	399±18 p>0,1
КСР, мм	1,51±0,08	1,25±0,06 p=0,0002	1,45±0,06 p>0,2
КСО, мм <sup>3</sup>	9,68±1,48	5,51±0,83 p=0,0013	8,71±1,22 p>0,2
КДР, мм	2,82±0,11	2,60±0,10 p=0,0086	2,82±0,07 p>0,2
КДО, мм <sup>3</sup>	59,42±6,53	47,18±5,87 p=0,001	59,01±4,55 p>0,2
УО, мм <sup>3</sup>	49,74±5,28	41,66±5,17 p=0,031	50,30±3,67 p>0,2
МО, мл	19,4±1,7	19,0±1,6 p>0,9	20,1±1,4 p>0,9
ФУ, %	46,5±1,5	52,1±1,5 p=0,0007	48,5±1,7 p>0,2
ФВ, %	82,3±1,4	88,7±1,0 p=0,041	84,2±1,4 p>0,2
<i>Примечания:</i>			
1 Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки;			
2 p – указано по отношению к исходному уровню.			

Помимо этого, зарегистрированы известные из классической фармакологии характерные для β-адреномиметиков изменения показателей, отражающих

состояние внутрисердечной гемодинамики [126]: так, например, КСО левого желудочка сердца снижается по сравнению фоном перед введением с  $9,68 \pm 1,48$  до  $5,51 \pm 0,83$  мм<sup>3</sup> ( $p=0,0013$ ).



Примечание: А – исходный уровень; Б – через 1 мин после введения изопротеренола; В – через 5 мин после введения изопротеренола

Рисунок 7 – ЭхоКГ, иллюстрирующие влияние изопротеренола (20 мкг/кг в/в) на эхокардиографические показатели наркотизированной (уретан 1300 мг/кг в/б) крысы

Согласно полученным результатам, длительность действия изопротеренола, введенного однократно болюсом, незначительна, и уже через 5 минут после окончания его введения все регистрируемые показатели практически не

отличаются от фона (таблица 6, рисунок 6), что полностью соответствует известным из литературы фармакокинетическим характеристикам препарата.

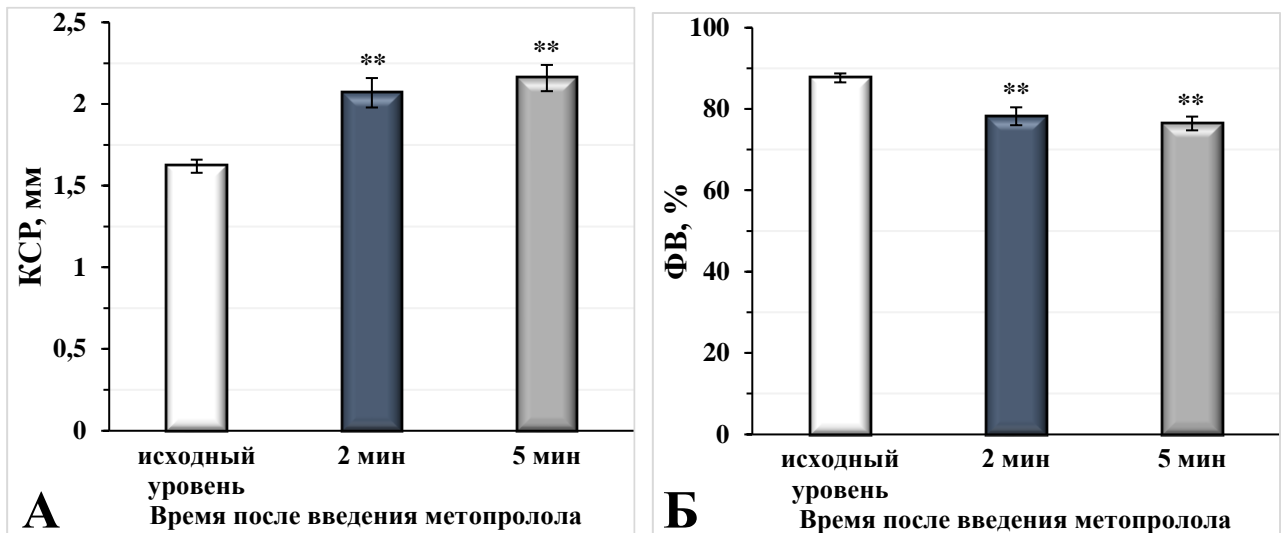
### 3.2.2 Острый фармакологический тест с селективным антагонистом $\beta_1$ -адренорецепторов метопрололом

Антагонисты  $\beta$ -адренорецепторов, блокируя  $\beta_1$ -рецепторы, встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов, оказывают выраженное отрицательное инотропное и хронотропное действие и широко используются в качестве эталонных препаратов при изучении соединений, снижающих сократительную способность миокарда и тем самым понижающих его потребность в кислороде. Эксперименты были выполнены на анестезированных (уретан, 1300 мг/кг в/б) крысах-самцах ( $n=5$ ) массой 160-180 г. У всех включенных в исследование животных исходные значения ФВ согласно данным эхокардиографии не выходили за пределы референтных величин. В качестве эталонного средства с отрицательной инотропной активностью использовали селективный антагонист  $\beta_1$ -адренорецепторов метопролол, который вводили в/в в дозе 2,0 мг/кг. Показано, что метопролол вызывает статистически значимую брадикардию (ЧСС уменьшилась с  $457 \pm 16$  уд/мин до  $389 \pm 23$  уд/мин;  $p=0,0003$ ) и снижение систолической функции левого желудочка сердца (таблица 7, рисунок 8). Так, через 2 минуты после окончания введения препарата ФУ снизилась по сравнению с фоном с  $51,3 \pm 1,5$  до  $41,1 \pm 2,0$  % ( $p=0,0008$ ), а ФВ – с  $87,6 \pm 1,1$  до  $78,2 \pm 2,2$ % ( $p=0,0015$ ). Также зарегистрированы характерные для  $\beta$ -адреноблокаторов изменения геометрии левого желудочка сердца [222] – увеличение по сравнению с фоном КСР и КДР соответственно с  $1,62 \pm 0,04$  мм до  $2,07 \pm 0,09$  мм ( $p=0,0026$ ) и с  $3,33 \pm 0,10$  мм до  $3,51 \pm 0,10$  мм ( $p=0,037$ ). Через 5 минут после окончания введения препарата его кардиодепрессивные эффекты полностью сохраняются (таблица 7, рисунок 8, 9), что совпадает с данными фармакокинетики, свидетельствующими о том, что  $T_{1/2}$  метопролола при внутривенном введении колеблется в пределах 3-5 часов.

Таблица 7 – Влияние метопролола (2,0 мг/кг, в/в) на эхокардиографические показатели наркотизированных крыс (уретан, 1300 мг/кг в/б; n=5)

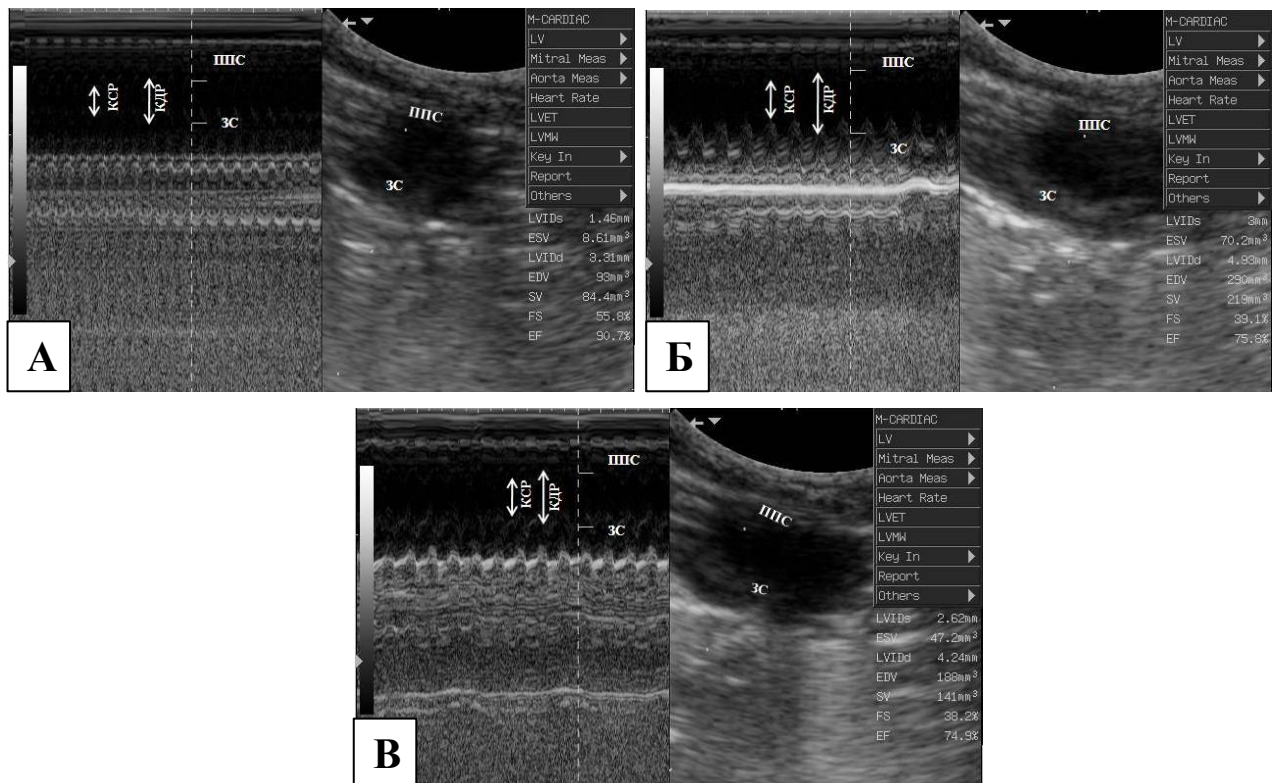
Показатель	Исходный уровень	Через 2 минуты после введения	Через 5 минут после введения
ЧСС, уд./мин	457±16	389±23 p=0,0003	367±22 p=0,0002
КСР, мм	1,62±0,04	2,07±0,09 p=0,0026	2,16±0,08 p=0,0022
КСО, мм <sup>3</sup>	11,62±0,84	24,14±3,14 p=0,0053	27,25±3,05 p=0,0037
КДР, мм	3,33±0,10	3,51±0,10 p=0,037	3,56±0,12 p=0,034
КДО, мм <sup>3</sup>	95,21±8,79	111,15±9,29 p=0,038	115,78±11,76 p=0,030
УО, мм <sup>3</sup>	83,59±8,58	87,00±8,24 p=0,340	88,54±9,77 p=0,354
МО, мл	37,94±3,35	33,45±2,46 p=0,035	32,17±2,99 p=0,027
ФУ, %	51,3±1,5	41,1±2,0 p=0,0008	39,4±1,5 p=0,0007
ФВ, %	87,6±1,1	78,2±2,2 p=0,0015	76,4±1,7 p=0,0012
Примечания: 1 Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; 2 Р указано по отношению к исходному уровню.			





Примечание: А – по оси ординат КСП в мм; Б – по оси ординат ФВ в %. По оси абсцисс в обоих случаях время после введения метопролола в минутах. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \*\* –  $p < 0,01$  по отношению к исходному уровню

Рисунок 8 – Влияние метопролола (2,0 мг/кг, в/в, болюсом) на эхокардиографические показатели у наркотизированных крыс (уретан, 1300 мг/кг, в/б;  $n=5$ )



Примечание: А – исходный уровень; Б – через 1 мин после введения метопролола; В – через 5 мин после введения метопролола

Рисунок 9 – ЭхоКГ, иллюстрирующие влияние метопролола (1,0 мг/кг в/в) на эхокардиографические показатели наркотизированной (уретан 1300 мг/кг в/б) крысы

Таким образом, полученные результаты 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  $dp/dt_{\text{макс}}$  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 действия лекарственных средств, влияющих на сократительный статус миокарда.

Результаты, изложенные в разделе 3.2, опубликованы в работе с соавторами [11].

### **3.3 Изучение возможности использования метода эхокардиографии на мелких животных для оценки эффектов фармакологических средств при коронарогенной патологии миокарда**

Хорошо известно, что острое нарушение коронарного кровотока – инфаркт миокарда (ИМ), – сопровождается комплексом функциональных и структурных изменений ишемизированного и интактного отделов сердечной мышцы, называемым ранним постишемическим ремоделированием миокарда. Изменения функции, структуры и геометрии ЛЖ сердца влекут за собой развитие острой, а в дальнейшем и хронической сердечной недостаточности, а их интенсивность прямо

коррелирует с риском внезапной коронарной смерти. Несмотря на всю актуальность этой проблемы, до настоящего времени не существует лекарственных средств, способных эффективно препятствовать развитию постинфарктного ремоделирования миокарда, что делает крайне актуальным внедрение в широкую практику доклинических фармакологических исследований методических приемов, позволяющих в реальном масштабе времени, в динамике оценить как этапы формирования этого патологического процесса, так и возможность его коррекции кардиотропными веществами. Одним из возможных инструментов для оценки степени ремоделирования миокарда является эхокардиография.

Целью настоящего этапа работы явилось изучение возможности использования эхокардиографии на мелких животных (крысы) для оценки этапов формирования постинфарктного ремоделирования миокарда как в острых, так и в хронических экспериментах, а также возможности коррекции выявленных нарушений при помощи кардиотропных лекарственных средств.

### 3.3.1 Доказательство возможности использования метода эхокардиографии для оценки эффективности фармакологических средств на модели острой ишемии миокарда

Оценку возможности использования метода эхокардиографии на открытом сердце крысы для оценки эффективности кардиотропных лекарственных средств в условиях модельных экспериментов, воспроизводящих острейшую фазу ИМ, проводили в два этапа. На первом этапе изучили возможность в динамике выявить патогномичные для острой ишемии миокарда изменения геометрии левого желудочка сердца и его инотропной функции, а на втором – возможность коррекции выявленных нарушений фармакологическими агентами.

#### *3.3.1.1 Оценка эхокардиографических показателей у крыс с одномоментной окклюзией коронарной артерии*

Опыты проводили на беспородных крысах-самцах массой 300-350 г, анестезированных уретаном (1300 мг/кг, в/б). В эксперимент были включены

только те животные, у которых согласно данным эхокардиографических исследований исходные значения ФВ не выходили за пределы референтных величин. Анестезированных животных интубировали и переводили на искусственное дыхание ( $\approx 180$  мл/мин) при помощи аппарата искусственной вентиляции легких для мелких животных (Ugo Basele, Италия). После торако- и перикардотомии под переднюю ветвь левой коронарной артерии на 0,5-1 мм ниже ее выхода из-под ушка сердца подводили лавсановую лигатуру № 3/0. У контрольных (ложнооперированных) животных ( $n=6$ ) лигатура оставалась под коронарной артерией на протяжении всего эксперимента, а у крыс основной группы ( $n=12$ ) после подведения лигатуры производили одномоментную перевязку коронарной артерии. Эхокардиографическую оценку динамики изменения геометрии левого желудочка производили до и сразу же после вскрытия грудной клетки, через 3, 10, 20, 30, 45 и 60 минут от момента перевязки коронарной артерии. Помимо этого, в динамике оценили состояние геометрии ЛЖ сердца у интактных животных ( $n=5$ ) с открытой грудной клеткой.

Как следует из полученных данных, у интактных животных ( $n=5$ ) вскрытие грудной клетки и перикардотомия не оказывали существенного влияния на инотропную функцию левого желудочка сердца (таблица 8), отмечалось лишь незначительное, статистически незначимое увеличение КСР и КДР, что, скорее всего, связано с перикардотомией.

У ложнооперированных животных ( $n=6$ ) в течение всего периода наблюдения (60 мин) регистрируемые показатели также существенно не изменялись (таблица 8). Так, например, величина ФВ до подведения лигатуры и через 3, 20, и 60 минут составила соответственно  $90,4 \pm 1,1$ ;  $90,7 \pm 0,9$ ;  $90,3 \pm 0,9$  и  $90,4 \pm 1,2$  %, а величина КСР – соответственно  $1,86 \pm 0,14$ ;  $1,93 \pm 0,07$ ;  $2,01 \pm 0,08$ ; и  $1,85 \pm 0,06$  мм.

Таблица 8 – Изменение геометрии и инотропной функции левого желудочка сердца в условиях острого экспериментального инфаркта миокарда у наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг в/б)

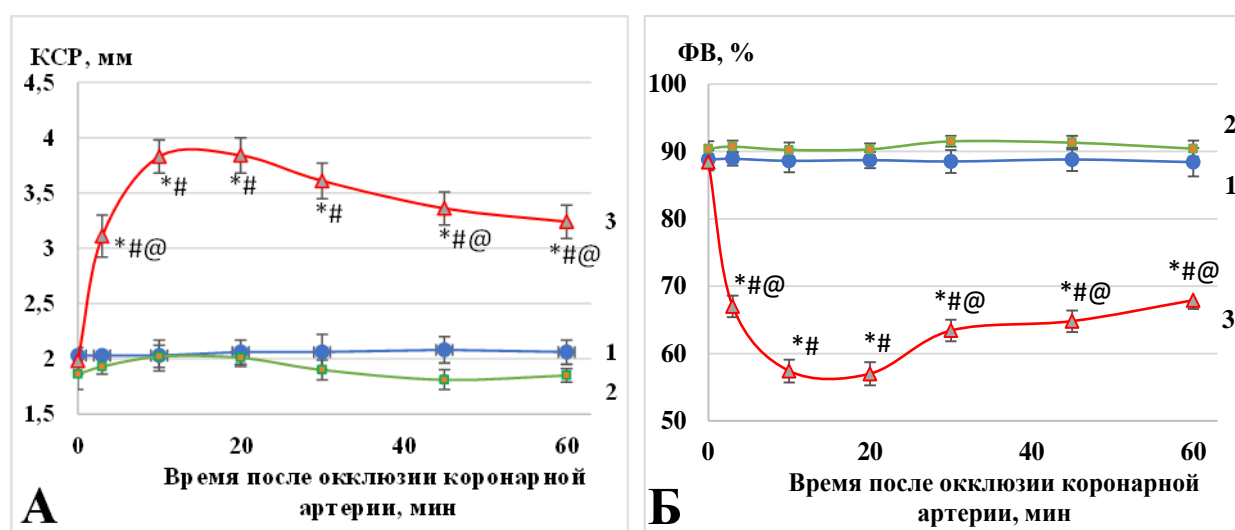
Условия	Показатель	До вскрытия грудной клетки	После вскрытия грудной клетки	Время после окклюзии коронарной артерии, минуты					
				3	10	20	30	45	60
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Интактные крысы, n=5	КСР, мм	2,01±0,12	2,03±0,13 p <sub>1</sub> =0,947	2,03±0,9 p <sub>1</sub> =0,969	2,03±0,14 p <sub>1</sub> =0,969	2,06±0,11 p <sub>1</sub> =0,812	2,06±0,16 p <sub>1</sub> =0,795	2,08±0,12 p <sub>1</sub> =0,713	2,06±0,11 p <sub>1</sub> =0,801
	КДР, мм	4,38±0,11	4,39±0,18 p <sub>1</sub> =0,980	4,41±0,20 p <sub>1</sub> =0,911	4,46±0,15 p <sub>1</sub> =0,859	4,46±0,21 p <sub>1</sub> =0,775	4,44±0,15 p <sub>1</sub> =0,803	4,47±0,24 p <sub>1</sub> =0,796	4,46±0,22 p <sub>1</sub> =0,783
	ФУ, %	52,9±1,8	52,8±1,6 p <sub>1</sub> =0,987	52,8±1,9 p <sub>1</sub> =0,972	52,6±2,0 p <sub>1</sub> =0,880	52,6±2,3 p <sub>1</sub> =0,901	52,5±2,0 p <sub>1</sub> =0,854	52,5±2,1 p <sub>1</sub> =0,862	52,3±2,2 p <sub>1</sub> =0,727
	ФВ, %	88,9±1,2	88,8±1,4 p <sub>1</sub> =0,992	88,9±1,0 p <sub>1</sub> =0,999	88,6±1,7 p <sub>1</sub> =0,983	88,7±1,2 p <sub>1</sub> =0,920	88,5±1,7 p <sub>1</sub> =0,894	88,8±1,7 p <sub>1</sub> =0,972	88,4±2,1 p <sub>1</sub> =0,911
Ложная операция, n=6	КСР, мм	1,84±0,9	1,86±0,14 p <sub>1</sub> =0,951	1,93±0,07 p <sub>1</sub> =0,698	2,02±0,10 p <sub>1</sub> =0,451	2,01±0,08 p <sub>1</sub> =0,379	1,90±0,09 p <sub>1</sub> =0,649	1,81±0,09 p <sub>1</sub> =0,891	1,85±0,06 p <sub>1</sub> =0,958
	КДР, мм	4,19±0,17	4,19±0,22 p <sub>1</sub> =0,990	4,43±0,13 p <sub>1</sub> =0,427	4,55±0,14 p <sub>1</sub> =0,269	4,54±0,13 p <sub>1</sub> =0,263	4,48±0,13 p <sub>1</sub> =0,349	4,24±0,07 p <sub>1</sub> =0,938	4,22±0,12 p <sub>1</sub> =0,858
	ФУ, %	56,0±1,0	55,8±1,6 p <sub>1</sub> =0,933	56,3±1,5 p <sub>1</sub> =0,960	55,7±1,8 p <sub>1</sub> =0,950	55,7±1,4 p <sub>1</sub> =0,997	57,7±1,4 p <sub>1</sub> =0,847	57,3±1,7 p <sub>1</sub> =0,856	55,9±1,8 p <sub>1</sub> =0,938
	ФВ, %	90,5±1,4	90,4±1,1 p <sub>1</sub> =0,971	90,7±0,9 p <sub>1</sub> =0,961	90,2±1,1 p <sub>1</sub> =0,989	90,3±0,9 p <sub>1</sub> =0,928	91,5±0,8 p <sub>1</sub> =0,863	91,3±1,0 p <sub>1</sub> =0,877	90,4±1,2 p <sub>1</sub> =0,967

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Острый инфаркт миокарда, n=12	КСР, мм	1,95±0,09	1,98±0,12 p=0,506 p <sub>1</sub> =0,914	3,11±0,19 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	3,83±0,15 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,973	3,84±0,16 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	3,61±0,16 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,145	3,36±0,15 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,003	3,24±0,15 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
	КДР, мм	4,20±0,15	4,22±0,19 p=0,912 p <sub>1</sub> =0,926	4,59±0,27 p=0,596 p <sub>1</sub> =0,071 p <sub>2</sub> =0,003	5,17±0,17 p=0,044 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,619	5,27±0,23 p=0,040 p <sub>1</sub> <0,001	5,15±0,22 p=0,049 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,561	4,87±0,22 p=0,060 p <sub>1</sub> =0,004 p <sub>2</sub> =0,069	4,83±0,21 p=0,058 p <sub>1</sub> =0,005 p <sub>2</sub> =0,053
	ФУ, %	53,3±1,2	53,2±1,7 p=0,225 p <sub>1</sub> =0,978	32,3±1,1 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	26,0±1,0 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	27,1±1,1 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	29,9±1,1 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	30,8±1,1 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	32,9±0,9 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
	ФВ, %	88,6±1,0	88,4±1,2 p=0,221 p <sub>1</sub> =0,990	67,0±1,6 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	57,4±1,7 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,414	59,0±1,7 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	63,4±1,6 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,035	64,8±1,6 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,008	67,9±1,3 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001

*Примечания:*

- 1 В таблице представлены средние арифметические и их стандартные ошибки;
- 2 p – по отношению к ложно оперированным крысам;
- 3 p<sub>1</sub> – по отношению к исходному уровню;
- 4 p<sub>2</sub> – по отношению к 20-й минуте после окклюзии коронарной артерии.

Одномоментная перевязка коронарной артерии повлекла за собой выраженные изменения систолической функции левого желудочка. На 3-й минуте после окклюзии коронарного сосуда КСР увеличился с  $1,98 \pm 0,12$  мм до  $3,11 \pm 0,19$  мм,  $p < 0,001$  (по отношению к ложнооперированным  $p < 0,001$ ), т.е. на 57%; ФВ уменьшилась с  $88,4 \pm 1,2$  до  $67,0 \pm 1,6$  %,  $p < 0,001$  (по отношению к ложнооперированным  $p < 0,001$ ), т.е. на 24 %. (таблица 8, рисунок 10, 11).



Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат ФВ в %. По оси абсцисс в обоих случаях время после окклюзии коронарной артерии в минутах. 1 – интактные крысы (n=5), 2 – ложнооперированные (n=6), 3 – крысы с ОИМ (n=12). Представлены средние арифметические. \* –  $p < 0,05$  по отношению к ложнооперированным крысам; # –  $p < 0,05$  по отношению к исходному уровню; @ –  $p < 0,05$  по отношению к уровню на 20-й минуте.

Рисунок 10 – Влияние ОИМ на геометрию и инотропную функцию левого желудочка сердца наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг/ в/б)

Таким образом, практически сразу же после одномоментной перевязки коронарной артерии происходит резкое, статистически значимое падение систолической функции левого желудочка. Показано, что этот процесс динамически нарастает во времени и достигает своего максимума в период с 10-й по 20-ю минуту после перевязки (таблица 8, рисунок 10, 11). Так, на 20-й минуте ишемии КСР увеличился с  $1,98 \pm 0,12$  мм до  $3,84 \pm 0,16$  мм,  $p < 0,001$  (по отношению к ложнооперированным  $p < 0,001$ ), т.е. в 2 раза; КДР увеличился с  $4,22 \pm 0,19$  мм до

$5,27 \pm 0,23$  мм –  $p < 0,001$  (по отношению к ложнооперированным  $p < 0,040$ ), т.е. на 25%, а ФВ уменьшилась с  $88,4 \pm 1,2$  % до  $59,0 \pm 1,7$  %,  $p < 0,001$  (по отношению к ложнооперированным  $p < 0,001$ ), т.е. на 33% (таблица 8, рисунок 10).

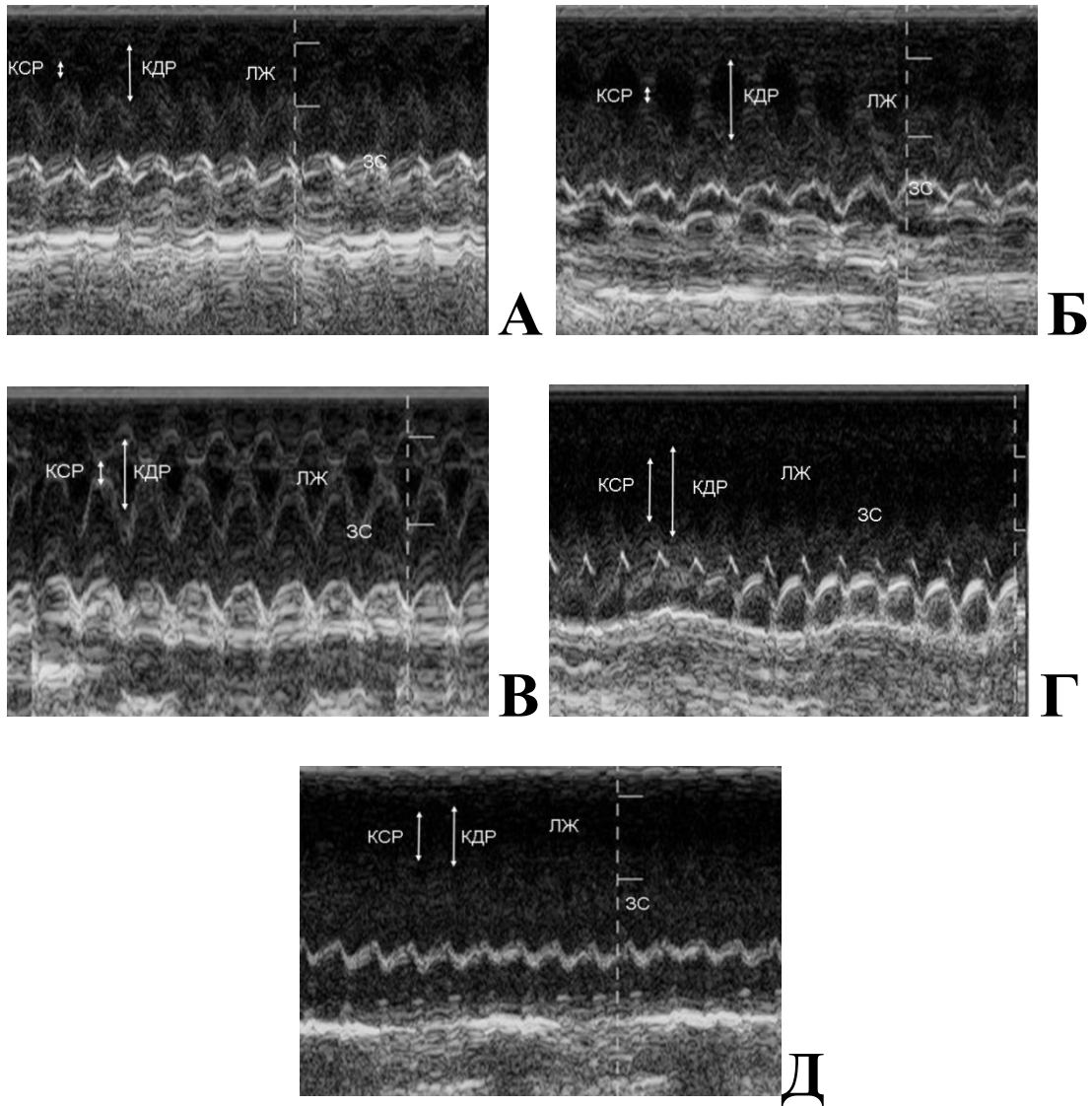


Рисунок 11 – Оригинальные ЭхоКГ крыс с острым инфарктом миокарда: А – ЛО-животные в исходном периоде; Б – через 20 мин после подведения лигатуры; В – через 60 мин; Г – контроль через 20 мин после окклюзии коронарной артерии; Д – через 60 мин

В период с 30-й по 60-ю минуту от момента перевязки коронарной артерии зарегистрировано постепенное относительное улучшение показателей, характеризующих систолическую функцию ЛЖ сердца (таблица 8, рисунок 10, 11), однако все они статистически значимо отличались от исходного уровня. Так, на 45-



й минуте от момента начала ишемии КСР был на 70% больше, чем на исходном уровне – соответственно  $3,36 \pm 0,15$  мм и  $1,98 \pm 0,12$  мм,  $p < 0,001$  (по отношению к ложноперирированным  $p < 0,001$ ), однако на 14% меньше, чем на 20-й минуте ишемии (соответственно  $3,36 \pm 0,15$  мм и  $3,84 \pm 0,16$  мм). ФВ уменьшилась по сравнению с исходным уровнем на 27% – соответственно  $64,8 \pm 1,6$  % и  $88,4 \pm 1,2$  %,  $p < 0,001$  (по отношению к ложноперирированным  $p < 0,001$ ), но была на 12% выше, чем на 20-й минуте ишемии (соответственно  $64,8 \pm 1,6$  и  $57,0 \pm 1,7$  %). Близкие величины, характеризующие систолическую функцию ЛЖ, были зарегистрированы и на 60-й минуте ишемии (таблица 8, рисунок 10, 11): КСР –  $3,24 \pm 0,15$  мм (исходный уровень –  $1,98 \pm 0,12$  мм, 20-я минута ишемии –  $3,84 \pm 0,16$  мм, по отношению к ложноперирированным  $p < 0,001$ ); ФВ –  $67,9 \pm 1,3$  % (исходный уровень –  $88,4 \pm 1,2$  %, 20-я минута –  $57,0 \pm 1,7$  %, по отношению к ложноперирированным  $p < 0,001$ ). В этот период изменения КДР по сравнению с ложноперирированными животными статистически не значимы (на 45-й мин  $p = 0,060$ , а на 60-й мин  $p = 0,058$ ) (таблица 8).

Как следует из полученных результатов, к 60-й минуте ишемии состояние насосной функции сердца относительно улучшалось и, что важно, регистрируемые показатели систолической функции ЛЖ статистически значимо отличались от таковых, зарегистрированных на 20-й минуте от момента перевязки коронарной артерии (таблица 8).

Таким образом, можно заключить, что острая одномоментная перевязка коронарной артерии в первые 60 минут после окклюзии вызывает развитие систолической дисфункции ЛЖ сердца, тогда как его диастолическая функция (по сравнению с ложноперирированными) изменяется существенно меньше и только в период с 10-й по 30-ю минуту от момента лигирования коронарного сосуда.

Динамика развития постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца достаточно хорошо изучена как в клинике, так и в эксперименте. Однако особенности раннего постишемического ремоделирования сердца в острейшую фазу ИМ (первые 60–90 мин) в клинике оценить достаточно сложно – как правило, пациенты поступают в стационар позже 1–1,5 ч от момента возникновения

ангинозного статуса, а в экспериментальных условиях оценку состояния систолической функции сердца с помощью эхокардиографии у животных с окклюзией коронарных артерий обычно начинают с 3–7-го дня [168, 152 и др.], реже – с первых суток [111] от момента воспроизведения ИМ, тогда как исследования, посвященные изучению особенностей состояния систолической функции ЛЖ сердца в острейшую фазу экспериментального ИМ практически отсутствуют.

Безусловно, полученные нами данные о резком падении насосной функции сердца в острейшую фазу ИМ нуждаются в дальнейшем подтверждении, однако следует отметить, что N. Saridakis и соавт. [262], которые оценивали влияние добутина на насосную функцию сердца в первые 75 мин ишемии, в контрольной серии экспериментов показали, что ФВ максимально снижается именно в первые минуты ишемии, а затем отмечается определенная тенденция к восстановлению. Однако не ясно, с чем может быть связано зафиксированное в наших экспериментах резкое относительно обратимое падение систолической функции в первые минуты ишемии. По всей видимости, этот феномен не носит рефлекторного характера и не обусловлен механической травмой миокарда, поскольку у ложнопериорированных животных после подведения лигатуры под коронарный сосуд каких-либо значимых изменений функций сердечной мышцы не наблюдалось.

Общеизвестно, что именно в острейшую фазу ИМ риск возникновения внезапной коронарной смерти максимально велик. У человека острейшая фаза ИМ начинается практически сразу после возникновения ангинозного статуса и продолжается в течение 2 ч. В этот же период регистрируется и максимальное число случаев внезапной коронарной смерти [90, 124]. Так, L. Kuller и соавт. сообщают, что на первые 2 ч ишемии приходится 72% случаев внезапной коронарной смерти (за 100% авторы приняли количество случаев внезапной смерти в 1-е сутки ИМ), из которых 61% был зарегистрирован в первый час заболевания [176]. Такая же динамика прослеживается и в экспериментальных исследованиях [149, 273]. Естественно, что у мелких животных вследствие особенностей

метаболизма остройшей фаза ИМ существенно короче и варьирует в пределах 30–40 мин. Показано, что у крыс в период с 1-й по 20-ю минуту ишемии, т.е. в остройшей фазу ИМ, риск возникновения фатальных желудочковых нарушений ритма максимально высок [109]. Большинство исследователей связывают этот феномен с возникновением на границе пограничной зоны ишемии очагов reentry, гетерогенной реполяризации желудочков сердца и т.д., т.е. электрофизиологическим ремоделированием миокарда, вследствие чего развиваются фатальные нарушения сердечного ритма [215]. Такая точка зрения представляется достаточно обоснованной и не вызывает каких-либо возражений. Вместе с тем хорошо известно, что показатель ФВ ЛЖ является независимым предиктором внезапной сердечной смерти [122, 259]. Показано, что чем ниже ФВ ЛЖ, тем выше риск внезапной сердечной смерти. Так, анализ ЭхоКГ-исследований более чем 180 тыс. пациентов показал, что при ФВ >50% (55–50%) риск возникновения внезапной смерти равен 1,4, при ФВ в пределах 41–50% – 2,8, при ФВ = 31–40% – 5,1, а при ФВ <30% возрастает в 7,5 раза [259].

Мы не располагаем данными о взаимосвязи ФВ и риска возникновения внезапной смерти у крыс, однако если экстраполировать полученные нами результаты на уровень риска возникновения внезапной смерти у пациентов с низкой ФВ, можно провести следующие параллели. В наших экспериментах в первые минуты ишемии ФВ понизилась с 88,4 до 57,4 %, т.е. практически на 35%. У здоровых людей ФВ выше 55%. Нетрудно подсчитать, что при таком снижении ФВ ее величина составит 33%. Как следует из цитируемой выше статьи [259], при данном уровне снижения ФВ риск возникновения внезапной смерти возрастает более чем в 5 раз. Если наша экстраполяция верна, то в первые минуты ишемии, т.е. в остройшей фазу экспериментального ИМ, у крыс в результате развития раннего постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца риск возникновения внезапной сердечной смерти возрастает более чем в 5 раз, что хорошо коррелирует с известными данными о том, что в первые часы от момента возникновения ИМ риск внезапной сердечной смерти, т.е. риск развития фатальных аритмий, достаточно высок. Согласно современным представлениям, в остройшей стадию

ИМ частота возникновения фатальных нарушений сердечного ритма существенно варьирует во времени [103], в силу чего выделяют как минимум 2 периода (в англоязычной литературе – фазы) максимального риска развития фибрилляции желудочков сердца. Показано, что в первый период, который у крыс начинается практически сразу после начала ишемии и продолжается, по разным источникам, от 15 до 20–30 мин, частота возникновения фибрилляции желудочков максимальная [109, 113] и к 60-й минуте значительно понижается. Эти данные достаточно хорошо согласуются с нашими теоретическими рассуждениями о том, что величина падения ФВ в первые минуты ишемии миокарда по времени совпадает с максимальным риском развития внезапной сердечной смерти.

Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные позволяют с уверенностью говорить о том, что эхокардиография у мелких животных с открытой грудной клеткой позволяет в динамике, в реальном масштабе времени оценить как этапы формирования патологического ремоделирования миокарда, так и характер нарушений сократительной функции левого желудочка сердца.

### *3.3.1.2 Эхокардиографическое изучение кардиопротективных эффектов селективного блокатора металлопротеиназ 2 и 9 типов на модели одномоментной окклюзии коронарной артерии*

На следующем этапе, в продолжение приведенного выше исследования, нами была предпринята попытка оценить возможность использования эхокардиографии у крыс с открытой грудной клеткой для оценки кардиопротективного действия лекарственных средств в условиях острейшей фазы ИМ.

Выбор эталонного препарата был проведен на основе анализа современных представлений о механизмах постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца. Известно, что ведущую роль в патогенезе постинфарктного ремоделирования миокарда играет повреждение/потеря внеклеточного матрикса (ВМ), обусловленное преимущественно деструкцией фибриллярных белков – коллагенов I и III типов. Деградация компонентов ВМ осуществляется матриксными

металлопротеиназами (ММП), относящимися к семейству внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз. В деструкции фибриллярных белков (коллагенов), составляющих основную массу ВМ, основную роль играют желатиназы – матриксные металлопротеиназы 2 и 9 типов (ММП-2 и ММП-9) [296, 190]. Документально доказано, что ММП-2 и ММП-9 экспрессируются в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и условно неповрежденных участках миокарда как в острую фазу инфаркта (0-7 день), в период раннего постинфарктного ремоделирования (7-21 день), так и в фазу позднего ремоделирования [296]. Недавно было показано, что помимо внеклеточного матрикса ММП-2 и ММП-9 локализуются в цитозоле, митохондриях и ядре кардиомиоцитов [125] и имеют многочисленные внутриклеточные мишени, которые в условиях ишемии под влиянием оксидативного стресса активируются в течение нескольких минут от ее начала [157]. Гиперэкспрессия цитозольной и ядерной ММП-2 приводит к уменьшению содержания титана в области Z-пластинки саркомеров кардиомиоцитов, деградации тропонина и легких цепей миозина-1, а в ядре клетки – поли(АДФ-рибоза)-полимеразы, что сопровождается как снижением тонуса, так и сократимости миокарда [264, 132]. Помимо этого, аналогичное действие может оказывать и локализованная в митохондриях кардиомиоцитов ММП-9, гиперэкспрессия которой приводит к подавлению дыхательной функции митохондрий и последующему нарушению энергообеспечения клетки [212].

Исходя из этого, в качестве эталонного препарата был выбран антибиотик тетрациклинового ряда доксициклин, который, помимо бактериостатического действия, селективно ингибирует ММП-2 и ММП-9 и широко применяется в экспериментальных исследованиях в качестве их ингибитора [155]. Доксициклин является первым ингибитором ММП, зарегистрированным Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) [277]. Помимо этого, имеются и клинические исследования, подтверждающие эффективность доксициклина у пациентов с острым ИМ [92]. Так, например в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании TIP TOP trial краткосрочная терапия доксициклином пациентов с

острым ИМ (ФВ<40%) значительно уменьшала негативное ремоделирование ЛЖ сердца [92].

В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований ФВ не выходила за пределы референтных величин.

Животные были рандомизированы на 3 группы: 1-я – ложноперирированные (n=6), 2-я – ИМ (n=12) и 3-я – ИМ +доксциклин (n=7). Животным 3-й группы доксициклин (40 мг/кг в 0,5 мл физиологического раствора) вводили через зонд в желудок 1 раз в сутки в течение 3 дней, предшествующих эксперименту. Крысы 1-й и 2-й групп получали аналогичный объем физиологического раствора. Эксперимент проводили так же, как описано в подразделе 3.3.1.1.

Как уже было отмечено выше (подраздел 3.3.1.1.), подведение под коронарную артерию лигатуры, которое было осуществлено в группе ложноперирированных животных, не оказывает какого-либо статистически значимого влияния на систолическую функцию ЛЖ (таблица 8, 9; рисунок 10, 12). Напротив, одномоментная перевязка левой нисходящей артерии вызывала грубые нарушения систолической функции ЛЖ сердца, достигавшие максимума к 20-й минуте ишемии, после чего его функция в определенной мере, в период с 30-й по 60-ю минуту, восстанавливалась (подробно см. подраздел 3.3.1.1) (таблица 8, 9; рисунок 10, 12).

В группе животных, получавших доксициклин (40 мг/кг, per os), одномоментная перевязка коронарной артерии также влекла за собой снижение систолической функции ЛЖ сердца, однако в первые 20 минут от момента начала ишемии интенсивность этого процесса была статистически значимо ниже (таблица 9, рисунок 12, 13).

Таблица 9 – Влияние доксициклина (40 мг/кг/сут., per os, в течение 3-х суток до окклюзии коронарной артерии) на геометрию и функцию сердца в условиях острого экспериментального инфаркта миокарда у наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг в/б)

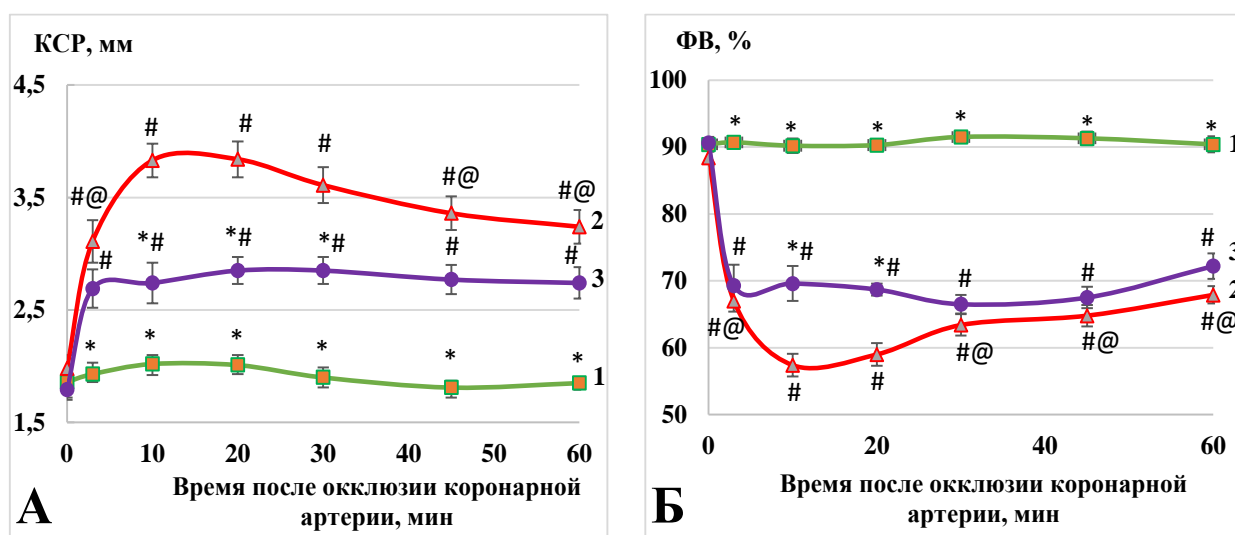
Условия	Показатель	Исходный уровень		Время после окклюзии коронарной артерии, минуты					
		до вскрытия	после вскрытия	3	10	20	30	45	60
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ложнооперированные крысы, n=6	КСР, мм	1,84±0,9	1,86±0,14 p=0,511 p <sub>1</sub> =0,951	1,93±0,07 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,698	2,02±0,10 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,451	2,01±0,08 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,379	1,90±0,09 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,649	1,81±0,09 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,891	1,85±0,06 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,958
	КДР, мм	4,19±0,17	4,19±0,22 p=0,905 p <sub>1</sub> =0,990	4,43±0,13 p=0,679 p <sub>1</sub> =0,427	4,55±0,14 p=0,044 p <sub>1</sub> =0,269	4,54±0,13 p=0,040 p <sub>1</sub> =0,263	4,48±0,13 p=0,049 p <sub>1</sub> =0,349	4,24±0,07 p=0,060 p <sub>1</sub> =0,938	4,22±0,12 p=0,058 p <sub>1</sub> =0,858
	ФУ, %	56,0±1,0	55,8±1,6 p=0,294 p <sub>1</sub> =0,933	56,3±1,5 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,960	55,7±1,8 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,950	55,7±1,4 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,997	57,7±1,4 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,847	57,3±1,7 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,856	55,9±1,8 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,938
	ФВ, %	90,5±1,4	90,4±1,1 p=0,239 p <sub>1</sub> =0,971	90,7±0,9 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,961	90,2±1,1 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,989	90,3±0,9 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,928	91,5±0,8 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,863	91,3±1,0 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,877	90,4±1,2 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,967
Острый инфаркт миокарда, n=12	КСР, мм	1,95±0,09	1,98±0,12 p <sub>1</sub> =0,914	3,11±0,19 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	3,83±0,15 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	3,84±0,16 p <sub>1</sub> <0,001	3,61±0,16 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,145	3,36±0,15 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,003	3,24±0,15 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
	КДР, мм	4,20±0,15	4,22±0,19 p <sub>1</sub> =0,926	4,59±0,27 p <sub>1</sub> =0,071 p <sub>2</sub> =0,003	5,17±0,17 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,619	5,27±0,23 p <sub>1</sub> <0,001	5,15±0,22 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,561	4,87±0,22 p <sub>1</sub> =0,004 p <sub>2</sub> =0,069	4,83±0,21 p <sub>1</sub> =0,005 p <sub>2</sub> =0,053
	ФУ, %	53,3±1,2	53,2±1,7 p <sub>1</sub> =0,978	32,3±1,1 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,002	26,0±1,0 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,485	27,1±1,1 p <sub>1</sub> <0,001	29,9±1,1 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,076	30,8±1,1 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,026	32,9±0,9 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
	ФВ, %	88,6±1,0	88,4±1,2 p <sub>1</sub> =0,990	67,0±1,6 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	57,4±1,7 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,414	59,0±1,7 p <sub>1</sub> <0,001	63,4±1,6 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,035	64,8±1,6 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,008	67,9±1,3 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001

Продолжение таблицы 9

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Острый инфаркт миокарда + доксциклин, n=7	КСР, мм	1,77±0,10	1,79±0,09 p=0,139 p <sub>1</sub> =0,924	2,69±0,17 p=0,239 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,113	2,74±0,18 p=0,006 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,979	2,85±0,12 p=0,007 p <sub>1</sub> <0,001	2,85±0,12 p=0,014 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,984	2,77±0,13 p=0,081 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,597	2,74±0,14 p=0,052 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,151
	КДР, мм	3,78±0,12	3,81±0,14 p=0,195 p <sub>1</sub> =0,903	4,24±0,24 p=0,402 p <sub>1</sub> =0,048 p <sub>2</sub> =0,275	4,75±0,23 p=0,143 p <sub>1</sub> =0,001 p <sub>2</sub> =0,668	4,66±0,16 p=0,071 p <sub>1</sub> =0,003	4,59±0,14 p=0,079 p <sub>1</sub> =0,006 p <sub>2</sub> =0,723	4,39±0,14 p=0,129 p <sub>1</sub> =0,040 p <sub>2</sub> =0,410	4,36±0,14 p=0,119 p <sub>1</sub> =0,034 p <sub>2</sub> =0,466
	ФУ, %	56,1±1,2	55,9±0,9 p=0,307 p <sub>1</sub> =0,936	34,1±2,2 p=0,423 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,605	34,3±1,8 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,710	32,4±0,6 p=0,005 p <sub>1</sub> <0,001	31,8±1,0 p=0,274 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,729	32,5±1,2 p=0,374 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,960	36,1±1,5 p=0,105 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,230
	ФВ, %	90,7±0,9	90,6±0,6 p=0,216 p <sub>1</sub> =0,989	69,3±3,1 p=0,458 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,691	69,6±2,6 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,778	68,7±0,9 p=0,002 p <sub>1</sub> <0,001	66,5±1,4 p=0,178 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,702	67,5±1,6 p=0,265 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,966	72,2±1,9 p=0,068 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,251
Примечания: 1 В таблице представлены средние арифметические и их стандартные ошибки; 2 p – по отношению к контрольным крысам с острым инфарктом миокарда; 3 p <sub>1</sub> – по отношению к исходному уровню; 4 p <sub>2</sub> – по отношению к 20-й минуте после окклюзии коронарной артерии.									



Так, например, на 20-й минуте ишемии у контрольных животных КСР увеличивался с  $1,98 \pm 0,12$  мм до  $3,84 \pm 0,16$  мм, т.е. в 2 раза, тогда как у животных, получавших доксициклин, увеличение КСР составило 59% (соответственно, с  $1,79 \pm 0,09$  до  $2,85 \pm 0,12$  мм) – различия статистически значимы ( $p=0,007$ ) (таблица 9, рисунок 12). К этому моменту у контрольных животных ФВ снизилась с  $88,4 \pm 1,2$  до  $59,0 \pm 1,7$  %, т.е. на 33%, а у животных, получавших доксициклин – лишь на 24% (соответственно с  $90,6 \pm 0,6$  до  $68,7 \pm 0,9$ %) – различия статистически значимы ( $p=0,002$ ) (таблица 9, рисунок 12, 13).



Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат ФВ в %. По оси абсцисс в обоих случаях время после окклюзии коронарной артерии. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. 1 – ложнооперированные крысы (n=6), 2 – контроль с ОИМ (n=12), 3 – крысы с ОИМ+доксициклин (n=7). \* –  $p < 0,05$  по отношению к контролю с ОИМ; # –  $p < 0,05$  по отношению к исходному уровню; @ –  $p < 0,05$  по отношению к уровню на 20-й минуте

Рисунок 12 – Влияние доксициклина (40 мг/кг/сут., per os в течение 3 суток до окклюзии коронарной артерии) на эхокардиографические показатели наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг/ в/б) в условиях ОИМ

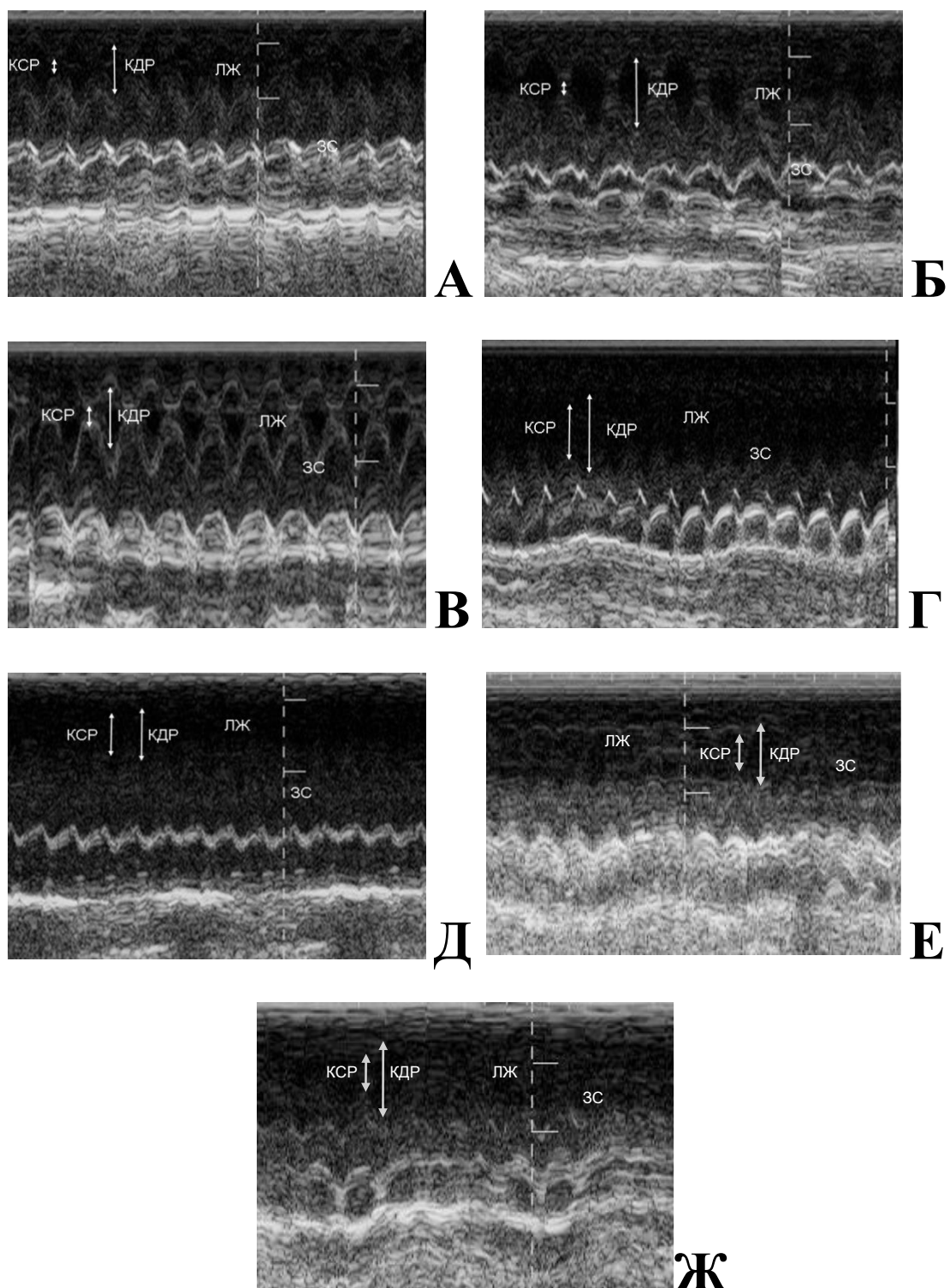


Рисунок 13 – Оригинальные ЭХоКГ, отражающие влияние доксициклина на геометрию и инотропную функцию левого желудочка сердца крыс с острым инфарктом миокарда: А – ложнооперированное животное в исходном периоде; Б – через 20 мин после подведения лигатуры; В – через 60 мин; Г – контроль ЭИМ через 20 мин после окклюзии коронарной артерии; Д – через 60 мин; Е – в группе доксициклина через 20 мин от момента окклюзии коронарной артерии; Ж – через 60 мин; ЗС – задняя стенка ЛЖ. Наркоз: уретан 1300 мг/кг, в/б

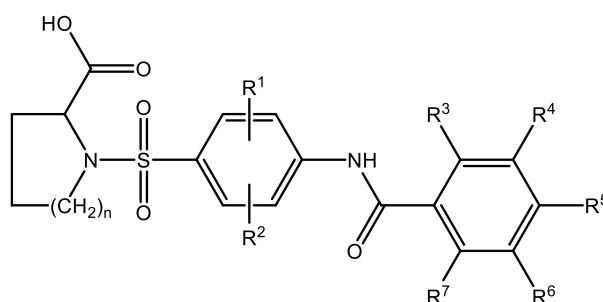
Начиная с 30-й минуты ишемии, показатели, характеризующие инотропную функцию ЛЖ сердца, в группе животных, получавших доксициклин, статистически значимо не отличались от таковых, зарегистрированных в это время в контрольной группе. Так, например, на 45-й минуте у крыс контрольной группы и животных, получавших доксициклин, ФУ уменьшилась по сравнению с фоном соответственно на 42,11 и 41,86 %%, а ФВ – соответственно 27 и 25,5 % (таблица 9). Близкие изменения зарегистрированы и на 60-й минуте ишемии (таблица 9, рисунок 12, 13). Вместе с тем следует отметить, что у животных получавших доксициклин, КСР на протяжении этого отрезка времени был значимо меньше чем в контроле.

Полученные данные свидетельствуют о том, что селективный ингибитор ММП-2 и ММП-9 доксициклин в условиях острой фазы экспериментального ИМ оказывает кардиопротективное действие, уменьшая степень ремоделирования ЛЖ сердца и поддерживая его инотропную функцию.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов позволяют говорить о том, что эхокардиография на мелких животных в условиях острого эксперимента дает возможность не только в реальном масштабе времени, в динамике оценить этапы формирования патологического ремоделирования ЛЖ сердца, но и оценить кардиопротективные эффекты лекарственных средств.

На следующем этапе этой серии экспериментов оценили возможность использования эхокардиографии при проведении отдельных этапов скрининга потенциальных кардиотропных лекарственных средств.

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова под руководством проф. Т.А. Гудашевой в ряду бензоиламино(фенилсульфонил)-замещенных циклических аминокислот был синтезирован ряд оригинальных молекул, потенциально обладающих свойствами ингибиторов ММП-2 и/или ММП-9, общей формулы:



В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований ФВ не выходила за пределы референтных величин.

Включенные в эксперимент крысы-самцы были рандомизированы на 7 групп: 1-я (n=12) – ложнооперированные, 2-я (n=6) – контрольная – ИМ, 3-я (n=7) – ИМ + эталонный препарат доксициклин, 4-я – 7-я группы (в каждой n=6) – ИМ + изучаемые соединения: соответственно АЛ-828, МЛ-269, МЛ-292, МЛ-293. Животным 3-й группы доксициклин (40 мг/кг в 0,5 мл физиологического раствора) вводили через зонд в желудок 1 раз в сутки в течение 3 дней, предшествующих эксперименту. Крысы 1-й и 2-й групп получали аналогичный объем физиологического раствора, а животные 4-й – 7-й групп – соответственно соединения АЛ-828, МЛ-269, МЛ-292, МЛ-293 в дозе 30 мг/кг.

Эксперимент был построен и статистически обрабатывался так же, как и в подразделе 3.3.1.2.

Показано, что одномоментная перевязка коронарной артерии вызывает значимую систолическую дисфункцию ЛЖ, достигающую максимума к 20-й минуте ишемии: на 3-й минуте после окклюзии коронарного сосуда КСР увеличился с  $1,98 \pm 0,12$  до  $3,11 \pm 0,19$  мм ( $p < 0,001$ ), а ФВ уменьшилась с  $88,4 \pm 1,2$  до  $67,0 \pm 1,6$  % ( $p < 0,001$ ) (таблица 10). Этот процесс динамически нарастает во времени и достигает своего максимума в период с 10-й по 20-ю минуту после перевязки. Так, например, к 20-й минуте КСР увеличился с  $1,98 \pm 0,12$  до  $3,84 \pm 0,16$  мм ( $p < 0,001$ ), а ФВ уменьшилась с  $88,4 \pm 1,2$  до  $59,0 \pm 1,7$  % ( $p < 0,0001$ ). В период с 30-й по 60-ю минуту от момента перевязки коронарной артерии отмечено постепенное относительное улучшение показателей, характеризующих систолическую функцию ЛЖ, однако все они статистически значимо отличались от исходного уровня. Как следует из приведенных данных, к 60-й минуте ишемии состояние насосной функции сердца относительно улучшалось, и, что важно, регистрируемые показатели систолической функции ЛЖ значительно отличались от таковых, зарегистрированных на 20-й минуте от момента перевязки коронарной артерии.

Таблица 10 – Влияние доксициклина, соединений АЛ-828, МЛ-269, МЛ-292, МЛ-293 (40 мг/кг/сут., per os, в течение 3 суток до окклюзии коронарной артерии) на геометрию и инотропную функцию сердца в условиях острого экспериментального инфаркта миокарда у наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг в/б)

Условия	Показатель	Исходный уровень	Время после окклюзии коронарной артерии, минуты					
			3	10	20	30	45	60
Ложно оперированные крысы, n=6	КСР, мм	1,86±0,14 p=0,534	1,93±0,07 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,876	2,02±0,10 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,451	2,01±0,08 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,379	1,90±0,09 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,649	1,81±0,09 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,891	1,85±0,06 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,958
	ФВ, %	90,4±1,1 p=0,253	90,7±0,9 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,961	90,2±1,1 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,989	90,3±0,9 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,928	91,5±0,8 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,863	91,3±1,0 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,877	90,4±1,2 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,967
ОИМ n=12	КСР, мм	1,98±0,12	3,11±0,19 p <sub>1</sub> <0,001	3,83±0,15 p <sub>1</sub> <0,001	3,84±0,16 p <sub>1</sub> <0,001	3,61±0,16 p <sub>1</sub> <0,001	3,36±0,15 p <sub>1</sub> <0,001	3,24±0,15 p <sub>1</sub> <0,001
	ФВ, %	88,4±1,0	67,0±1,6 p <sub>1</sub> <0,001	57,4±1,7 p <sub>1</sub> <0,001	59,0±1,7 p <sub>1</sub> <0,001	63,4±1,6 p <sub>1</sub> <0,001	64,8±1,6 p <sub>1</sub> <0,001	67,9±1,3 p <sub>1</sub> <0,001
ОИМ+ доксициклин, n=7	КСР, мм	1,79±0,09 p=0,139 p <sub>1</sub> =0,924	2,69±0,17 p=0,239 p <sub>1</sub> <0,001	2,74±0,18 p=0,006 p <sub>1</sub> <0,001	2,85±0,10 p=0,007 p <sub>1</sub> <0,001	2,85±0,12 p=0,014 p <sub>1</sub> <0,001	2,77±0,13 p=0,081 p <sub>1</sub> <0,001	2,74±0,14 p=0,052 p <sub>1</sub> <0,001
	ФВ, %	90,6±0,6 p=0,216	69,3±3,1 p=0,458 p <sub>1</sub> <0,001	69,9±2,6 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	68,7±0,9 p=0,002 p <sub>1</sub> <0,001	66,5±1,4 p=0,178 p <sub>1</sub> <0,001	67,5±1,6 p=0,265 p <sub>1</sub> <0,001	72,2±1,9 p=0,0068 p <sub>1</sub> <0,001
ОИМ+ АЛ-828, n=6	КСР, мм	1,84±0,07 p=0,018	2,59±0,16 p=0,842 p <sub>1</sub> <0,001	2,80±0,19 p=0,025 p <sub>1</sub> <0,001	2,87±0,21 p=0,021 p <sub>1</sub> <0,001	2,82±0,09 p=0,006 p <sub>1</sub> <0,001	2,80±0,05 p=0,034 p <sub>1</sub> <0,001	2,69±0,08 p=0,033 p <sub>1</sub> <0,001
	ФВ, %	90,5±0,8 p=0,242	68,7±2,3 p=0,630 p <sub>1</sub> <0,001	67,2±1,5 p=0,010 p <sub>1</sub> <0,001	68,9±2,1 p=0,006 p <sub>1</sub> <0,001	70,8±1,5 p=0,009 p <sub>1</sub> <0,001	70,9±2,2 p=0,046 p <sub>1</sub> <0,001	72,3±1,4 p=0,156 p <sub>1</sub> <0,001
ОИМ+ МЛ-269, n=6	КСР, мм	1,79±0,04 p=0,002	3,36±0,22 p=0,601 p <sub>1</sub> <0,001	3,79±0,33 p=0,141 p <sub>1</sub> <0,001	3,91±0,37 p=0,320 p <sub>1</sub> <0,001	3,79±0,17 p=0,400 p <sub>1</sub> <0,001	3,74±0,18 p=0,939 p <sub>1</sub> <0,001	3,68±0,19 p=0,869 p <sub>1</sub> <0,001
	ФВ, %	90,1±1,0 p=0,278	59,2±2,4 p=0,047 p <sub>1</sub> <0,001	53,1±3,2 p=0,252 p <sub>1</sub> <0,001	52,8±2,4 p=0,090 p <sub>1</sub> <0,001	60,0±2,4 p=0,208 p <sub>1</sub> <0,001	62,5±1,6 p=0,425 p <sub>1</sub> <0,001	59,4±3,7 p=0,008 p <sub>1</sub> <0,001
ОИМ+ МЛ-292, n=6	КСР, мм	1,86±0,05 p=0,006	3,01±0,08 p=0,113 p <sub>1</sub> <0,001	3,42±0,14 p=0,012 p <sub>1</sub> <0,001	3,53±0,23 p=0,041 p <sub>1</sub> <0,001	3,48±0,19 p=0,061 p <sub>1</sub> <0,001	3,36±0,19 p=0,123 p <sub>1</sub> <0,001	3,21±0,11 p=0,068 p <sub>1</sub> <0,001
	ФВ, %	91,3±0,5 p=0,123	66,2±2,1 p=0,824 p <sub>1</sub> <0,001	59,4±2,7 p=0,565 p <sub>1</sub> <0,001	58,3±2,6 p=0,821 p <sub>1</sub> <0,001	57,2±2,4 p=0,036 p <sub>1</sub> <0,001	60,1±2,6 p=0,128 p <sub>1</sub> <0,001	61,6±2,2 p=0,034 p <sub>1</sub> <0,001
ОИМ+ МЛ-293, n=6	КСР, мм	1,93±0,05 p=0,004	3,74±0,21 p=0,643 p <sub>1</sub> <0,001	4,11±0,20 p=0,662 p <sub>1</sub> <0,001	4,03±0,17 p=0,494 p <sub>1</sub> <0,001	3,96±0,15 p=0,834 p <sub>1</sub> <0,001	3,89±0,13 p=0,573 p <sub>1</sub> <0,001	3,82±0,17 p=0,455 p <sub>1</sub> <0,001
	ФВ, %	92,6±0,8 p=0,027	60,2±3,7 p=0,077 p <sub>1</sub> <0,001	56,7±3,2 p=0,850 p <sub>1</sub> <0,001	55,8±2,1 p=0,362 p <sub>1</sub> <0,001	57,4±0,6 p=0,037 p <sub>1</sub> <0,001	57,9±2,16 p=0,031 p <sub>1</sub> <0,001	61,6±1,2 p=0,041 p <sub>1</sub> <0,001

Примечания:  
1 В таблице представлены средние арифметические и их стандартные ошибки;  
2 p – по отношению к контрольным крысам с острым инфарктом миокарда;  
3 p<sub>1</sub> – по отношению к исходному уровню.

Результаты экспериментов 3-е серии также подтверждают вышеизложенные данные (подраздел 3.3.1.2) о наличии у эталонного препарата доксициклина значимой кардиопротективной активности (таблица 9 и 10).

Анализ результатов, полученных в 4-й – 7-й группах, позволил выявить соединение – лидер АЛ-828 (1-({4-[(4-хлорбензоил)амино]фенил} сульфонил-L-пролин). У животных, получавших соединение АЛ-828, одномоментная перевязка коронарной артерии, так же как в контроле и в группе животных, получавших доксициклин, влекла за собой снижение систолической функции ЛЖ сердца, однако в первые 20 минут от момента начала ишемии интенсивность этого процесса была статистически значимо ниже, чем в контроле (таблица 10). Так, например, к 20-й минуте ишемии у контрольных животных КСР увеличивался с  $1,98 \pm 0,12$  мм до  $3,84 \pm 0,16$  мм, т.е. практически в 2 раза, тогда как у животных, получавших соединение АЛ-828, увеличение КСР составило так же как и в случае доксициклина менее 60% (соответственно, с  $1,84 \pm 0,07$  мм до  $2,87 \pm 0,21$  мм) – различия статистически значимы ( $p < 0,001$ ) (таблица 10). К этому моменту у контрольных животных ФВ снизилась с  $88,4 \pm 1,2$  до  $58,0 \pm 1,7$  %, т.е. на 34%, а у животных, получавших соединение АЛ-828 – менее чем на 25% (соответственно с  $90,5 \pm 0,8$  до  $68,9 \pm 2,1$  %) – различия статистически значимы ( $p = 0,001$ ) (таблица 10).

Если различия в показателях, отражающих систолическую функцию сердца, в период максимального падения сократимости миокарда (10-20 минуты ишемии) между контрольной группой и группой животных, получавших соединение АЛ-828, статистически значимы, то различия в величине КСР и ФВ между группами, получавшими доксициклин и соединение АЛ-828, практически отсутствуют: соответственно  $p = 0,840$  и  $p = 0,587$ , что позволяет говорить о том, что соединение АЛ-828 по своей кардиопротективной активности, как минимум, не уступает эталону доксициклину.

Таким образом, полученные результаты не только подтвердили валидность ранее полученных данных, но и позволяют заключить, что метод эхокардиографии может быть с успехом использован при проведении скрининговых экспериментов

по оценке эффективности кардиотропных соединений, потенциально влияющих на процессы патологического ремоделирования миокарда.

Результаты, изложенные в разделе 3.3.1, опубликованы в работах с соавторами [19, 20, 23, 29, 30]. Получен патент РФ [53].

### 3.3.2 Доказательство возможности использования метода эхокардиографии у крыс для оценки эффективности фармакологических средств на трансляционной модели постинфарктной хронической сердечной недостаточности

Перед началом этой серии экспериментов мы провели анализ литературы с целью выбора оптимальной модели хронической сердечной недостаточности (ХСН) у крыс. При анализе литературы, посвященной моделированию ХСН на крысах, в базе данных PubMed на запрос «heart failure rats model» были получены ссылки на 2 497 научных статей. Далее слепым методом из них было отобрано и проанализировано 25 статей, опубликованных в период с 2000 по 2017 год, а также 9 систематических обзоров литературы, посвященных моделированию сердечно-сосудистой патологии у лабораторных животных. Как следует из результатов проведенного анализа, ХСН на мелких лабораторных животных воспроизводят различными способами. Для этой цели используют гиперосолевою [225] и метиониновую [192] диеты; кардиотоксические агенты – цитостатики доксирубицин [91] и адриамицин [99], пирролизидиновый алкалоид монокроталин [233]; неселективный  $\beta$ -адреностимулятор изопротеренол [307]; коарктацию грудного или абдоминального отделов аорты [89]. Однако в большинстве случаев моделирование ХСН производят путем одномоментной перевязки коронарной артерии [89, 167]. Реже для этой цели используют окклюзию с последующей реперфузией коронарной артерии [179]. Нет и единого подхода как к срокам формирования ХСН, так и к критериям оценки наличия/отсутствия моделируемой патологии. Сроки формирования ХСН в исследованиях различных авторов, вне зависимости от способа моделирования, варьируют от 10 до 70 дней [225, 192, 91, 99, 167, 179], преимущественно 28–36 [91] или 48–56 дней [225, 78]. Как правило,

о наличии/отсутствии ХСН судят по состоянию инотропной функции ЛЖ сердца, которую оценивают или при помощи эхокардиографии [225, 167], или измеряют  $dp/dt$  в ЛЖ сердца [99]. Помимо этого, в ряде случаев оценивают уровень содержания в плазме крови биохимического маркера ХСН – мозгового натрийуретического пептида [233] и/или биохимического маркера повреждения миокарда – тропонина I [309]. Также оценивают массу миокарда и проводят морфометрическую оценку размеров сердца [225]. Однако обращает на себя внимание тот факт, что авторы исследований не приводят каких-либо убедительных аргументов по поводу выбранных ими сроков формирования ХСН, используя в качестве основополагающего критерия уровень сократимости миокарда. Такой подход представляется достаточно спорным, поскольку хорошо известно, что ХСН представляет собой многофакторный симптомокомплекс, включающий в себя, помимо собственно снижения сократительной способности сердца, дилатацию его полостей, деструктивные изменения миокарда, поражение органов-мишеней, гиперактивность ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатoadреналовой систем и т.д. [85]. Следует также отметить, что в проанализированных исследованиях оценка состояния инотропной функции сердца как основного критерия наличия/отсутствия ХСН, а также биохимических и/или каких-либо других показателей, как правило, проводится только в конечной временной точке эксперимента, то есть динамика формирования ХСН не отслеживается.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что, несмотря на большое количество публикаций, посвященных моделированию ХСН у крыс, четкие критерии, позволяющие с уверенностью говорить о том, что у животных сформирована ХСН, воспроизводящая основные признаки заболевания, отсутствуют. Это касается как способов воспроизведения и сроков формирования ХСН, так и критериев оценки полученных результатов.



### *3.3.2.1 Эхокардиографическая оценка этапов формирования постинфарктной хронической сердечной недостаточности у крыс как основа для разработки трансляционной модели*

На первом этапе этой серии экспериментов мы попытались при помощи эхокардиографии разработать модель ХСН, позволяющую в динамике оценить этапы формирования этого патологического процесса. Затем, после получения результатов эхокардиографических исследований, свидетельствующих о формировании у животных ХСН, подтвердить ее наличие, используя основные, известные из клиники признаки, этого заболевания: морфометрические и гистологические признаки, характеризующие состояние сердца при сформировавшейся ХСН, гистологические признаки повреждения органов-мишеней (печень, легкие); уровень в плазме крови биохимических маркеров ХСН (мозговой натрийуретический пептид), а также уровень экспрессии генов рецепторов, участвующих в процессах патологического ремоделирования миокарда ( $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -адрено- и АТ1А-ангиотензиновых рецепторов), что позволит в определенной мере судить об уровне активности симпато-адреналовой и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы.

Поскольку из литературных данных и собственных наблюдений следует, что наиболее эффективным и близким к клинической ситуации способом воспроизведения ХСН является лигирование коронарной артерии [138, 13], для моделирования ХСН использовали одномоментную перевязку левой коронарной артерии непосредственно в месте ее выхода из-под ушка сердца [267]. Ложнооперированным животным подводили лигатуру под коронарную артерию.

Опыты проводили на беспородных крысах-самцах, на момент включения в эксперимент массой 160-180 г, которые были рандомизированы на 2 группы: 1-я (n=9) – контрольная (ложнооперированные животные), 2-я (n=15) – основная (передний трансмуральный ИМ). В основной группе на 10-й и 12-й неделях эксперимента погибло 3 животных. В эксперимент были включены только те животные, у которых согласно данным эхокардиографического исследования

исходные значения ФВ не выходили за пределы референтных величин. Эхокардиографические исследования проводили до рандомизации и на 2, 7, 14, 30, 60 и 90 сут. после воспроизведения ИМ.

Критерием формирования постинфарктной ХСН было статистически значимое по сравнению со 2-ми сутками после перевязки коронарной артерии снижение фракции выброса + дилатация ЛЖ сердца.

Показано, что у ложнопериорированных животных (n=9) на 2-е сут. после операции величины, характеризующие размеры и инотропную функцию ЛЖ, не отличались от исходных (таблица 11, рисунок 14, 15, 16). Величины КСР, КДР, ФУ и ФВ существенно не изменялись и в дальнейшем на протяжении всего периода наблюдения (3 мес.).

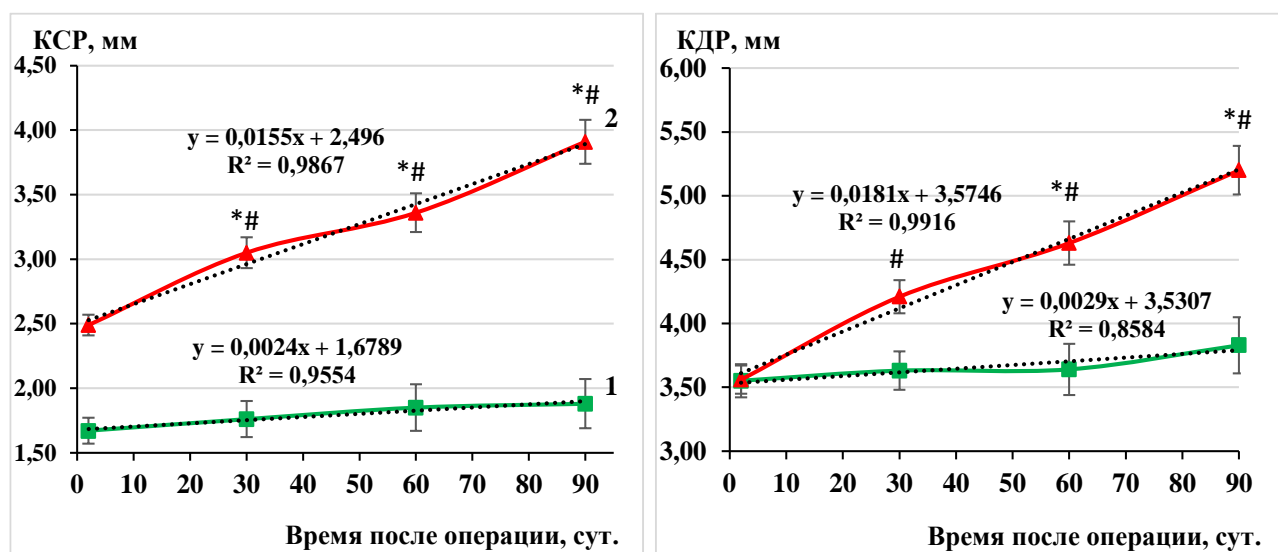
Таблица 11– Изменения геометрии и функции сердца, возникающие в условиях ХСН, вызванной ЭИМ у крыс. Наркоз – кетамин 100 мг/кг в/б

Группа животных	Показатель	Исходный уровень	Время после операции, сутки			
			2	30	60	90
Ложная операция, n=9	КСР, мм	1,59±0,09	1,67±0,10	1,76±0,14 p <sub>1</sub> =0,622	1,85±0,18 p <sub>1</sub> =0,561	1,88±0,19 p <sub>1</sub> =0,619
	КДР, мм	3,42±0,11	3,55±0,13	3,63±0,15 p <sub>1</sub> =0,920	3,64±0,20 p <sub>1</sub> =0,971	3,83±0,22 p <sub>1</sub> =0,646
	ФУ, %	53,5±1,2	52,9±1,5	51,6±1,4 p <sub>1</sub> =0,401	49,2±1,5 p <sub>1</sub> =0,075	50,9±1,2 p <sub>1</sub> =0,395
	ФВ, %	88,4±2,0	88,6±1,8	87,6±1,7 p <sub>1</sub> =0,606	85,7±1,9 p <sub>1</sub> =0,455	87,1±1,6 p <sub>1</sub> =0,726
ЭИМ, n=12	КСР, мм	1,48±0,07	2,49±0,08 p=0,002	3,05±0,12 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,002	3,36±0,15 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	3,91±0,17 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
	КДР, мм	3,31±0,12	3,56±0,11 p=0,984	4,21±0,13 p=0,076 p <sub>1</sub> =0,015	4,63±0,17 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	5,20±0,19 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
	ФУ, %	55,02±1,0	30,0±1,3 p<0,001	27,9±1,2 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,164	27,7±1,3 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,284	25,1±1,0 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,011
	ФВ, %	86,8±1,4	63,9±1,6 p<0,001	60,6±1,5 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,094	60,1±1,6 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,136	54,9±1,4 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001

Примечания:

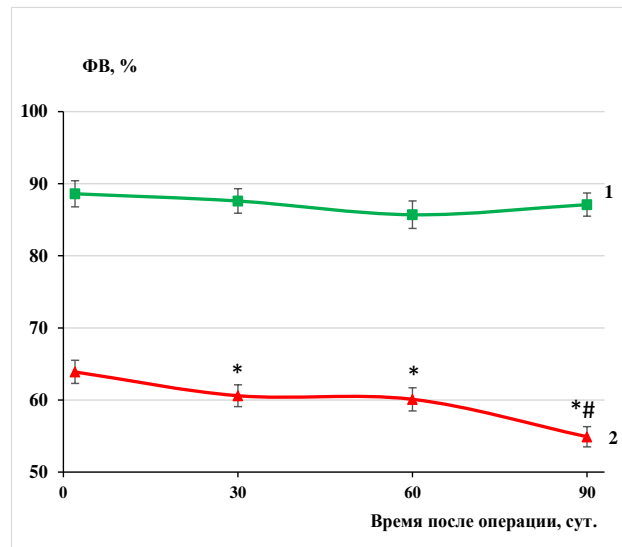
- 1 Представлены средние арифметические и их стандартные ошибка;
- 2 p – по отношению к ложнопериорированным животным;
- 3 p<sub>1</sub> – по отношению к уровню через 2 сут. после операции.

У животных основной группы (n=15/12) на 2-е сутки после воспроизведения ИМ (в эту группу включены только животных с документально подтвержденным передним трансмуральным ИМ) зарегистрированы существенные изменения в состоянии систолической функции ЛЖ сердца (таблица 11, рисунок 14, 15, 16) – статистически значимое увеличение КСР как по сравнению с исходным уровнем (соответственно  $2,49 \pm 0,08$  мм и  $1,48 \pm 0,07$  мм – +68%,  $p=0,001$ ), так и с ложнооперированными животными (соответственно  $2,49 \pm 0,08$  мм и  $1,67 \pm 0,10$  мм – 50%,  $p=0,002$ ) и уменьшение ФВ (соответственно  $63,9 \pm 1,6\%$  и  $86,8 \pm 1,4\%$  – -26%,  $p=0,001$  и соответственно  $63,9 \pm 1,6\%$  и  $88,6 \pm 1,8\%$  – -28%,  $p=0,001$ ), тогда как КДР у животных основной группы и ложнооперированных крыс на 2-е сутки после воспроизведения инфаркта практически не различался (соответственно  $3,56 \pm 0,11$  мм и  $3,55 \pm 0,13$  мм,  $p=0,984$ ).



Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат КДР в мм. По оси абсцисс в обоих случаях время после операции в сутках. 1 – ложнооперированные крысы (n=9); 2 – животные с ЭИМ (n=12). Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \* –  $p < 0,05$  по отношению к ложнооперированным крысам. # –  $p < 0,05$  по отношению к уровню на 2-е сутки после воспроизведения инфаркта миокарда. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки.

Рисунок 14 – Изменения геометрии левого желудочка сердца в процессе формирования ХСН



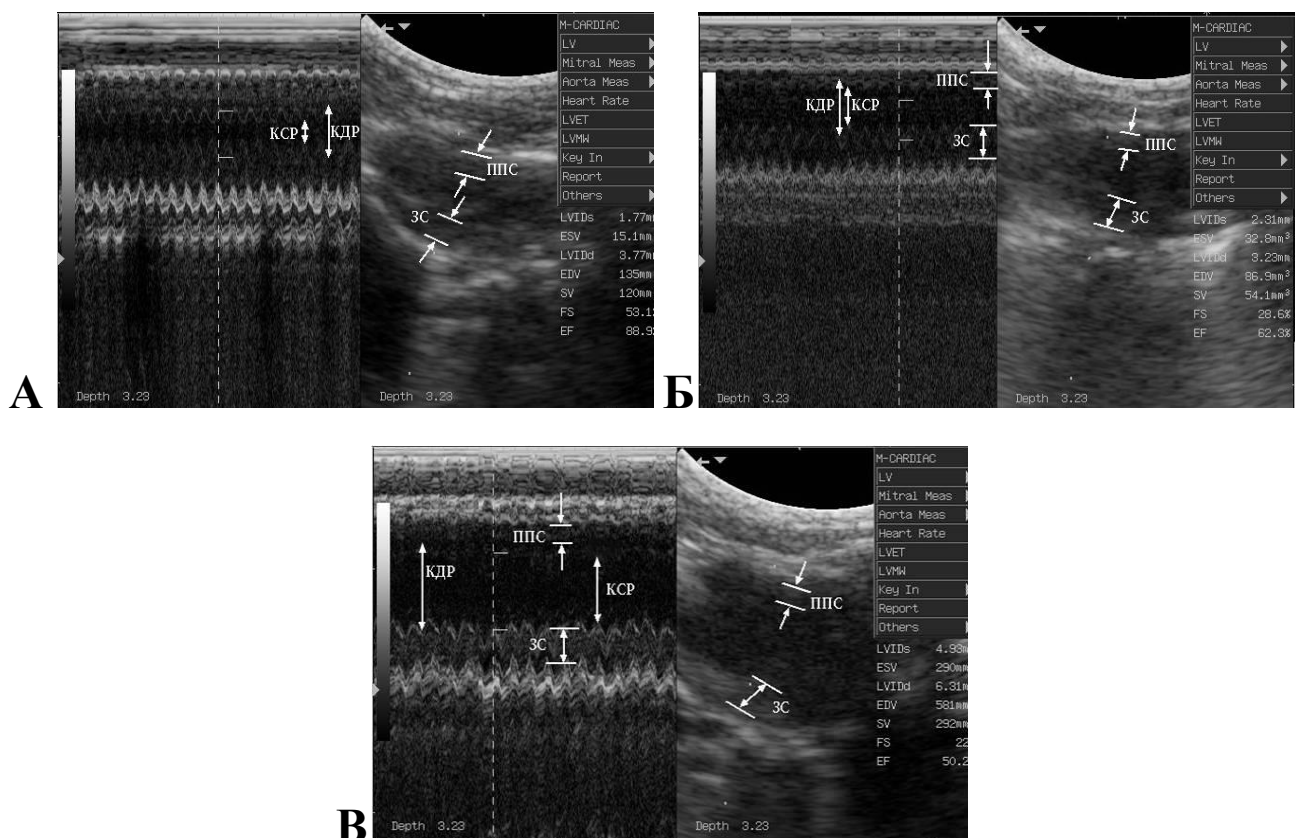
Примечания: По оси ординат ФВ в %. По оси абсцисс время после операции в сутках. 1 – ложнооперированные животные (n=9); 2 – крысы с экспериментальным инфарктом миокарда (n=12). Представлены средние арифметические. \* –  $p < 0,05$  по отношению к ложнооперированным крысам. # –  $p < 0,05$  по отношению к уровню на 2-е сутки после воспроизведения инфаркта миокарда. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки.

Рисунок 15 – Изменения инотропной функции (ФВ) левого желудочка сердца крыс в процессе формирования ХСН

К концу 1-го месяца от момента воспроизведения экспериментального ИМ начинает формироваться и диастолическая дисфункция ЛЖ (таблица 11, рисунок 14, 16): отмечается статистически значимое по сравнению со 2-ми сутками после операции увеличение КДР – +18% (соответственно с  $3,56 \pm 0,11$  мм до  $4,21 \pm 0,13$  мм,  $p = 0,015$ ), однако различие с КДР ложнооперированных животных не значимо ( $p = 0,076$ ). ФВ и ФУ ЛЖ сердца значимо не отличаются от таковых, зарегистрированных на 2-е сутки после операции ( $p = 0,094$  и  $p = 0,164$ , соответственно).

Через 2 месяца у животных основной группы отмечены существенные негативные изменения, характеризующиеся значительным увеличением конечных размеров ЛЖ сердца (таблица 11). Зарегистрировано динамическое увеличение как КСР – +10% (за месяц с  $3,05 \pm 0,12$  мм до  $3,36 \pm 0,15$  мм), так и КДР – +10% (за месяц с  $4,21 \pm 0,13$  мм до  $4,63 \pm 0,17$  мм), который статистически значимо отличается не только от величины, зарегистрированной на 2-е сутки после воспроизведения экспериментального ИМ, но и от таковой у ложнооперированных животных

(соответственно  $4,63 \pm 0,17$  мм и  $3,64 \pm 0,20$  мм,  $p < 0,001$ ) (таблица 11). Однако ФВ и ФУ ЛЖ сердца как по сравнению со 2-ми сутками, так и 1-м месяцем после операции практически не меняются (таблица 11). Эти наблюдения свидетельствуют о том, что выявленные к этому времени изменения геометрии ЛЖ носят компенсаторный характер, позволяющий поддерживать насосную функцию сердца на относительно удовлетворительном уровне: снижение ФВ по сравнению с ложноперирированными животными  $\approx 30\%$ , а со 2-ми сут. после операции – в пределах 5%, что дает основания полагать, что во внутренних органах организма отсутствует патогномичный для ХСН венозный застой.



Примечание: А – интактное животное; Б – 2-е сут. после воспроизведения переднего трансмурального ИМ; В – 90-е сут. после воспроизведения ИМ (животное со сформировавшейся ХСН). КДР – конечно-диастолический размер, КСР – конечно-систолический размер, ППС – передняя стенка, ЗС – задняя стенка левого желудочка сердца. Наркоз: кетамин 100 мг/кг, в/б.

Рисунок 16 – Оригинальные ЭхоКГ, отражающие этапы формирования хронической сердечной недостаточности у крыс

Через 3 месяца после воспроизведения ИМ у животных основной группы отмечается дальнейшее динамическое увеличение максимальных конечных размеров ЛЖ сердца (КСР по сравнению с фоном до операции увеличился в 2,6 раза, а по сравнению со 2-ми сутками после операции – на 57%, а КДР соответственно на 57% и 46%), что сопровождается статистически значимым ( $p < 0,001$ ) по сравнению со 2-ми сутками после операции снижением ФВ (таблица 11, рисунок 15, 16). Эти данные позволяют полагать, что динамически развивающееся патологическое постинфарктное ремоделирование ЛЖ сердца исчерпало свои компенсаторные возможности, что повлекло за собой формирование полномасштабной ХСН.

Следует также отметить, что к этому периоду наблюдения у 4-х из 12-ти животных сформировалась постинфарктная аневризма передней стенки ЛЖ сердца (рисунок 17).

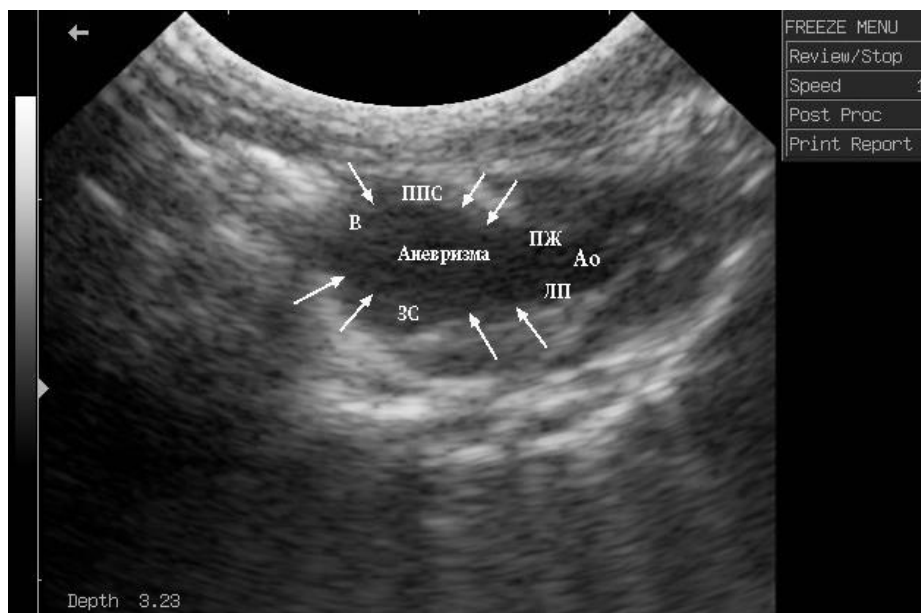


Рисунок 17 – Оригинальная ЭхоКГ крысы со сформировавшейся хронической сердечной недостаточностью – аневризма верхушки левого желудочка

Таким образом, согласно данным, полученным при помощи эхокардиографии, у животных через 90 суток после воспроизведения переднего

трансмурального ИМ формируется ХСН, течение которой в 30% случаев отягощено развитием постинфарктной аневризмы передней стенки ЛЖ сердца.

Для подтверждения данных эхокардиографических исследований, свидетельствующих о наличии ХСН, был проведен комплекс морфогистологических, биохимических и молекулярных исследований.

Результаты морфогистологического анализа макро- и микропрепаратов сердец животных основной группы, а также биохимических исследований [36], выполненных сотрудниками лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в.н.с. А.В. Сорокиной и н.с. И.А. Мирошкиной, с одной стороны, свидетельствуют о наличии компенсаторной гипертрофии миокарда, протекающей на фоне постинфарктного кардиосклероза, с другой стороны, наблюдаемые параллельно с гипертрофией миокарда дилатация полостей и исчезновение поперечной исчерченности части кардиомиоцитов свидетельствуют о снижении их сократительной способности. Помимо этого, результаты морфогистологического анализа макро- и микропрепаратов тканей печени и легких животных основной группы свидетельствуют о наличии у них хронического венозного полнокровия, характерного для ХСН. Наличие ХСН подтверждают и результаты биохимических исследований, из которых следует, что у животных через 3 мес. после перевязки коронарной артерии концентрация в плазме крови мозгового натрийуретического пептида (BNP), который рассматривается как «золотой стандарт» в диагностике ХСН [41], статистически значимо ( $p=0,014$ ) выше, чем у ложноперированных животных.

Молекулярные исследования, выполненные руководителем лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» в.н.с., д.м.н. Л.М. Кожевниковой и сотрудником лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» н.с. И.А. Мирошкиной методом ПЦР в реальном времени, показали, что в биоптатах миокарда ЛЖ животных основной группы, в отличие от ложноперированных, выявлено патогномоничное для ХСН изменение экспрессии генов  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -адрено- и АТ1А-

ангиотензиновых рецепторов [38, 32]. Хорошо известно, что РААС и САС системы занимают одно из ведущих мест в патогенезе ХСН [74, 283].

Таким образом, нами разработана трансляционная модель ХСН у крыс, воспроизводящая основные клиничко-диагностические критерии этого заболевания (снижение сократимости и дилатация желудочков сердца, признаки венозного застоя, увеличение в плазме биохимических маркеров, аномальная экспрессия АТ1А-R и  $\beta$ -AR). Установлена корреляция между морфометрическими, гистологическими, биохимическими и молекулярными маркерами прогрессирующей ХСН и эхокардиографическими диагностическими признаками, что позволяет использовать неинвазивный метод эхокардиографии, характеризующий размеры, объемы и инотропную функцию ЛЖ сердца, в качестве основного критерия оценки наличия/отсутствия данной патологии. Помимо этого, эхокардиография дает возможность в динамике оценивать этапы формирования этого патологического процесса. Не менее важно и то, что разработанная трансляционная модель позволяет не только изучать тонкие механизмы, лежащие в основе этого патологического процесса, но и создает фундаментальную базу для поиска и доклинического изучения новых оригинальных лекарственных средств для профилактики и лечения ХСН.

### *3.3.2.2 Эхокардиографическое изучение на трансляционной модели ХСН у крыс возможности использования фабомотизола для профилактики и лечения постинфарктной ХСН*

На этом этапе исследования мы оценили возможность использования эхокардиографии при проведении хронических экспериментов по оценке кардиопротективного действия лекарственных средств на трансляционной модели ХСН у крыс.

Одной из нерешенных проблем, стоящих перед современной кардиофармакологией, является создание инновационных лекарственных средств для профилактики/лечения хронической сердечной недостаточности (ХСН).



Согласно данным Росстата, распространенность ХСН в различных регионах РФ варьирует в пределах 7–10 %. За период с 2000 по 2017 г.г. доля пациентов с тяжелой ХСН (III–IV ФК) увеличилась в 3,4 раза (с 1,76 до 6 млн. человек) [41]. Общая смертность у больных ХСН (в структуре летальности от болезней системы кровообращения) составляет 25,1%. Примерно половина больных ХСН умирает в течение первых 4-х лет с момента верификации диагноза, а в тяжелых случаях – столько же в течение 1-го года [74]. В настоящее время единственным эффективным способом лечения декомпенсированной ХСН является пересадка сердца [96, 283].

Возможным подходом к решению этой проблемы является поиск новых оригинальных биомишеней для создания высокоэффективных кардиопротекторов. Одной из таких биомишеней могут быть сигма-1 рецепторы ( $\sigma_1$ -R).

Открытые в 1976 году сигма-1 рецепторы ( $\sigma_1$ -R) исторически рассматривались как биомишень для создания новых оригинальных психотропных лекарственных средств. Однако после того, как было показано, что плотность  $\sigma_1$ -R в тканях правого и левого желудочков сердца существенно выше, чем в других органах и тканях организма, возник интерес к изучению их роли в регуляции функциональной активности кардиомиоцитов [84]. В кардиомиоцитах  $\sigma_1$ -R локализируются в области контакта СПР с наружной мембраной митохондрий, так называемой митохондриально-ассоциированной мембраной СПР (МАМ), и/или в области ионных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, обеспечивающих поступление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из цистерн СПР в цитозоль клетки [186]. По сути,  $\sigma_1$ -R представляет собой комплексное образование – «липидную везикулу», состоящую из собственно  $\sigma_1$ -R, адаптерного белка анкирин-220 и  $\text{IP}_3$ -рецептора 3 типа ( $\text{IP}_3$ -R) [104]. Известно, что  $\text{IP}_3$ -R – крайне нестабильный протеин и легко распадается под действием протеаз, однако в соединении с  $\sigma_1$ -R он стабилизируется [104]. После взаимодействия  $\sigma_1$ -R с агонистом происходит диссоциация этого функционального образования, в результате чего  $\sigma_1$ -R и анкирин-220 в составе липидной везикулы мигрируют к внутренней поверхности клеточной мембраны, где они регулируют функциональную активность потенциалзависимых трансмембранных  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и

$\text{Ca}^{2+}$  каналов и стабилизируют фосфолипидный бислой клеточной мембраны [161, 305, 284]. Оставшийся на мембране СПР  $\text{IP}_3$ -рецептор активируется и инициирует выход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму кардиомиоцитов из цистерн СПР. Недавно были опубликованы сообщения о том, что агонисты  $\sigma_1$ -рецепторов обладают способностью оптимизировать функциональную активность не только  $\text{IP}_3$ -R, но и  $\text{RyR}2$ -рецепторов [278]. Известно, что именно синхронная активация каналов, ассоциированных с  $\text{IP}_3$ -R, и  $\text{RyR}2$ , является ключевым механизмом, регулирующим процессы электромеханического сопряжения кардиомиоцитов [278]. Комплекс  $\sigma_1$ -R/ $\text{IP}_3$ -R локализован на ассоциированном с митохондриями участке СПР [186, 80]. Активированный  $\sigma_1$ -R выступает в роли шаперона  $\text{IP}_3$ -R, в результате чего в митохондрии, через вольтаж-зависимые анионовые каналы, начинают поступать ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , стимулирующие синтез АТФ [274].  $\sigma_1$ -R активизируют процессы биоэнергетического обеспечения клетки и тем самым повышают ее устойчивость к неблагоприятным воздействиям. Известно, что  $\sigma_1$ -R обладают способностью препятствовать стресс-индуцируемому повреждению СПР кардиомиоцитов, что связано со способностью  $\sigma_1$ -R активировать сопряженный с ними внутриклеточный IRE1/XBP1S сигнальный каскад, результатом активации которого является подавление экспрессии транскрипционного фактора CHOP, ответственного за стресс-индуцированное повреждение СПР [70]. Показано, что у нокаутных по  $\sigma_1$ -R мышей, в отличие от интактных, развивается прогрессирующая систолическая дисфункция, сопровождающаяся фиброзом, отложением коллагена и увеличением экспрессии экстрацеллюлярного белка периостатина, обладающего кардиотоксическим действием, а также у них нарушена дыхательная функция митохондрий и активизированы митохондриально-сопряженные проапоптотические каскады [68].

Таким образом, накопленные к настоящему времени данные позволяют рассматривать  $\sigma_1$ -R как внутриклеточное образование, играющее важную роль в защите клетки от патологических воздействий, т.е. как эволюционно сформировавшийся «ремонтный комплекс», обеспечивающий гомеостаз клетки и тем самым поддерживающий ее жизнедеятельность, а также полагать, что в

условиях патологии миокарда агонисты  $\sigma_1$ -R могут проявлять выраженное кардиопротективное действие [55].

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова под руководством академика РАН С.Б. Середенина синтезирован и фармакологически изучен оригинальный анксиолитик фабомотизол (афобазол). Препарат обладает сложным механизмом анксиолитического действия, в том числе проявляет агонистическое действие в отношении  $\sigma_1$ -R [55].

В лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» проводятся систематические исследования, посвященные изучению спектра кардиотропной активности фабомотизола. Показано, что препарат проявляет антиаритмическую, противofiбрилляторную и антиишемическую активность, которая реализуется на уровне кардиомиоцитов и связана с его агонистическим влиянием на  $\sigma_1$ -R [33, 25, 54, 22].

В развитие этих исследований мы попытались оценить целесообразность применения фабомотизола в качестве кардиопротектора в условиях ХСН.

В первой серии экспериментов, построенных так же, как описано в подразделе 3.3.2.1, оценивали возможность использования фабомотизола для профилактики развития ХСН у животных с острым передним трансмуральным ИМ. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г, которые были рандомизированы на 3 группы: 1-я – ложнооперированные (n=9), 2-я (n=8) – ИМ, 3-я – ИМ + фабомотизол (n=8). В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований исходные значения ФВ не выходили за пределы референтных величин. Во 2-ю и 3-ю группу отбирали только тех животных, у которых, согласно данным эхокардиографии, на 2-е сутки после перевязки коронарной артерии диагностировался передний трансмуральный ИМ. Фабомотизол (15 мг/кг/сутки) вводили в/б, с 1-го по 15-й день от момента воспроизведения ИМ. Животные 1-й и 2-й групп по аналогичной схеме получали эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

Как следует из полученных данных, у ложнооперированных животных максимальные конечные размеры ЛЖ сердца и показатели его инотропной функции на 2-й, 15-й, 56-й, 98-й день эксперимента значимо не отличались от таковых, зарегистрированных у интактных крыс (таблица 12, рисунок 18). Так, например, величина КСР составила соответственно  $1,50 \pm 0,06$  мм,  $1,67 \pm 0,06$  мм,  $1,66 \pm 0,05$  мм и  $1,69 \pm 0,07$  мм, а ФВ соответственно  $89,0\% \pm 0,9\%$ ,  $87,3 \pm 0,9\%$ ,  $87,7 \pm 0,7\%$  и  $88,9 \pm 0,7\%$ . При оценке эхокардиографических показателей на 2-е сутки после воспроизведения ИМ во 2-й группе показано, что одномоментная перевязка коронарной артерии влечет за собой значительные изменения геометрии и функции ЛЖ сердца. Так, например, КСР у животных контрольной группы с фоном до операции увеличивался  $\approx 70\%$  – соответственно  $2,61 \pm 0,12$  мм и  $1,56 \pm 0,09$  мм (различие с ложнооперированными статистически значимо –  $p=0,0001$ ), а ФВ уменьшилась более чем на 20% – соответственно  $69,2 \pm 2,3\%$  и  $89,4 \pm 1,9\%$  (различие с ложнооперированными статистически значимо –  $p=0,0001$ ). У животных 3-й группы через сутки после первой инъекции фабомотизола наблюдались сходные изменения (таблица 12, рисунок 18, 19).

На 15-е сутки после перевязки коронарной артерии (на момент окончания экспериментальной терапии фабомотизолом) у животных контрольной группы отмечалось динамическое ухудшение функции сердца, о чем свидетельствует как увеличение КСР и КДР, так и снижение ФВ и ФУ. Так, например, за этот период КСР ЛЖ сердца увеличился с  $2,61 \pm 0,12$  мм до  $2,80 \pm 0,12$  мм, КДР – с  $3,94 \pm 0,11$  мм до  $4,18 \pm 0,10$  мм, а ФВ снизилась с  $69,2 \pm 2,3\%$  до  $67,8 \pm 2,8\%$  (рисунок 18, 19). Эти данные хорошо согласуются с вышеприведенными результатами, свидетельствующими о том, что на 15-е сутки у животных контрольной группы происходит динамическое ухудшение (по сравнению со 2-ми сутками) регистрируемых показателей.

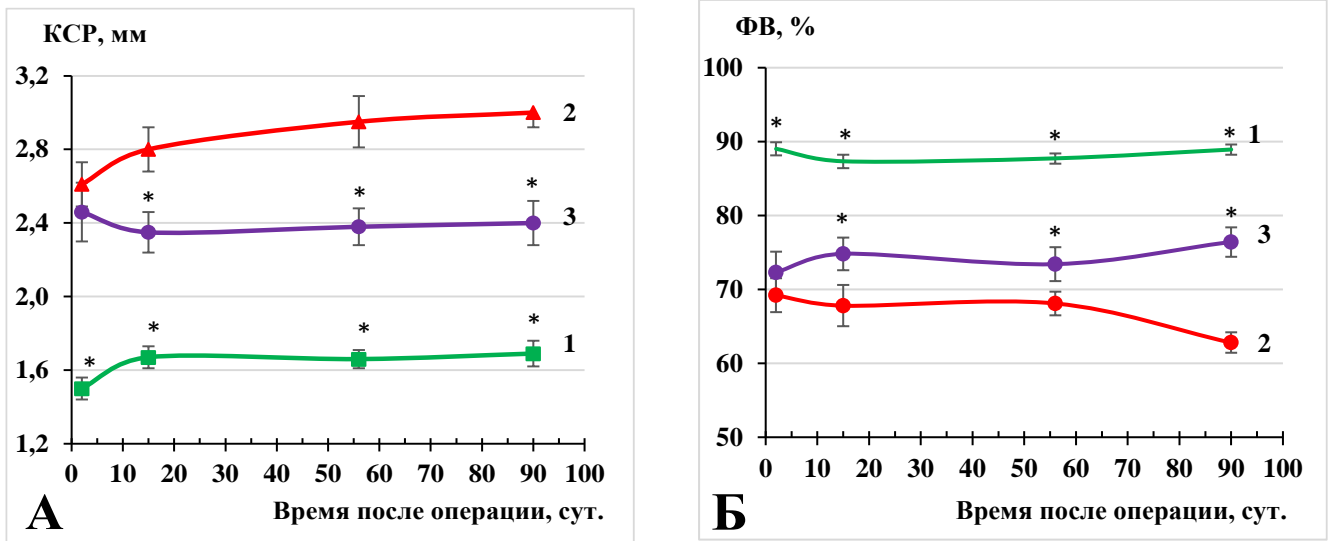
Таблица 12 – Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут. в течение 14 дней в/б) на геометрию и инотропную функцию сердца в условиях ХСН, вызванной ЭИМ у крыс. Наркоз – кетамин 100 мг/кг, в/б

Показатель	Группа	Исходный уровень	Время после окклюзии коронарной артерии, сутки			
			2	15	56	98
КСР, мм	Ложнооперированные крысы, n=9	1,46±0,09	1,50±0,06 p=0,0001	1,67±0,06 p=0,0001	1,66±0,05 p=0,0001	1,69±0,07 p=0,0001
	ЭИМ контроль, n=8	1,56±0,09	2,61±0,12	2,80±0,12	2,95±0,14	3,00±0,08
	ЭИМ + Фабомотизол, n=8	1,60±0,2	2,46±0,16 p=0,3617	2,35±0,11 p=0,0035	2,38±0,10 p=0,0126	2,40±0,12 p=0,0029
КДР, мм	Ложнооперированные крысы, n=9	3,22±0,12	3,23±0,10 p=0,0019	3,41±0,10 p=0,0002	3,42±0,11 p=0,0002	3,62±0,15 p=0,0026
	ЭИМ контроль, n=8	3,26±0,10	3,94±0,11	4,18±0,10	4,37±0,18	4,31±0,10
	ЭИМ + Фабомотизол, n=8	3,33±0,11	3,84±0,16 p=0,58	3,80±0,11 p=0,016	4,11±0,06 p=0,153	3,98±0,12 p=0,058
ФВ, %	Ложнооперированные крысы, n=9	88,7±1,1	89,0±0,9 p=0,0001	87,3±0,9 p=0,0001	87,7±0,7 p=0,0001	88,9±0,7 p=0,0001
	ЭИМ контроль, n=8	89,4±1,9	69,2±2,3	67,8±2,8	68,1±1,6	62,8±1,4
	ЭИМ + Фабомотизол, n=8	87,9±1,7	72,3±2,8 p=0,294	74,8±2,2 p=0,0252	73,4±2,3 p=0,0291	76,4±2,0 p=0,0038

Примечания:

1 Представлены средние арифметические и их стандартные ошибка

2 p – по отношению к контролю с инфарктом миокарда

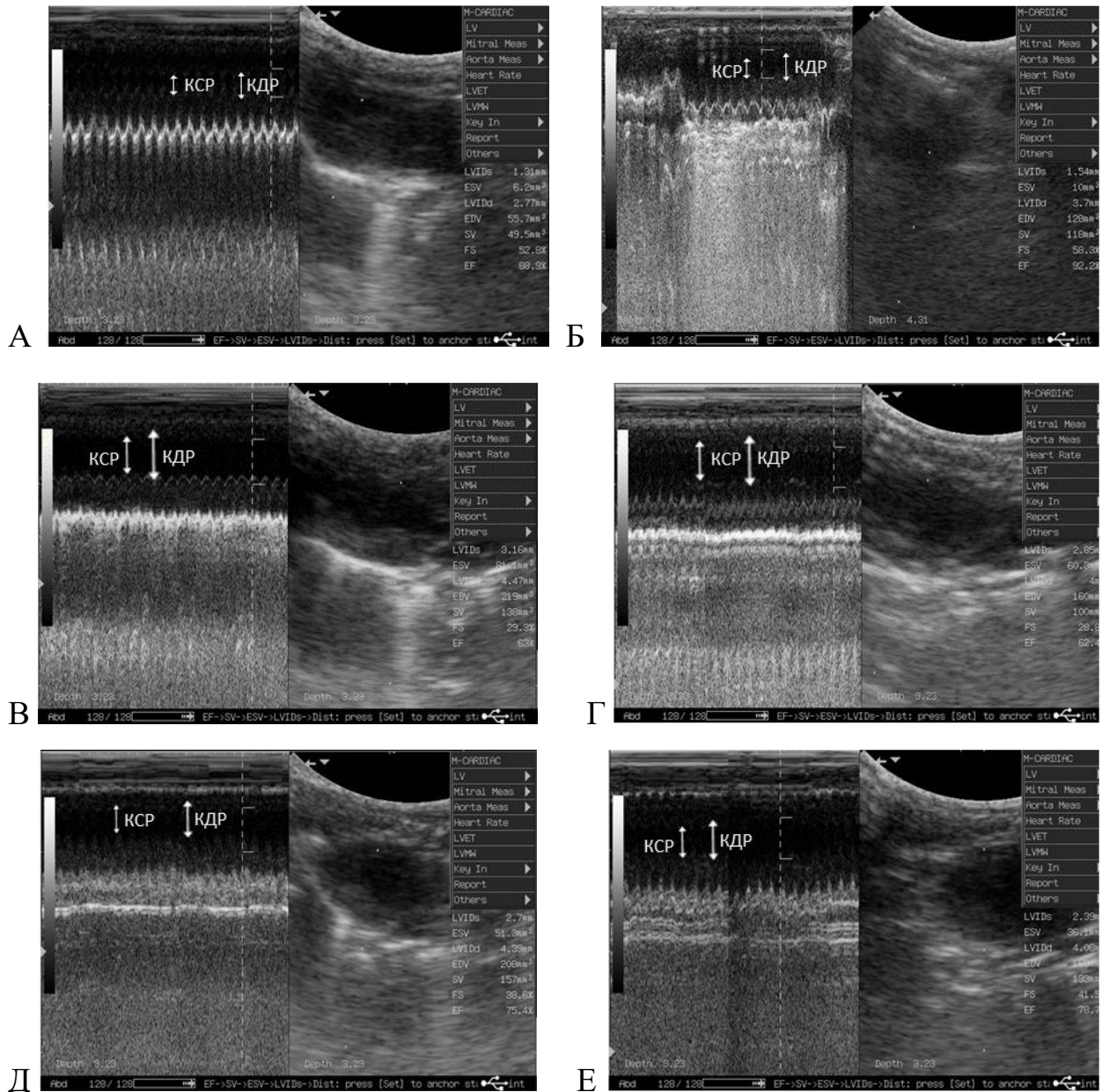


Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат ФВ в %. По оси абсцисс в обоих случаях время после операции в сутках. 1 – ложнооперированные крысы; 2 – контроль с ЭИМ; 3 – ЭИМ + фабототизол. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \* –  $p < 0,05$  по отношению к контролю с ЭИМ.

Рисунок 18 – Влияние фабототизола (15 мг/кг/сут. в/б в течение 14 дней) на КСР и ФВ левого желудочка сердца в процессе формирования ХСН, вызванной ЭИМ у крыс (начало введения сразу после операции)

У животных, получавших фабототизол, наблюдаемые изменения носят противоположный характер. Так, например, КСР уменьшился с  $2,46 \pm 0,16$  мм до  $2,35 \pm 0,11$  мм (различие с контролем статистически значимо –  $p = 0,0035$ ), а ФВ возросла с  $72,3 \pm 2,8\%$  до  $74,8 \pm 2,2\%$  (различие с контролем статистически значимо –  $p = 0,0252$ ) (таблица 12, рисунок 18, 19).

Эхокардиографические исследования, проведенные на 56-е и 98-е сутки после воспроизведения острого ИМ, свидетельствуют о том, что у контрольных животных за этот период формируется сердечная недостаточность. Так, например, на 98-е сутки КСР и КДР у животных контрольной группой по сравнению с фоном до операции увеличился – соответственно с  $2,61 \pm 0,12$  мм до  $3,00 \pm 0,08$  мм и с  $3,94 \pm 0,11$  мм до  $4,31 \pm 0,10$  мм (различие с ложнооперированными статистически значимо –  $p = 0,0001$ ) (рисунок 18, 19).



Примечание: А – ложнооперированная крыса через 2 сут. после операции; Б – ложнооперированная крыса через 98 сут. после операции; В – крыса с ЭИМ через 2 сут. после операции; Г – крыса с ЭИМ через 98 сут. после операции; Д – крыса с ЭИМ + фабототизол (15 мг/кг/сут. в/б в течение 14 дн., начиная с 1-х суток) через 2 сут. после операции; Е – крыса с ЭИМ + фабототизол через 98 сут. после операции. КСР – конечно-систолический размер, КДР – конечно-диастолический размер, ЛЖ – полость левого желудочка, ЗС – задняя стенка левого желудочка.

Рисунок 19 – Оригинальные ЭхоКГ крыс с ХСН, которые получали фабототизол (15 мг/кг/сут. в/б) в течение 14 дней, начиная с первых суток после воспроизведения ЭИМ

У животных, получавших фабототизол, величины, характеризующие поперечные размеры сердца, по сравнению со 2-ми сутками от момента

воспроизведения инфаркта практически не менялись (например, КСР на 2-е сутки  $2,46 \pm 0,16$  мм, на 98-е сутки –  $2,40 \pm 0,12$ ;  $p=0,0029$  по сравнению с контролем), а показатели, характеризующие насосную функцию сердца, значимо увеличивались: так, например, ФВ составляла соответственно  $72,3 \pm 2,8\%$  и  $76,4 \pm 2,0\%$  ( $p=0,0038$  по сравнению с контролем) (таблица 12, рисунок 18, 19).

Таким образом, курсовая профилактическая экспериментальная терапия фабомотизолом уменьшает интенсивность постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца и поддерживает его сократительный статус миокарда, тем самым существенно снижает тяжесть течения ХСН.

Во второй серии экспериментов, построенных так же, как описано в подразделе 3.3.2.1, оценивали возможность использования фабомотизола для лечения ХСН, сформировавшейся у перенесших острый передний трансмуральный ИМ животных.

В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований исходные значения ФВ не выходили за пределы референтных величин.

Изначально животные были разделены на 2 группы: 1-я ( $n=11$ ) – ложнооперированные животные; 2-я ( $n=15$ ) – контроль ХСН. Через 3 месяца, после проведения во 2-й группе эхокардиографических исследований, показавших, что у 13-ти из 15-ти животных сформировалась ХСН, крысы с ХСН были рандомизированы на 2 группы: 2а – контроль ХСН ( $n=6$ ) и 2б – ХСН + фабомотизол ( $n=7$ ).

Фабомотизол (внутрибрюшинно, 15 мг/кг, в 0,2-0,3 мл апиrogenной воды для инъекций), а в контрольных сериях (группы 1 и 2а) – апиrogenную воду для инъекций, вводили с 90-х сут. от момента перевязки коронарной артерии, ежедневно в течение 28 сут. Оценку эхокардиографических показателей проводили за сутки до воспроизведения ИМ, на 2-е, 60-е, 90-е и 118-е сут. после его воспроизведения.

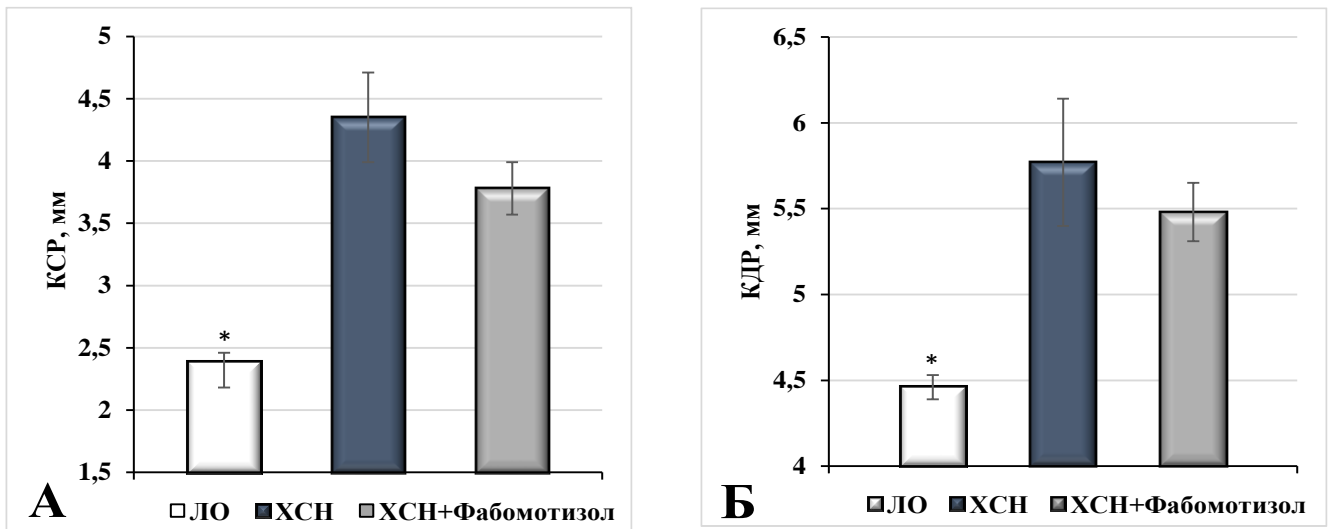
Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что у интактных (до включения в эксперимент) и ложнооперированных животных через 3 мес. после



оперативного вмешательства регистрируемые эхокардиографические показатели практически идентичны (таблица 13).

Таблица 13 – Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сутки в/б в течение 4 нед.) на эхокардиографические показатели крыс в условиях развившейся ХСН (начало введения через 3 мес. после окклюзии коронарной артерии). Наркоз – кетамин 100 мг/кг в/б

Показатель	Интактные крысы (до операции) n=24		Ложно-оперированные крысы, n=11	Контроль ХСН, n=6	ХСН + Фабомотизол, n=7
КСР, мм	2,21±0,05	Величина после 4 нед. терапии	2,39±0,07 p=0,0002	4,35±0,36	3,78±0,21 p=0,160
		Изменение по отношению к началу терапии	+0,03±0,06 p=0,809	+0,09±0,25	-0,34±0,25 p=0,273
КДР, мм	4,09±0,08	Величина после 4 нед. терапии	4,46±0,07 p=0,0002	5,77±0,37	5,48±0,17 p=0,264
		Изменение по отношению к началу терапии	-0,07±0,07 p=0,995	+0,04±0,36	-0,06±0,23 p=0,642
ФУ, %	46,3±1,1	Величина после 4 нед. введения	45,8±1,0 p=0,0002	25,1±1,8	31,2±2,2 p=0,048
		Изменение по отношению к началу терапии	-1,4±0,9 p=0,814	-1,9±1,9	+6,3±2,0 p=0,002
ФВ, %	83,5±1,0	Величина после 4 нед. терапии	83,9±1,2 p<0,0001	55,5±3,2	64,8±3,4 p=0,027
		Изменение по отношению к началу терапии	-1,3±0,09 p=0,691	-2,7±3,0	+10,6±3,4 p=0,003
<p><i>Примечания:</i></p> <p>1 Указаны средние арифметические и их стандартные ошибки;</p> <p>2 p – указано по отношению к контролю ХСН.</p>					

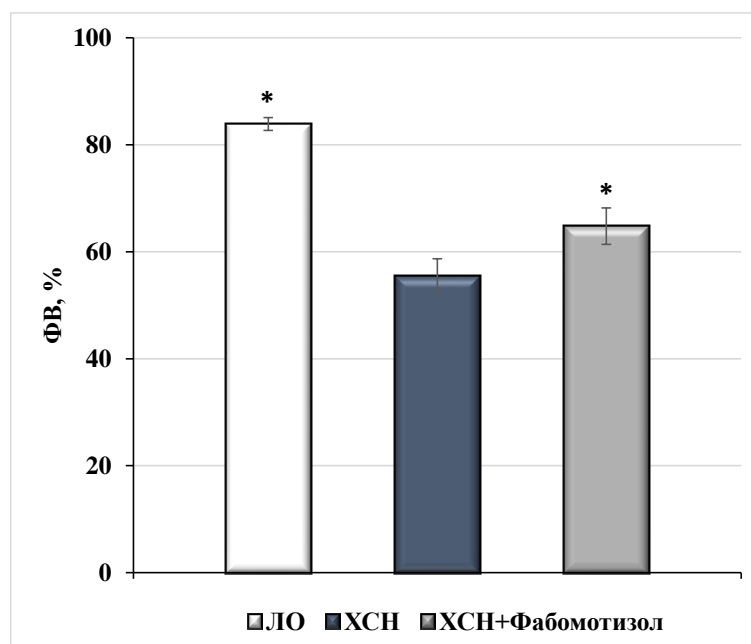


Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы. А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат КДР в мм. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \* –  $p < 0,05$  по отношению контролю с ХСН.

Рисунок 20 – Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут. в/б в течение 4 нед.) на КСР и КДР левого желудочка сердца крыс со сформировавшейся ХСН (начало введения через 3 мес. после окклюзии коронарной артерии)

Так, например, у интактных животных КСР равнялся  $2,21 \pm 0,05$  мм, а у ложнооперированных через 90 дней  $2,36 \pm 0,08$  мм, ФВ соответственно  $83,5 \pm 1,0\%$  и  $85,2 \pm 1,1\%$ . Напротив, у животных перенесших ИМ, через 3 мес. после операции, согласно результатам эхокардиографических исследований, сформировалась ХСН (рисунок 19, 20). Так, например КСР по сравнению с интактными животными увеличился на 78% – с  $2,21 \pm 0,05$  мм до  $4,26 \pm 0,32$  мм (по сравнению с ложнооперированными  $p = 0,0002$ ), ФВ по сравнению с интактными животными снизилась на 32% – с  $85,2 \pm 1,0\%$  до  $58,2 \pm 3,0\%$  (по сравнению с ложнооперированными  $p < 0,0001$ ). В период с 3-го по 4-й месяц после воспроизведения ИМ у контрольных животных наблюдается отрицательная динамика – отмечено дальнейшее расширение полостей сердца и снижение ФВ (таблица 13, рисунок 20). У животных, получавших экспериментальную терапию фабомотизолом, отмечена обратная картина: зафиксировано выраженное, статистически значимое по сравнению с фоном перед началом лечения, увеличение сократительной способности миокарда – ФВ возрастала на 12% – с  $54,2 \pm 2,7$  до  $64,8 \pm 3,4\%$  ( $p = 0,003$ ). Увеличение ФВ сопровождается тенденцией к уменьшению

дилатации ЛЖ – КСР к моменту окончания лечения уменьшился на 14%, а КДР – на 2% (таблица 13, рисунок 20, 21).



Примечание: По оси ординат ФВ в %. ЛО – ложнооперированные крысы. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \* –  $p < 0,05$  по отношению контролю с ХСН.

Рисунок 21 – Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут. в/б в течение 4 нед.) на ФВ левого желудочка сердца крыс со сформировавшейся ХСН (начало введения через 3 мес. после окклюзии коронарной артерии)

Есть все основания полагать, что кардиопротективный эффект фабомотизола связан с его способностью в определенной мере восстанавливать в миокарде ЛЖ сердца пул  $\sigma_1$ -R, которые, по мнению ряда авторов, можно рассматривать как эволюционно сложившийся «ремонтный» комплекс клетки [55]. Это предположение основано на том факте, что, согласно результатам молекулярных исследований биоптатов ткани ЛЖ сердца, полученных от контрольных и леченных фабомотизолом животных, выполненных руководителем лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» в.н.с., д.м.н. Л.М. Кожевниковой и сотрудником лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» н.с. И.А. Мирошкиной, у леченных крыс, по сравнению с контролем, отмечено существенное увеличение

экспрессии гена  $\sigma_1$ -R [27]. Эти данные представляются достаточно важными, поскольку известно, что агонисты  $\sigma_1$ -R могут препятствовать развитию патологического ремоделирования миокарда, в частности, в литературе приводятся данные, что в процессе развития сердечной недостаточности на фоне формирования гипертрофии миокарда плотность  $\sigma_1$ -R в кардиомиоцитах резко уменьшается [82]. Более того, прослежена негативная линейная корреляция между плотностью  $\sigma_1$ -R в кардиомиоцитах и снижением насосной функции сердца [82]. В этих условиях агонист  $\sigma_1$ -R DHEA препятствует развитию гипертрофии миокарда, т.е. препятствует патологическому ремоделированию ЛЖ и способствует восстановлению пула  $\sigma_1$ -R в кардиомиоцитах [83]. Близкие данные получены и в исследовании Tagashira H. et al. [279], в котором показано, что агонисты  $\sigma_1$ -R не только препятствуют ремоделированию сердечной мышцы, но и в определенной мере восстанавливают насосную функцию сердца. Не исключено, что способность агонистов  $\sigma_1$ -R препятствовать развитию патологического ремоделирования миокарда связана с такими уникальными свойствами  $\sigma_1$ -R, как способность регулировать вход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного пространства в цитозоль кардиомиоцитов, так и оптимизировать кальциевые токи на уровне СПР [278]. Оптимизация под влиянием агонистов  $\sigma_1$ -R внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в условиях патологии сердечной мышцы в существенной мере улучшает пластические свойства миокарда, препятствует его ремоделированию, поддерживает насосную функцию сердца.

Результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что курсовая экспериментальная терапия фабомотизолом способствовала развитию обратного ремоделирования ЛЖ и существенному восстановлению инотропной функции сердца, динамика изменения которой, как известно, является основным критерием эффективности терапевтических воздействий при ХСН. В экстраполяции на человека терапия фабомотизолом позволила снизить тяжесть течения заболевания, переводя его из ХСН с низкой ФВ (менее 40) в прогностически более благоприятное – ХСН с промежуточной ФВ (от 40% до 49%).

Таким образом, эхокардиография позволяет у животных, перенесших оперативное вмешательство на открытом сердце, длительное время, в динамике отслеживать как этапы формирования патологического процесса, так и эффекты курсовой экспериментальной терапии, направленной на предотвращение/лечение патологического постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца. Не менее важно и то, что доказана полная корреляция между эхокардиографическими данными, свидетельствующими о наличии у крыс моделируемой ХСН, и результатами морфогистологических, биохимических и молекулярных исследований, подтверждающими наличие моделируемой патологии. Возможность использования эхокардиографии как основного/единственного инструмента для оценки динамики и подтверждения наличия/отсутствия ХСН в существенной мере оптимизирует и удешевляет доклинические фармакологические исследования, направленные на поиск и изучение механизма действия кардиотропных лекарственных средств, способных препятствовать/вызывать регрессию постинфарктного патологического ремоделирования миокарда.

Результаты, изложенные в разделе 3.3.2, опубликованы в работах с соавторами [24, 27, 31, 38]. Получен патент РФ [37].

### **3.4. Изучение возможности использования метода эхокардиографии для оценки эффективности фармакологических средств при некоронарогенной патологии миокарда**

В качестве объекта изучения некоронарогенной патологии миокарда было решено выбрать алкогольную кардиомиопатию (АКМП), которая является самым «молодым» из официально зарегистрированных заболеваний сердечно-сосудистой системы – как отдельная нозологическая форма АКМП была зарегистрирована ВОЗ в 1996 году, в РФ – в 2004 году.

В России хронический алкоголизм является одной из ведущих причин избыточной летальности – 26,6 человек на 100 000 населения [2]. Традиционно полагают, что основной причиной летальности больных, страдающих хроническим

алкоголизмом, является патология печени. Однако такая точка зрения представляется достаточно спорной, поскольку, согласно результатам анализа структуры смертности от хронического алкоголизма, основной соматической причиной летальности является АКМП [45]. Так, например, согласно данным центрального НИИ организации и информатизации здравоохранения (ФГУ ЦНИИОИЗ) и Росстата, смертность мужчин в возрасте старше 20-60 лет с документально подтвержденным хроническим алкоголизмом составляет 51,4-64,3 % от всех аутопсий, тогда как летальность от болезней органов пищеварения, включая цирроз печени, не превышает 16,4-28,8 %; у женщин эти показатели составляют, соответственно, 46,7-59,7% и 26,6-39,9% [51]. За последние годы летальность от АКМП как среди мужчин, так и женщин постоянно растет [5]. В РФ среди лиц трудоспособного возраста смертность от АКМП выше, чем от инфаркта миокарда: у мужчин – в 1,8 раза, у женщин – в 7 раз [46]. Не меньшую остроту данной проблеме придает и тот факт, что у лиц, страдающих хроническим алкоголизмом, крайне высок риск внезапной сердечной смерти. Показано, что у пациентов, страдающих алкогольной кардиомиопатией, риск внезапной сердечной смерти по сравнению с непьющими возрастает вдвое [297]. По данным различных авторов внезапная сердечная смерть диагностируется у 30-40% пациентов, страдающих алкогольной кардиомиопатией [297, 246, 62]. При этом по мере нарастания тяжести сердечной недостаточности, риск внезапной сердечной смерти у алкоголиков прогрессивно увеличивается [246, 253]. Аналогичная зависимость прослеживается между количеством потребляемого алкоголя и риском внезапной сердечной смерти [170]. Эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что среди причин внезапной сердечной смерти алкогольная кардиомиопатия занимает 2-3 место [48, 169], а у лиц, моложе 35 лет, страдающих хроническим алкоголизмом, внезапная сердечная смерть диагностируется чаще, чем при других аритмогенных заболеваниях, в том числе аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка и ишемической болезни сердца [6].

АКМП как по патогенезу, так и по особенностям клинической картины в значительной мере отличается от других наиболее распространенных заболеваний

сердечно-сосудистой системы. Это связано с тем, что в основе АКМП лежит некоронарогенное, невоспалительное моноэтиологическое алкоголь-обусловленное токсическое повреждение сердечной мышцы, в силу чего лекарственные средства, традиционно применяемые для лечения коронарогенного повреждения миокарда (органические нитраты,  $\beta$ -блокаторы, антагонисты кальция, ингибиторы АПФ), как правило, недостаточно эффективны для лечения данной патологии. По мнению академика В.Т.Ивашкина, до середины первого десятилетия XXI века эффективной схемы лечения алкогольной кардиомиопатии не было разработано [9].

Исходя из вышеизложенного, проблема разработки инновационных лекарственных средств для профилактики/лечения АКМП представляется крайне актуальной. Решение этой проблемы невозможно без использования адекватной модели, позволяющей в эксперименте воспроизвести основные клинико-диагностические признаки АКМП. Вместе с тем, анализ литературы свидетельствует о том, что подобные модели единичны и, к сожалению, не совсем корректны. Так, например, в работе Fogle R.L. с соавт. под названием «Functional proteomic analysis reveals sex-dependent differences in structural and energy-producing myocardial proteins in rat model of alcoholic cardiomyopathy» приводятся результаты эхокардиографических исследований, свидетельствующие о том, что у включенных в эксперимент животных через 18 недель алкоголизации отсутствуют признаки сформировавшейся АКМП, поскольку, согласно приведенным данным, у алкоголизированных крыс конечно-систолический и конечно-диастолический размеры левого желудочка сердца и величина его инотропной функции не отличались от контроля [131], т.е. отсутствуют патогномичные для АКМП диагностические признаки сердечной недостаточности.

На первом этапе этого исследования мы предприняли попытку разработать с использованием эхокардиографии трансляционную модель АКМП.

### 3.4.1 Эхокардиографическая оценка этапов формирования алкогольной кардиомиопатии у крыс как основа для разработки трансляционной модели

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. Изначально животные были рандомизировали на две группы: 1-я – контрольные крысы, которые имели свободный доступ к воде (n=12); 2-я – алкоголизованные крысы (n=40), получавшие 10%-ный водный раствор этанола в качестве единственного источника жидкости. В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований исходные значения ФВ не выходили за пределы референтных величин. На 2-м этапе исследования, по окончании 13-й недели алкоголизации, т.е. к моменту формирования у крыс алкогольной зависимости, определяемой по уровню потребляемого алкоголя при его свободном выборе и алкоголь-депривационному эффекту, из 2-й группы отбирали животных с высоким предпочтением алкоголя (n=24), которых повторно рандомизировали на 3 подгруппы: 2а (n=8) – эхокардиографические, а затем морфогистологические исследования, 2б (n=8) – биохимические исследования и 2в (n=8) – электрофизиологические исследования. На протяжении всего исследования еженедельно регистрировали количество потребляемого этанола (г/кг). Все отобранные животные 2-й группы активно потребляли физиологически значимое количество 10%-ного раствора этанола. В пересчете на чистый этанол среднее потребление алкоголя в течение эксперимента варьировалось в пределах 5,0–6,5 г/кг в сутки. Естественная убыль животных составила: 1-я группа – 1 особь, 2а группа – 3 особи и 2б группа – 2 особи. Оценка эхокардиографических показателей проводили соответственно до начала алкоголизации и через 14, 16, 20 и 24 недели от её начала.

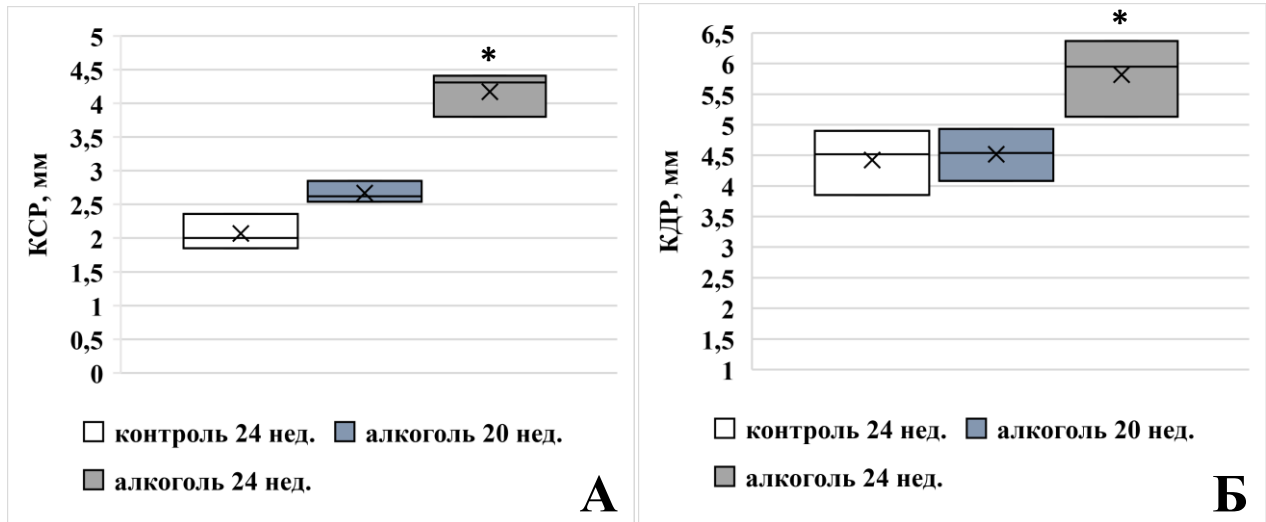
Анализ полученных результатов эхокардиографических исследований свидетельствует о том, что в первые 16 недель эксперимента ни у контрольных, ни у алкоголизованных животных не происходит каких-либо существенных изменений ни в конечных максимальных размерах левого желудочка сердца, ни в



его сократительной функции. По окончании 20-й недели наблюдения у контрольных животных по сравнению с исходным уровнем до начала эксперимента ФВ и ФУ практически не изменились, отмечено лишь незначительное, статистически незначимое, увеличение КСР и КДР. Напротив, у животных систематически, в течение 20-ти недель получавших 10% алкоголь, по данным эхокардиографии начинает формироваться гемодинамически значимая АКМП, о чем свидетельствует статистически значимое снижение инотропной функции сердца (таблица 14, рисунок 22, 23, 24). Так, например у них ФВ снижалась по сравнению с фоном перед началом эксперимента (с 89,3% до 78,8%;  $p \approx 0,019$ ). Однако при этом величины КСР и КДР левого желудочка статистически значимо не изменяются – соответственно  $p \approx 0,1613$  и  $p \approx 1,000$ .

Таблица 14 – Динамика изменения эхокардиографических показателей геометрии и инотропной функции левого желудочка у крыс в процессе систематического потребления алкоголя. Наркоз – кетамин 100 мг/кг в/б

Показатель	Контроль, n=11	Алкоголизованные животные, n=5		Показатель Краскела-Уоллиса, Н
	24 недели	20 недель	24 недели	
КСР, мм	2,00 1,85÷2,36	2,62 2,54÷2,85 $p_k \approx 0,1613$	4,31 3,80÷4,41 $p_k \approx 0,0008$	14,127 $p \approx 0,0009$
КДР, мм	4,52 3,85÷4,90	4,54 4,08÷4,93 $p_k \approx 1,0000$	5,95 5,13÷6,37 $p_k \approx 0,0171$	7,986 $p \approx 0,0184$
ФУ, %	51,3 47,8±59,1	41,9 40,3÷42,2 $p_k \approx 0,0215$	30,8 27,6÷32,2 $p_k \approx 0,0010$	15,584 $p \approx 0,0004$
ФВ, %	87,5 84,6±92,4	78,8 77,4÷79,2 $p_k \approx 0,0215$	64,5 59,8÷66,5 $p_k \approx 0,0010$	15,584 $p \approx 0,0004$
<i>Примечания:</i>				
1 Представлены медианы показателей и нижний и верхний квартили;				
2 $p_k$ – по отношению к контролю				

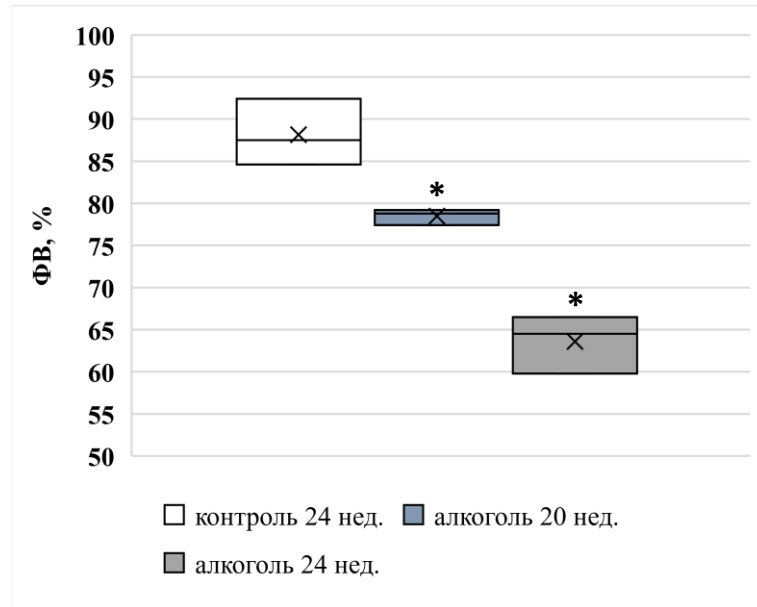


Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат КДР в мм. Представлены медианы показателей и нижний и верхний квартили. \* –  $p < 0,05$  по отношению контролю.

Рисунок 22 – Динамика изменения КСР и КДР у крыс в процессе формирования АКМП

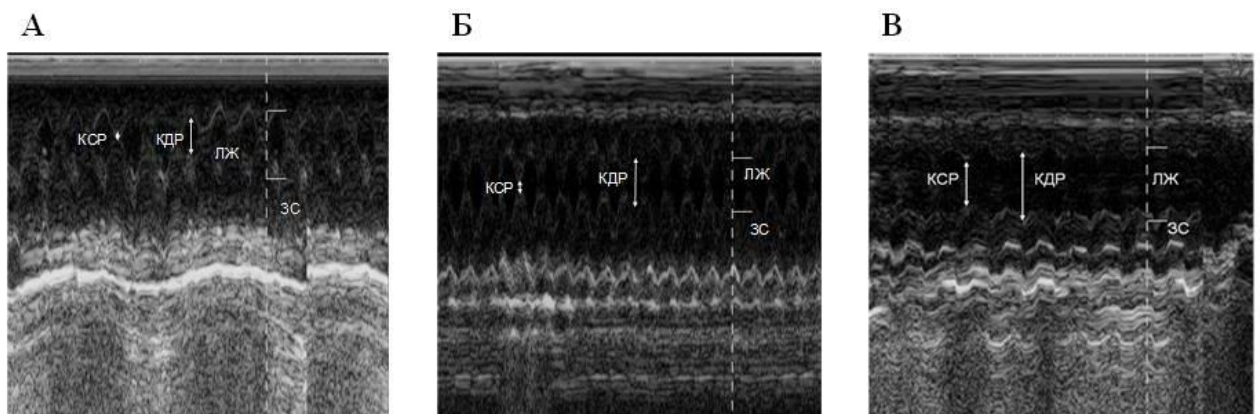
В период с 20-й по 24-ю неделю алкоголизации происходит динамическое снижение регистрируемых показателей и согласно результатам, полученным с помощью эхокардиографии, к концу 24-й недели формируется полномасштабная АКМП (таблица 14, рисунок 22, 23, 24). За этот период происходит существенное ремоделирование левого желудочка. Так КСР увеличивается на  $\approx 65\%$  (соответственно с 2,62 мм до 4,31 мм,  $p \approx 0,0008$  по сравнению с контролем), а КДР на  $\approx 30\%$  (соответственно с 4,54 мм до 5,95 мм;  $p \approx 0,0171$  по сравнению с контролем). Дилатация полости левого желудочка сердца сопровождается динамическим снижением его инотропной функции: ФВ за этот период снижается еще на 18% (соответственно с 78,8% до 64,5%;  $p \approx 0,001$ ), а ФУ – более чем на четверть (соответственно с 41,9% до 30,8%;  $p \approx 0,001$ ). Полученные результаты позволяют говорить о том, что у крыс, подвергнутых принудительной алкоголизации, АКМП начинает формироваться с 20-й недели систематического потребления алкоголя, о чем свидетельствует статистически значимое снижение инотропной функции сердца, а к концу 24-й недели формируется дилатационная алкогольная кардиомиопатия, характеризующаяся не только значительным

угнетением сократительной функции, но и статистически значимой дилатацией левого желудочка сердца, что хорошо соответствует данным клинических эхокардиографических исследований пациентов, страдающих АКМП [58, 127].



Примечание: По оси ординат ФВ в %. Представлены медианы показателей и нижний и верхний квартили. \* –  $p < 0,05$  по отношению контролю.

Рисунок 23 – Динамика изменения ФВ у крыс в процессе формирования АКМП



Примечание: А – эхокардиограмма контрольного животного; Б – эхокардиограмма крысы, в течение 20 недель систематически потреблявшей алкоголь; В- эхокардиограмма крысы, в течение 24 недель систематически потреблявшей алкоголь. КСР – конечно-систолический размер, КДР – конечно-диастолический размер, ЛЖ – полость левого желудочка, ЗС – задняя стенка левого желудочка.

Рисунок 24 – Оригинальные ЭХоКГ, отражающие этапы формирования АКМП у крыс

Для подтверждения наличия/отсутствия характерных для АКМП изменений был проведен комплекс морфогистологических, биохимических и электрофизиологических исследований.

В морфогистологических и биохимических исследованиях [35], выполненных сотрудниками лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в.н.с. А.В. Сорокиной и н.с. И.А. Мирошкиной, было показано, что у крыс с АКМП зафиксирована характерная для АКМП дилатация обоих желудочков сердца; у всех животных в межмышечной строме и ряде кардиомиоцитов обнаруживаются капли жировых включений различной величины, что позволяет говорить о наличии признаков жировой инфильтрации миокарда, являющейся основным гистологическим критерием АКМП [7, 8]; наряду с кардиомиоцитами в состоянии умеренной гипертрофии выявляются истонченные, атрофичные мышечные клетки. Этот феномен представляется достаточно важным, поскольку именно сочетание гипертрофии и атрофии кардиомиоцитов также является одним из характерных гистологических признаков АКМП [1]. У алкоголизированных животных по сравнению с контрольными зарегистрировано статистически значимое увеличение уровня фосфолипидов, а также статистически значимое снижение коэффициента атерогенности – биохимических маркеров хронического алкоголизма [196, 261].

При проведении электрофизиологических исследований [18], выполненных с.н.с. лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова В.Н. Столяруком и н.с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова И.А. Мирошкиной, показано, что у крыс с АКМП формируется электрическая нестабильность кардиомиоцитов, что полностью соответствует клиническим наблюдениям о том, что у больных алкогольной кардиомиопатией резко возрастает риск внезапной сердечной смерти [297, 246, 62].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать заключение о том, что нами разработана трансляционная модель АКМП, в полной мере воспроизводящая в эксперименте основные клинико-диагностические критерии этого заболевания и

позволяющая изучать как тонкие механизмы, лежащие в основе этого, во многом не исследованного патологического процесса, так и проводить поиск и доклиническую оценку фармакологических средств, способных как препятствовать развитию дилатационной сердечной недостаточности, так и снижать риск внезапной сердечной смерти. Не менее важно и то, что эхокардиография может при проведении такого рода экспериментов служить ключевым инструментом, позволяющим не только неинвазивным способом оценить этапы формирования патологического процесса, но и в существенной степени снизить затраты на их проведение.

Результаты, изложенные в разделе 3.4.1, опубликованы в работах с соавторами [18, 26, 35]. Получен патент РФ [56].

#### 3.4.2 Изучение возможности использования эхокардиографии для оценки кардиопротективного действия лекарственных средств на трансляционной модели АКМП

Как уже было отмечено выше, эффективной схемы терапии АКМП до настоящего времени не существует. Однако ряд кардиологов полагает, что препаратом выбора для лечения этой патологии является триметазидин [9, 7, 187], являющийся парциальным ингибитором окисления жирных кислот – р-FOX ингибитором (partial fatty acid oxidation inhibitor). В основе механизма действия препарата лежит его способность селективно блокировать митохондриальную 3-кетоацил коэнзим А-тиолазу, катализирующую в кардиомиоцитах последний этап  $\beta$ -окисления свободных жирных кислот [197].

Известно, что в условиях ишемического и/или токсического повреждения кардиомиоцитов происходит подавление аэробного синтеза АТФ, осуществляемого за счет физиологического  $\beta$ -окисления свободных жирных кислот, в результате чего в миокарде содержание недоокисленных свободных жирных кислот резко возрастает [292]. Этот процесс получил название «метаболическое ремоделирование миокарда» [294]. Показано, что именно

накопление недоокисленных продуктов метаболизма свободных жирных кислот в кардиомиоцитах во многом обуславливает формирование дисфункции левого желудочка сердца, его ремоделирование и повышает риск развития злокачественных нарушений сердечного ритма, а также инициирует процессы, ответственные за апоптоз кардиомиоцитов [208, 265].

Кардиопротективное действие триметазидина во многом связано с его способностью замедлять  $\beta$ -окисление свободных жирных кислот и тем самым переводить метаболизм миокарда на аэробное окисление глюкозы, т.е. на окислительное декарбоксилирование. В силу того, что окисление глюкозы по сравнению со свободными жирными кислотами требует меньшего количества молекул кислорода, то на фоне терапии триметазидином создаются условия для энергетической устойчивости поврежденных кардиомиоцитов [292]. Параллельно с этим, вследствие активации триметазидином метаболизма пирувата, подавляется его превращение в лактат и, как следствие этого, уменьшается образование ионов  $H^+$ , что в конечном итоге препятствует перегрузке кардиомиоцитов ионами  $Ca^{2+}$  [292]. Помимо этого показано, что улучшение процессов окислительного фосфорилирования на фоне применения триметазидина сопровождается уменьшением продукции митохондриями свободных радикалов кислорода [204]. Не менее важно и то, что триметазидин инициирует импорт фосфолипидов в клеточную мембрану кардиомиоцитов, т.е. проявляет мембранопротектерную активность [268].

Исходя из изложенного, мы рассматривали триметазидин как эталонный препарат, способный в условиях АКМП эффективно подавлять патогномичную для этой патологии жировую дистрофию кардиомиоцитов и тем самым восстанавливать функциональную активность сердечной мышцы. Следует также отметить, что несмотря на то, что триметазидин с успехом применяется в клинике для лечения пациентов, страдающих АКМП, до настоящего времени экспериментального изучения эффектов триметазидина в условиях сформировавшейся АКМП не проводили.

*3.4.2.1 Эхокардиографическое изучение возможности использования  
триметазида для лечения АКМП в условиях продолжающегося  
систематического приема алкоголя*

Опыты проводили на беспородных белых крысах-самцах с начальной массой тела 180–200 г. В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований исходная величина ФВ не выходила за пределы референтных величин.

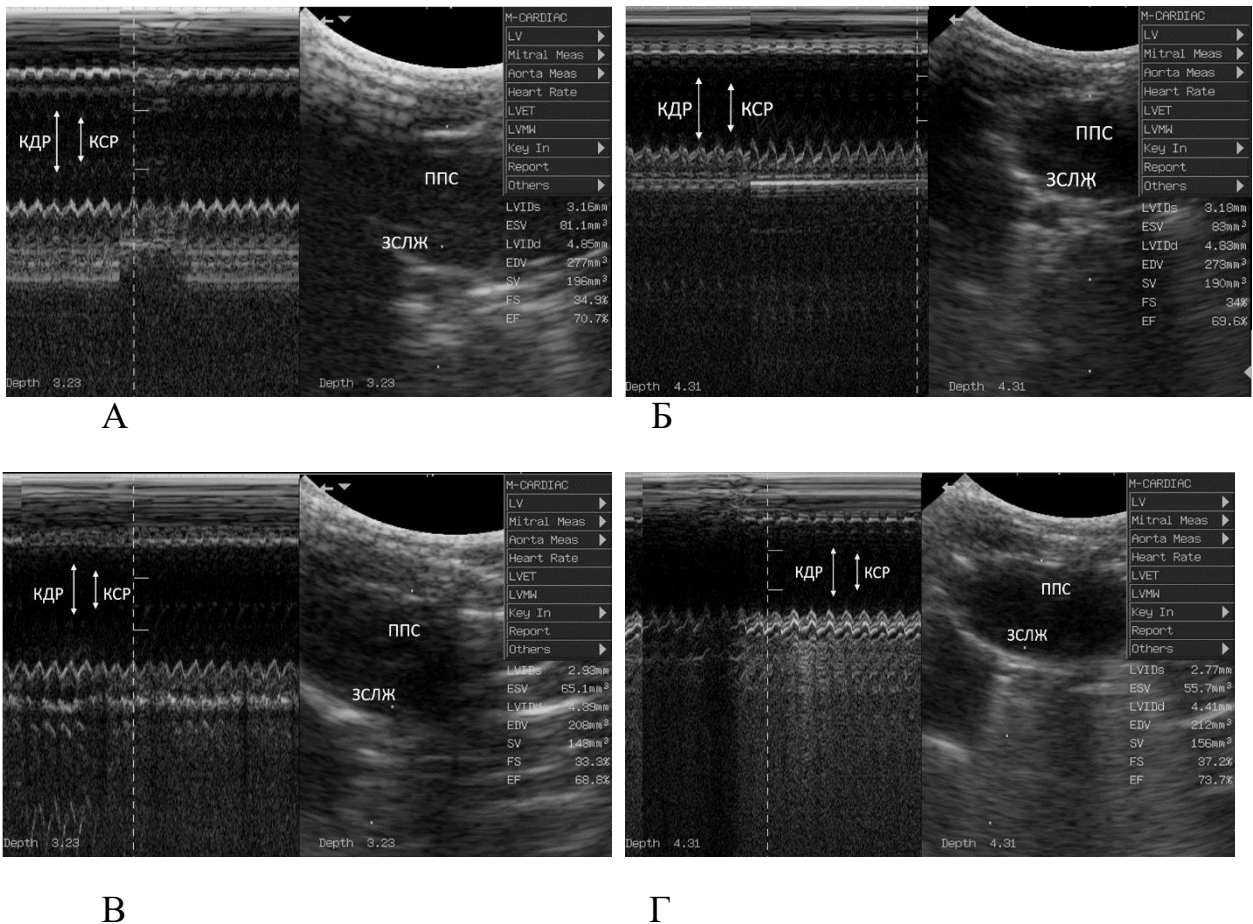
На первом этапе исследования животных рандомизировали на две группы: 1-я (n=10) – интактные крысы, имевшие свободный доступ к воде; 2-я (n=20) – животные, которые в принудительном порядке подвергались алкоголизации путем использования в качестве единственного источника жидкости 10% водного раствора этанола в течение 24-х недель. По окончании 24-й недели, после подтверждения наличия у крыс 2-й группы эхокардиографических признаков сформировавшейся АКМП, их вновь рандомизировали на две подгруппы: 2а – основная – триметазидин + алкоголь и 2б – контрольная – алкоголь. Животным подгруппы 2а (n=10) ежедневно в течение 28-ми дней вводили триметазидин в дозе 30 мг/кг/сут., в/б; крысам подгруппы 2б (n=10) по аналогичной схеме вводили эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

Как следует из полученных данных, исходные показатели у животных 1-й и 2-й групп существенно не различаются. У животных 1-й группы через 24 недели эксперимента не произошло каких-либо значимых изменений в величине регистрируемых показателей, отмечена лишь статистически незначимая тенденция к увеличению конечных максимальных размеров левого желудочка сердца. Так, например, у них КСР к концу 24-й недели по сравнению с исходным уровнем увеличился на 0,19 мм (соответственно с  $1,73 \pm 0,2$  мм до  $1,92 \pm 0,3$  мм), а ФВ уменьшилась ( $88,1 \pm 1,7\%$  и  $87,6 \pm 0,8\%$ ). Близкая динамика отмечена и в период с 24-й по 28-ю неделю эксперимента (таблица 15, рисунок 24, 25). Так, например величина КСР увеличилась с  $1,92 \pm 0,03$  мм до  $2,22 \pm 0,07$  мм, а ФУ уменьшилась с  $51,5 \pm 1,0\%$  до  $48,9 \pm 1,1\%$ .

Таблица 15 – Влияние триметазида (30 мг/кг/сут. в/б в течение 4 нед., начиная с 25-й недели алкоголизации) на эхокардиографические показатели у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях продолжающейся алкоголизации. Кетамин – 100 мг/кг в/б

Показатель	Интактные крысы, n=10			Алкоголизованные крысы				
	Исходный уровень	Через 24 нед.	Изменение с 24 по 28 нед.	Исходный уровень, n=20	Через 24 нед.		Изменение с 24 по 28 нед.	
					Контроль, n=10	Триметазидин, n=10	Контроль, n=10	Триметазидин, n=10
КСР, мм	1,73±0,3	1,92±0,03 p=0,0001	+0,30±0,05 p=0,007 p <sub>1</sub> =0,0006	1,90±0,07	2,76±0,07	2,80±0,09 p=0,700	+0,08±0,02 p <sub>1</sub> =0,007	-0,10±0,04 p=0,040 p <sub>1</sub> =0,050
КДР, мм	3,62±0,1	3,97±0,09 p=0,0212	+0,38±0,11 p=0,0034 p <sub>1</sub> =0,0002	3,81±0,09	4,36±0,09	4,45±0,15 p=0,562	+0,01±0,04 p <sub>1</sub> =0,935	+0,07±0,05 p=0,569 p <sub>1</sub> =0,378
ФУ, %	52,6±1,3	51,5±1,0 p=0,0001	-2,6±1,2 p=0,24 p <sub>1</sub> =0,055	52,6±0,9	36,8±0,6	37,1±0,7 p=0,78	-1,3±0,4 p <sub>1</sub> =0,006	+2,9±0,9 p=0,006 p <sub>1</sub> =0,009
ФВ, %	88,1±1,7	87,6±0,8 p=0,0001	-2,1±0,9 p=0,53 p <sub>1</sub> =0,046	88,2±1,4	73,2±0,9	73,5±0,8 p=0,78	-1,6±0,5 p <sub>1</sub> =0,007	+3,2±0,9 p=0,002 p <sub>1</sub> =0,007
<i>Примечания:</i>								
1 Указаны средние арифметические и их стандартные ошибки;								
2 p – указано по отношению к контролю;								
3 p <sub>1</sub> – указано по отношению к уровню в конце 24-й недели.								





Примечание: А – контроль после 24 недель алкоголизации; Б – контроль после 28 недель алкоголизации; В – триметазидин после 24 недель алкоголизации; Г – триметазидин после 28 недель алкоголизации. КСР – конечно-систолический размер, КДР – конечно-диастолический размер, ЛЖ – полость левого желудочка, ЗС – задняя стенка левого желудочка.

Рисунок 25 – Оригинальные ЭхоКГ крыс с АКМП, получавших триметазидин (30 мг/кг/сут. в/б в течение 28 дней), начиная с 25-й недели алкоголизации

У животных, подвергнутых алкоголизации в течение 24-х недель, отмечено статистически значимое, патогномичное для АКМП увеличение конечных максимальных размеров левого желудочка сердца и снижение его сократительной способности (таблица 15, рисунок 25). Например, к этому времени КСР увеличился по сравнению с контролем в подгруппе 2а на 44% ( $p=0,0001$ ), а в подгруппе 2б – на 46% (различие между подгруппами статистически не значимо –  $p=0,700$ ), а ФВ в обеих подгруппах уменьшилась в среднем на 17% (различие между подгруппами статистически не значимо –  $p=0,780$ ). В подгруппе 2б в период с 24-й по 28-ю неделю, на фоне продолжающегося приема алкоголя, отмечено незначительное

динамическое увеличение конечных максимальных размеров левого желудочка сердца и снижение его сократительной способности (таблица 15, рисунок 25, 26).

У животных с АКМП, получавших курсовую терапию триметазидином (подгруппа 2а), начатую в условиях продолжающегося приема алкоголя, препарат оказывает кардиопротективное действие, характеризующееся не только значимым увеличением инотропной функции левого желудочка сердца, т.е. снижением тяжести течения сердечной недостаточности, но и уменьшением его максимального КСР, т.е. обратным ремоделированием левого желудочка (таблица 15, рисунок 25, 26). Так, если у контрольных алкоголизированных крыс за период с 24-й по 28-ю неделю КСР увеличился с  $2,76 \pm 0,07$  мм до  $2,84 \pm 0,09$  мм, то у животных, получавших триметазидин, он уменьшился на 4% (соответственно с  $2,80 \pm 0,09$  мм до  $2,70 \pm 0,04$  мм,  $p=0,05$ ). Различие между подгруппами 2а и 2б статистически значимо –  $p=0,04$ . У контрольных крыс в этот период ФВ левого желудочка сердца снизилась с  $73,2 \pm 0,9\%$  до  $71,6 \pm 0,8\%$ , тогда как у леченных, напротив, увеличилась на 4% (соответственно с  $73,5 \pm 0,8\%$  до  $76,7 \pm 0,9\%$ ,  $p=0,007$ ). Различие между подгруппами 2а и 2б статистически значимо –  $p=0,002$ .

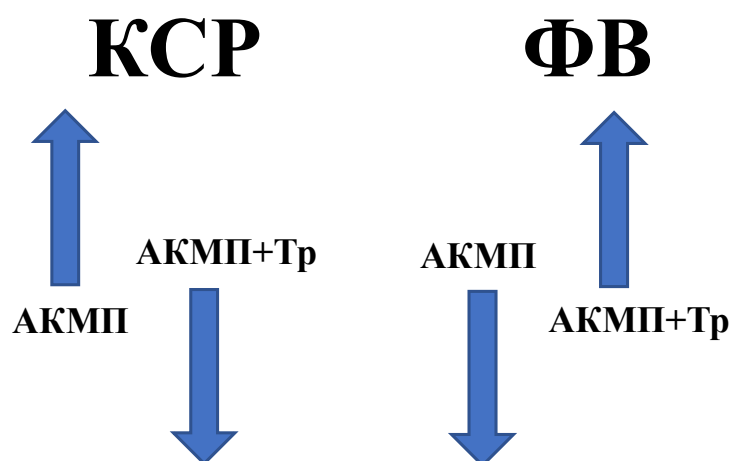


Рисунок 26 – Влияние триметазидаина (30 мг/кг/сут. в/б в течение 25-й – 28-й недель алкоголизации) на динамику КСР и ФВ крыс со сформировавшейся АКМП

Таким образом, нами впервые при помощи эхокардиографии в экспериментальных условиях показана эффективность курсовой терапии триметазидином в плане лечения АКМП, что хорошо согласуется с известными клиническими наблюдениями [9, 7, 187].

Вместе с тем, оставалось не ясным, насколько эффективной будет терапия триметазидином у животных со сформировавшейся АКМП в условиях острой отмены алкоголя, т.е. в условиях абстиненции, поскольку из клиники известно, что этот период сопровождается не только грубыми психоэмоциональными нарушениями, но и усилением тяжести сердечно-сосудистой патологии (прогрессирование сердечной недостаточности, лабильность АД, нарушение сердечного ритма и т.д.) [163, 116, 193].

#### *3.4.2.2 Эхокардиографическое изучение возможности использования триметазидина для лечения АКМП в условиях алкогольной депривации*

Опыты проводили на беспородных белых крысах-самцах с начальной массой тела 180–200 г. В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований исходная величина ФВ не выходила за пределы референтных величин.

На первом этапе исследования животных рандомизировали на две группы: 1-я (n=9) – интактные крысы, имевшие свободный доступ к воде; 2-я (n=17) – животные, которые в принудительном порядке подвергались алкоголизации путем использования в качестве единственного источника жидкости 10% водного раствора этанола в течение 24-х недель. По окончании 24-й недели, после подтверждения наличия у крыс 2-й группы эхокардиографических признаков сформировавшейся АКМП, алкоголизацию животных прекращали и крыс вновь рандомизировали на две подгруппы: 2а – основная и 2б – контрольная. Животным подгруппы 2а (n=10) ежедневно в течение 28 дней вводили триметазидин в дозе 30 мг/кг/сут., в/б; крысам подгруппы 2б (n=7) по аналогичной схеме вводили эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что фоновые показатели животных 1-й и 2-й групп практически идентичны. У животных 1-ой группы через 24 недели эксперимента не произошло каких-либо существенных изменений в величине регистрируемых показателей, отмечена лишь статистически незначимая тенденция к увеличению конечных максимальных размеров левого желудочка сердца. Так, например, величина КДР на фоне и через 24 недели составляла соответственно  $3,58 \pm 0,09$  мм и  $3,66 \pm 0,11$  мм, а ФВ соответственно  $86,0 \pm 2,1\%$  и  $85,8 \pm 0,8\%$ . Близкая тенденция наблюдается и в период с 24-й по 28-ю неделю эксперимента (таблица 16, рисунок 27). Так, например, величина КСР изменилась с  $1,86 \pm 0,05$  мм до  $1,99 \pm 0,06$  мм, а ФУ соответственно с  $49,2 \pm 1,0\%$  до  $48,3 \pm 0,9\%$ .

Иная картина наблюдалась у животных, подвергнутых алкоголизации в течение 24-х недель. К этому времени у них отмечено статистически значимое увеличение конечных максимальных размеров левого желудочка сердца и снижение его сократительной способности (таблица 16, рисунок 27), что характерно для АКМП. Например, к этому времени КСР увеличился по сравнению с интактным контролем в подгруппе 2а на 52%, а в подгруппе 2б – на 47% (различие между подгруппами статистически не значимо –  $p=0,365$ ), а ФВ в обеих подгруппах уменьшилась в среднем на 20% (различие между подгруппами статистически не значимо –  $p=0,12$ ). В подгруппе 2б в период с 24-й по 28-ю неделю, на фоне алкогольной депривации, продолжалось динамическое увеличение конечных максимальных размеров левого желудочка сердца и снижение его сократительной способности (таблица 16, рисунок 27). Так, например за этот период КДР увеличился на 8% (соответственно с  $3,99 \pm 0,13$  мм до  $4,32 \pm 0,13$  мм,  $p=0,108$ ), а ФВ снизилась еще на 4% (соответственно с  $66,2 \pm 0,9\%$  до  $63,7 \pm 2,0\%$ ,  $p=0,094$ ).

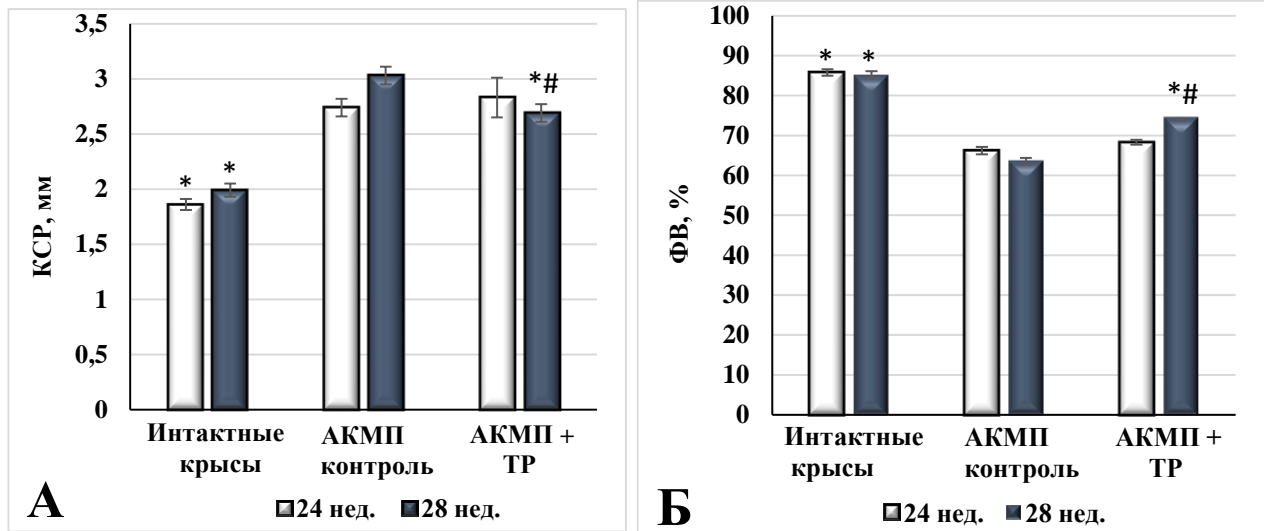
Полученные данные свидетельствуют о том, что у не леченных животных (подгруппа 2б) в период алкогольной депривации сохраняется тенденция к прогрессированию патологического процесса.

Таблица 16 – Влияние триметазида (30 мг/кг/сут. в течение 28 дней, начиная с 1-го дня абстиненции, в/б) на показатели эхокардиограммы крыс со сформировавшейся АКМП в условиях 28-дневной алкогольной депривации. Кетамин – 100 мг/кг в/б

Показатель	Интактные крысы, n=9				Алкоголизованные крысы						
	Исходный уровень	24 нед.	+28 сут.	Изменение с 24 по 28 сут.	Исходный уровень, n=17	24 нед. алкоголизации		+28 сут. депривации		Изменение после депривации	
						Контроль, n=7	Триметазидин, n=10	Контроль, n=7	Триметазидин, n=10	Контроль, n=7	Триметазидин, n=10
КСР, мм	1,70±0,06	1,86±0,05 p=0,0002	1,99±0,06 p=0,0001	+0,13±0,04 p=0,131 p <sub>1</sub> =0,013	1,67±0,09	2,74±0,08	2,83±0,08 p=0,365	3,03±0,18	2,69±0,08 p=0,005	+0,29±0,13 p <sub>1</sub> =0,065	-0,14±0,04 p=0,0008 p <sub>1</sub> =0,005
КДР, мм	3,58±0,09	3,66±0,11 p=0,061	3,86±0,11 p=0,008	+0,20±0,10 p=0,405 p <sub>1</sub> =0,089	3,49±0,05	3,99±0,13	4,23±0,12 p=0,172	4,32±0,13	4,34±0,09 p=0,872	+0,33±0,17 p <sub>1</sub> =0,108	+0,12±0,05 p=0,366 p <sub>1</sub> =0,050
ФУ, %	51,9±1,1	49,2±1,0 p=0,0001	48,3±0,9 p=0,0001	-0,8±0,8 p=0,561 p <sub>1</sub> =0,343	52,2±1,3	31,4±0,6	33,0±0,7 p=0,184	29,9±1,3	38,1±1,1 p=0,0002	-1,5±0,8 p <sub>1</sub> =0,122	+5,1±0,8 p=0,0002 p <sub>1</sub> =0,0003
ФВ, %	86,0±2,1	85,8±0,8 p=0,0001	85,1±0,8 p=0,0001	-0,7±0,7 p=0,197 p <sub>1</sub> =0,322	85,1±1,2	66,2±0,9	68,3±1,0 p=0,120	63,7±2,0	74,6±1,3 p=0,0002	-2,5±1,3 p <sub>1</sub> =0,094	+6,3±0,9 p=0,0001 p <sub>1</sub> =0,0003

*Примечания:*

- 1 Показаны средние арифметические показателей и их стандартные ошибки;
- 2 p – указано по отношению к алкоголизированному контролю;
- 3 p<sub>1</sub> – указано по отношению к уровню в конце 24-й недели.



Примечание: А – по оси ординат КСР в мм; Б – по оси ординат ФВ в %. Левый столбик – 24 нед. алкоголизации; правый – 28 сут. алкогольной депривации. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \* –  $p < 0,05$  по отношению к АКМП контролю; # –  $p < 0,05$  по отношению к уровню в конце 24-й недели алкоголизации. Тр – триметазидин

Рисунок 27 – Влияние триметазидина (30 мг/кг/сут. в/б в течение 28 дней, начиная с 1-го дня абстиненции после 24 нед. алкоголизации) на КСР и ФВ крыс со сформировавшейся АКМП в условиях 28 дневной алкогольной депривации

Курсовая терапия триметазидином у крыс со сформировавшейся АКМП (подгруппа 2а), начатая в условиях алкогольной абстиненции, оказывает выраженное кардиопротективное действие, характеризующееся не только значимым увеличением инотропной функции левого желудочка сердца, т.е. снижением тяжести течения сердечной недостаточности, но и уменьшением его КСР, т.е. обратным ремоделированием левого желудочка (таблица 16, рисунок 27). Так, если у контрольных алкоголизованных крыс за период с 24-й по 28-ю неделю КСР увеличился на 11% (соответственно с  $2,74 \pm 0,08$  мм до  $3,03 \pm 0,18$  мм,  $p = 0,065$ ), то у животных, получавших триметазидин, он уменьшился на 5% (соответственно с  $2,83 \pm 0,06$  мм до  $2,69 \pm 0,07$  мм,  $p = 0,005$ ). Различие между подгруппами 2а и 2б статистически значимо –  $p = 0,0008$ . У контрольных крыс в этот период ФВ левого желудочка сердца снизилась еще на 4% (соответственно с  $66,2 \pm 0,9\%$  до  $63,7 \pm 2,0\%$ ,  $p = 0,094$ ), тогда как у леченных, напротив, увеличилась на 9%

(соответственно с  $68,3 \pm 1,0\%$  до  $74,6 \pm 1,3\%$ ,  $p=0,0002$ ). Различие между подгруппами 2а и 2б статистически значимо –  $p=0,0001$ .

Таким образом, курсовая терапия триметазидином у животных со сформировавшейся АКМП в условиях абстиненции, так же как и в условиях продолжающегося ежедневного приема алкоголя, оказывает значимое кардиопротективное действие, способствующее увеличению инотропной функции левого желудочка сердца и в определенной мере уменьшающее интенсивность его ремоделирования.

Не менее важно и то, что результаты эхокардиографических исследований были подтверждены при проведении морфогистологических исследований, выполненных сотрудниками лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в.н.с., д.б.н. А.В. Сорокиной и н.с. И.А. Мирошкиной [42].

Поскольку результаты морфогистологических исследований полностью подтверждают полученные на разработанной нами трансляционной модели АКМП данные эхокардиографии, свидетельствующие о наличии у триметазида кардиопротективной активности, это позволяет говорить о валидности использования этого методического приема для оценки кардиотропной активности лекарственных средств/биологически активных соединений в условиях некоронарогенного повреждения миокарда.

Механизм кардиопротективного действия триметазида при АКМП ранее не изучался. Однако можно полагать, что он патогенетический и направлен на основные звенья этого патологического процесса. Известно, что у пациентов, страдающих АКМП, в результате хронического токсического действия алкоголя и его метаболитов, кардиомиоциты подвергаются окислительному стрессу, в них накапливаются продукты перекисного окисления липидов, нарушается метаболизм и транспорт свободных жирных кислот. Все это приводит к нарушению структуры клеточных мембран и гибели кардиомиоцитов [50, 238]. Как было отмечено выше, р-FOX ингибитор триметазидин, селективно блокируя митохондриальную 3-кетоацил коэнзим А-тиолазу, переключает метаболизм миокарда с использования

свободных жирных кислот на окисление глюкозы, снижает содержание в крови продуктов перекисного окисления липидов за счет активации антиоксидантных каскадов, уменьшает накопление продуктов этерификации жирных кислот и, в конечном итоге, способствует восстановлению функционального состояния клеточных мембран кардиомиоцитов [288, 4]. Можно полагать, что именно с этими механизмами действия триметазида связана его способность уменьшать интенсивность жировой дистрофии кардиомиоцитов и активировать репаративные процессы в сердечной мышце. Блокада триметазином 3-кетоацил-коэнзим А-тиолазы хорошо объясняет его метаболические эффекты, однако до последнего времени оставалось не ясным, за счет чего р-FOX ингибиторы препятствуют и/или уменьшают интенсивность ремоделирования миокарда. Согласно современным представлениям, этот процесс связан с повреждением и/или потерей миокардом экстрацеллюлярного матрикса, возникающим вследствие гиперпродукции металлопротеиназ (ММП), преимущественно цинк-зависимых желатиназ ММП-2 и ММП-9 [157, 143]. Кроме того, показано, что ММП-2, помимо внеклеточной, имеет и внутриклеточную локализацию, в том числе на мембранах саркоплазматического ретикулума и митохондрий, а также в ядре клетки [157], где она, по-видимому, играет важную роль в развитии раннего этапа сократительной дисфункции поврежденных кардиомиоцитов [71]. Недавно впервые были опубликованы данные о взаимосвязи нарушения сократительного статуса кардиомиоцитов, активностью внутриклеточной ММП-2, ацилкоэнзима А и НАДН<sup>+</sup>-дегидрогеназы [189], т.е. продемонстрирована взаимосвязь между ММП-2 и акцепторами действия р-FOX ингибиторов.

Из клиники известно, что у больных АКМП активируются воспалительные процессы в миокарде; о чем свидетельствует резкое (в большей степени чем при ишемической болезни сердца) увеличение в плазме крови концентрации интерлейкинов IL6, IL8, IL12, фактора некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) и С-реактивного белка [50, 47]. Хорошо известно, что провоспалительные цитокины, в частности TNF- $\alpha$ , играют одну из ключевых ролей в инициации патологического ремоделирования миокарда, апоптоза кардиомиоцитов и последующей сердечной



недостаточности [182, 245, 97]. В опытах на крысах показано, что TNF- $\alpha$ , который системно вводили в концентрациях, сопоставимых с таковыми у больных с ХСН, вызывает дисфункцию и ремоделирование ЛЖ сердца [86]. Поскольку для триметазидина показано наличие противовоспалительной активности [119, 118], не исключено, что и она вносит определенный вклад в способность препарата уменьшать интенсивность патологического ремоделирования миокарда при АКМП.

Таким образом, нами в эксперименте на трансляционной модели АКМП при помощи эхокардиографии впервые продемонстрирована ранее показанная в клинике эффективность р-FOX ингибитора триметазидина в плане лечения этой патологии, заключающаяся в способности препарата не только увеличивать сократительный статус левого желудочка сердца, но и уменьшать степень его патологического ремоделирования. Валидность полученных результатов подтверждена данными морфогистологических исследований.

Результаты, изложенные в разделе 3.4.2, опубликованы в работах с соавторами [42, 43, 61].

### 3.4.3 Эхокардиографическое изучение эффективности экспериментальной терапии фабомотизолом алкогольной кардиомиопатии

Поиск новых оригинальных лекарственных средств для профилактики/лечения АКМП представляется несомненно актуальной задачей, поскольку в настоящее время в клинике препараты для патогенетической терапии такого рода больных, возможно за исключением триметазидина, практически отсутствуют [9]. Одним из возможных подходов к решению этой проблемы является использование агонистов сигма-рецепторов ( $\sigma_1$ -R). В настоящее время  $\sigma_1$ -R рассматривают как универсальный эволюционно сложившийся «ремонтный» комплекс клетки [55]. Роль  $\sigma_1$ -R в регуляции функциональной активности кардиомиоцитов подробно рассмотрена подразделе 3.3.2.2. Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что агонисты  $\sigma_1$ -R обладают выраженной

кардиопротективной активностью [82, 83, 279, 34]. Следует отметить, что исследования по изучению кардиопротективной активности агонистов  $\sigma_1$ -R при некоронарной патологии миокарда, в частности АКМП, в литературе не представлены. Опыты по изучению возможности использования фабомотизола для экспериментальной терапии АКМП проводили по схеме, аналогичной используемой при изучении эталонного препарата триметазидина.

*3.4.3.1 Эхокардиографическое изучение эффективности экспериментальной терапии фабомотизолом алкогольной кардиомиопатии в условиях алкогольной депривации*

Опыты проводили на беспородных белых крысах-самцах с начальной массой тела 180–200 г. В эксперимент были включены только те животные, у которых перед рандомизацией согласно данным эхокардиографических исследований исходная величина ФВ не выходила за пределы референтных величин.

На первом этапе исследования животных рандомизировали на две группы: 1-я (n=8) – интактные крысы, имевшие свободный доступ к воде; 2-я (n=18) – животные, которые в принудительном порядке подвергались алкоголизации путем использования в качестве единственного источника жидкости 10% водного раствора этанола в течение 24 недель. По окончании 24-й недели, после подтверждения наличия у крыс 2-й группы эхокардиографических признаков сформировавшейся АКМП, алкоголизацию животных прекращали и крыс вновь рандомизировали на две подгруппы: 2а – основная и 2б – контрольная. Животным подгруппы 2а (n=9) ежедневно в течение 28 дней вводили фабомотизол (15 мг/кг, в/б) в 0,2-0,3 мл апирогенной воды для инъекций; крысам подгруппы 2б (n=9) по аналогичной схеме вводили эквивалентный объем апирогенной воды для инъекций. Оценку эхокардиографических показателей проводили за сутки до начала алкоголизации и через 24 и 28 недель от момента начала алкоголизации.

Как следует из полученных данных, фоновые показатели животных 1-й и 2-й групп близки между собой. У животных 1-й группы через 24 недели, так же, как и

в предыдущих сериях экспериментов, не произошло каких-либо существенных изменений в величине регистрируемых показателей, отмечена лишь статистически незначимая тенденция к увеличению конечных максимальных размеров левого желудочка сердца (таблица 17, рисунок 28).

Так, например, величина КСР на фоне и через 24 недели составила соответственно  $1,96 \pm 0,11$  мм и  $2,03 \pm 0,15$  мм ( $p=0,237$ ), а ФВ соответственно  $82,7 \pm 2,1\%$  и  $81,4 \pm 1,9\%$  ( $p=0,641$ ). Аналогичная тенденция наблюдается и в период с 24-й по 28-ю неделю эксперимента (таблица 17, рисунок 28) – величина КСР изменилась с  $2,03 \pm 0,15$  мм до  $2,05 \pm 0,10$  мм ( $p=0,901$ ), КДР с  $4,01 \pm 0,06$  мм до  $4,09 \pm 0,18$  мм ( $p=0,286$ ) а ФВ соответственно с  $81,4 \pm 1,0\%$  до  $80,5 \pm 1,2\%$  ( $p=0,754$ ).

У животных, подвергнутых алкоголизации в течение 24-х недель, отмечено статистически значимое увеличение конечных максимальных размеров левого желудочка сердца и снижение его сократительной способности (таблица 17, рисунок 28), что характерно для АКМП. Например, к этому времени КСР увеличился по сравнению с исходным уровнем в подгруппе 2а на 58%, а в подгруппе 2б – на 54% (различие между подгруппами статистически не значимо –  $p=0,567$ ), а ФВ снизилась в подгруппе 2а на 22%, а в подгруппе 2б – на 20% (различие между подгруппами статистически не значимо –  $p=0,567$ ). В подгруппе 2б в период с 24-й по 28-ю неделю, на фоне алкогольной депривации, не наблюдалось существенных изменений в конечных максимальных размерах левого желудочка сердца и величине его сократительной способности (таблица 17, рисунок 28). Так, например, за этот период КСР увеличился на 3% (соответственно с  $2,91 \pm 0,21$  мм до  $2,99 \pm 0,25$  мм,  $p=0,827$ ), КДР на 4% (соответственно с  $4,31 \pm 0,19$  мм до  $4,47 \pm 0,12$  мм,  $p=0,682$ ), а ФВ снизилась еще на 2% (соответственно с  $66,1 \pm 1,9\%$  до  $65,0 \pm 1,4\%$ ,  $p=0,629$ ).

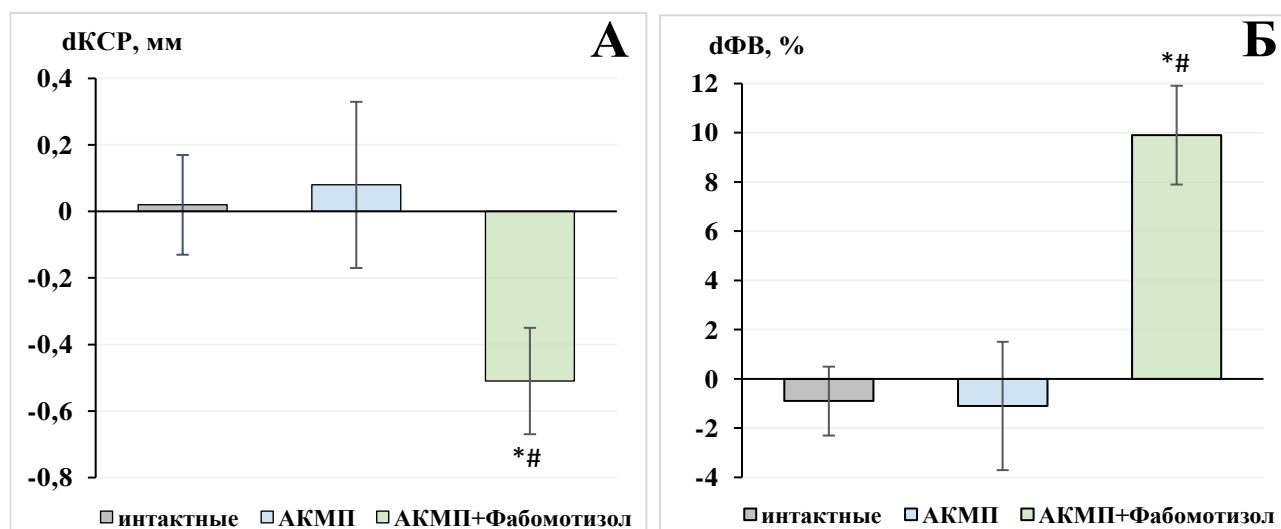
Как следует из полученных данных, у не леченных животных (подгруппа 2б) в период алкогольной депривации не наблюдается какого-либо улучшения в состоянии внутрисердечной гемодинамики, напротив, прослеживается незначительная тенденция к прогрессированию сердечной недостаточности.

Таблица 17 – Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут. в течение 28 дней, начиная с 1-го дня абстиненции, в/б) на показатели эхокардиограммы крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях 28-дневной алкогольной депривации. Наркоз – кетамин 100 мг/кг в/б

Показатель	Интактные крысы, n=9				Алкоголизованные крысы						
	Исходный уровень	24 нед.	+28 сут.	Изменение через 28 сут.	Исходный уровень, n=18	24 нед. алкоголизации		+28 сут. депривации алкоголя		Изменение после депривации алкоголя	
						Контроль, n=9	Фабомотизол, n=9	Контроль, n=9	Фабомотизол, n=9	Контроль, n=9	Фабомотизол, n=9
КСР, мм	1,96±0,11	2,03±0,15 p=0,024	2,05±0,10 p=0,003	+0,02±0,15 p=0,983 p <sub>1</sub> =0,901	1,89±0,14	2,91±0,21	3,00±0,17 p=0,567	2,99±0,25	2,49±0,11 p=0,096	+0,08±0,25 p <sub>1</sub> =0,827	-0,51±0,16 p=0,038 p <sub>1</sub> =0,042
КДР, мм	3,95±0,06	4,01±0,06 p=0,282	4,09±0,18 p=0,879	+0,08±0,20 p=0,697 p <sub>1</sub> =0,286	3,83±0,14	4,31±0,19	4,40±0,14 p=0,711	4,47±0,12	4,31±1,0 p=0,673	+0,16±0,68 p <sub>1</sub> =0,682	-0,09±0,19 p=0,490 p <sub>1</sub> =0,679
ФУ, %	51,9±1,6	51,1±1,6 p=0,003	49,6±1,1 p=0,0001	-1,5±1,3 p=0,547 p <sub>1</sub> =0,312	52,0±2,2	41,0±2,0	39,5±1,4 p=0,693	39,8±1,0	47,2±1,5 p=0,055	-0,2±2,0 p <sub>1</sub> =0,968	+7,7±1,9 p=0,005 p <sub>1</sub> =0,004
ФВ, %	82,7±2,1	81,4±1,9 p=0,005	80,5±1,0 p=0,0002	-0,9±1,4 p=0,632 p <sub>1</sub> =0,754	83,1±2,0	66,1±1,9	64,9±2,4 p=0,638	65,0±1,4	74,8±1,2 p=0,073	-1,1±2,6 p <sub>1</sub> =0,629	+9,9±2,0 p=0,004 p <sub>1</sub> =0,005

*Примечания:*

- 1 Показаны средние арифметические показателей и их стандартные ошибки;
- 2 p – указано по отношению к алкоголизованному контролю;
- 3 p<sub>1</sub> – указано по отношению к уровню в конце 24-й недели.



Примечание: А – по оси ординат среднее изменения КСР в мм; Б – среднее изменение ФВ в %. Представлены средние арифметические и их стандартные ошибки. \* –  $p < 0,05$  по отношению к контрольной АКМП; # –  $p < 0,05$  по отношению к уровню в конце 24-й недели алкоголизации.

Рисунок 28 – Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут. в/б в течение 28 дней, начиная с первого дня абстиненции) на КСР и ФВ крыс со сформировавшейся АКМП в условиях 28-суточной алкогольной депривации

Противоположная картина наблюдается у крыс со сформировавшейся АКМП (подгруппа 2а), получавших курсовую терапию фабомотизолом, начатую в условиях алкогольной абстиненции. Препарат, так же как и эталон триметазидин, оказывает выраженное кардиопротективное действие, характеризующееся не только значимым увеличением инотропной функции левого желудочка сердца, т.е. снижением тяжести течения сердечной недостаточности, но и уменьшением его КСР, т.е. обратным ремоделированием левого желудочка (таблица 17, рисунок 28). Так, если у контрольных алкоголизованных крыс за период с 24-й по 28-ю неделю КСР увеличился на 0,08 мм, то у животных, получавших фабомотизол, он уменьшился на 0,51 мм или на 17 % (соответственно с  $3,00 \pm 0,17$  мм до  $2,49 \pm 0,11$  мм,  $p = 0,042$ ). Различие между подгруппами 2а и 2б статистически значимо –  $p = 0,038$ . У контрольных крыс в этот период ФВ левого желудочка сердца снизилась на 2%, тогда как у леченных, напротив, увеличилась на 15% (соответственно с  $64,9 \pm 2,4\%$  до  $74,8 \pm 1,6\%$ ,  $p = 0,005$ ). Различие между подгруппами 2а и 2б статистически значимо –  $p = 0,004$ .

Так же, как и в случае триметазида, результаты эхокардиографических исследований, свидетельствующие о наличии у фабомотизола кардиопротективной активности у животных со сформировавшейся АКМП, находящихся в условиях алкогольной депривации, были подтверждены данными морфогистологических исследований, выполненных сотрудниками лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в.н.с., д.б.н. А.В. Сорокиной и н.с. И.А. Мирошкиной, показавшими, что у животных, получавших фабомотизол, значительно уменьшается жировая дистрофия кардиомиоцитов [43, 44].

Механизмы, ответственные за кардиопротективное действие фабомотизола в условиях алкоголь-обусловленного повреждения миокарда, к настоящему времени не ясны. Однако с большой долей уверенности можно полагать, что существенный вклад в способность препарата восстанавливать в этих условиях функциональную активность миокарда вносит его сродство к локализованным в цитозоле кардиомиоцитов  $\sigma_1$ -R, плотность которых в миокарде правого и левого желудочков сердца существенно выше, чем в других органах и тканях организма [84]. Можно полагать, что способность фабомотизола значительно уменьшать интенсивность жировой дистрофии миокарда непосредственно связана с его агонистическим влиянием в отношении  $\sigma_1$ -R. Известно, что липидная везикула, включающая в себя  $\sigma_1$ -R, локализуется на границе между мембраной СПР и прилежащей к нему мембраной митохондрий [203]. Этот участок саркоплазматического ретикулула получил название митохондриально-ассоциированная мембрана СПР – МАМ [145]. Показано, что активированный  $\sigma_1$ -R может выступать в роли шаперона IP3R-3, расположенных в области МАМ [275]. В этом случае IP3R-3 оптимизирует поступление ионов  $Ca^{2+}$  в митохондрии, в результате чего увеличивается не только синтез макроэргических фосфатов, но и активируются внутриклеточные процессы, ответственные за выживание клетки [73]. Нормализация энергообразующей функции митохондрий приводит не только к восстановлению нормального метаболизма свободных жирных кислот, что, по всей видимости, стимулирует

утилизацию избыточных жировых отложений, но и способствует восстановлению сократительного статуса кардиомиоцитов.

Помимо этого, определенный вклад в восстановление инотропной функции левого желудочка сердца вносит и способность агонистов  $\sigma_1$ -R активировать IP3R-3, локализованные на наружной мембране СПР кардиомиоцитов, в результате чего сопряженные с ними  $Ca^{2+}$  каналы СПР открываются и ионы  $Ca^{2+}$  начинают поступать в цитозоль клетки [104]. В литературе представлены данные и о том, что агонисты  $\sigma_1$ -R оптимизируют функциональную активность не только IP3R-3, но и RyR рецепторов, которые, так же как и IP3R-3, принимают участие в регуляции процессов электромеханического сопряжения в миокарде [278]. Авторы этой статьи полагают, что именно сочетанная активация IP3R-3 и RyR рецепторов ответственна за способность агонистов  $\sigma_1$ -R препятствовать развитию сократительной дисфункции миокарда.

Способность агонистов  $\sigma_1$ -R нормализовать процессы электромеханического сопряжения кардиомиоцитов в контексте настоящего исследования представляется особенно важной, так как показано, что в результате хронического токсического влияния ацетальдегида происходит уменьшение выхода ионов  $Ca^{2+}$  из цистерн СПР и, как следствие этого, разобщение процессов электромеханического сопряжения [248].

Нельзя исключить и того, что кардиопротективное действие фабомотизола в условиях сформировавшейся АКМП связано с его антиапоптотическим действием, которым обладают агонисты  $\sigma_1$ -R [269]. Это предположение основано на том факте, что при хроническом воздействии алкоголя на кардиомиоциты в них возникают метаболические нарушения, получившие название «стресс-эндоплазматический ретикулум», влекущие за собой накопление в клетке белков аномальной конфигурации, инициирующих процессы апоптоза [188]. Помимо этого, в условиях АКМП в кардиомиоцитах происходит накопление особой формы цитохрома P-450 – CYP2E1, обладающей выраженной проапоптотической активностью [160].

Таким образом, впервые с помощью эхокардиографии в этой серии экспериментов продемонстрирована возможность использования агонистов  $\sigma_1$ -R

для лечения АКМП. Полученные данные свидетельствуют о том, что курсовая экспериментальная терапия фабомотизолом животных, страдающих АКМП, по своей кардиопротективной эффективности, как минимум, не уступает таковой эталонным препаратом триметазидин.

Подводя итог материалам, изложенным в разделе 3.4, следует отметить, что эхокардиография у крыс не только может служить ключевым инструментом для проведения доклинических фармакологических исследований, посвященных поиску и изучению механизмов лекарственных средств для лечения АКМП, но и в существенной мере снизить затраты на их проведение. Использование этого методического приема, валидность которого доказана при помощи морфогистологических и электрофизиологических исследований, позволило разработать трансляционную модель АКМП и впервые в условиях эксперимента показать высокую эффективность р-FOX ингибитора триметазидина и агониста  $\sigma_1$ -R фабомотизола в плане лечения АКМП.

Результаты, изложенные в разделе 3.4.3, опубликованы в работах с соавторами [28, 43]. Получен патент РФ [52].



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных результатов позволяет прийти к заключению о том, что метод эхокардиографии на мелких животных валиден и полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к проведению доклинических фармакологических исследований, посвященных поиску и изучению механизмов действия кардиотропных лекарственных средств и/или биологически активных соединений, потенциально обладающих данным видом активности. Использование этого методического приема позволяет в динамике, в реальном масштабе времени, проводить:

- острые фармакологические тесты по оценке влияния фармакологических веществ на размеры, объемы и инотропную функцию левого желудочка сердца;
- скрининговые исследования, посвященные поиску потенциальных кардиопротективных лекарственных средств, способных в условиях модельных экспериментов поддерживать/восстанавливать инотропную функцию левого желудочка сердца и/или уменьшать интенсивность/препятствовать развитию патологического ремоделирования сердца;
- исследования, посвященные изучению как особенностей ремоделирования левого желудочка сердца в острую фазу экспериментального инфаркта миокарда, так и исследования, посвященные коррекции выявленных нарушений при помощи кардиотропных фармакологически активных веществ;
- исследования, посвященные изучению особенностей формирования хронической сердечной недостаточности в модельных экспериментах, воспроизводящих как коронарогенную, так и некоронарогенную патологию миокарда, а также исследования возможности использования фармакологически активных соединений для профилактики/коррекции выявленных нарушений.

Традиционно эхокардиография позиционируется как неинвазивный метод исследований, однако, согласно полученным в настоящей работе результатам, этот

методический прием может быть с успехом использован и в условиях вивисекции при проведении острых экспериментов на открытом сердце. Следует отметить, что такой подход к проведению доклинических фармакологических исследований в широкой медицинской литературе не представлен – при обращении к базе данных библиотеки PubMed с запросом «the use of echocardiography in vivisection» или «application of echocardiography in open heart experiments», ссылки на литературные источники отсутствуют. Использование эхокардиографии при проведении экспериментов на открытом сердце позволило нам впервые показать возможность использования селективного ингибитора цинк-зависимых металлопротеиназ 2-го и 9-го типов – антибиотика тетрациклинового ряда доксициклина в качестве кардиопротектора, значимо уменьшающего интенсивность патологического ремоделирование левого желудочка сердца в острейшую фазу инфаркта миокарда.

Традиционное, неинвазивное, применение метода эхокардиографии позволяет в динамике, в реальном масштабе времени оценить этапы формирования патологических процессов, развивающихся в как вследствие коронарогенного, так и некоронарогенного поражения миокарда:

– при помощи эхокардиографии показано, что у животных с передним трансмуральным инфарктом миокарда хроническая сердечная недостаточность начинает развиваться через 50–60 дней после воспроизведения инфаркта миокарда и полностью формируется через 90 суток, о чем свидетельствует значимое падение ФВ и развитие патологического ремоделирования левого желудочка сердца;

– при помощи эхокардиографии показано, что длительная принудительная алкоголизации животных влечет за собой развитие алкоголь-обусловленного токсического поражения миокарда, приводящего к развитию алкогольной кардиомиопатии, начальные эхокардиографические признаки которой диагностируются через 20 недель от начала алкоголизации, а полномасштабный патологический процесс реализуется по окончании 24-й недели и манифестируется дилатацией и падением насосной функции левого желудочка сердца.

Результаты этих экспериментов, свидетельствующие о формировании эхокардиографических признаков моделируемых патологических процессов, были

полностью подтверждены комплексом морфогистологических, электрофизиологических и молекулярных исследований. Поскольку разработанные нами модели патологии воспроизводят основные клинко-диагностические признаки этих заболеваний, есть все основания считать их трансляционными.

Таким образом, неинвазивный метод эхокардиографии, характеризующий размеры, объемы и инотропную функцию левого желудочка сердца, может быть использован в качестве основного подхода к оценке наличия/отсутствия моделируемой патологии, что в существенной мере оптимизирует и удешевляет хронические модельные эксперименты. Не менее важно и то, что разработанные трансляционные модели постинфарктной хронической сердечной недостаточности и алкогольной кардиомиопатии позволяют не только изучать тонкие механизмы, лежащие в основе этих патологических процессов, но и создают фундаментальную базу для поиска и доклинического фармакологического изучения новых оригинальных кардиотропных лекарственных средств, обладающих положительным инотропным действием и препятствующих развитию и /или корригирующим патологическое ремоделирование левого желудочка сердца.

Наличие такой возможности было подтверждено:

– на трансляционной модели постинфарктной хронической сердечной недостаточности, наличие которой было диагностировано при помощи эхокардиографии, была впервые показана принципиальная возможность использования агонистов  $\sigma_1$ -R рецепторов (фабомотизол) как для профилактики развития хронической сердечной недостаточности, так и значимого уменьшения тяжести течения сформировавшегося патологического процесса;

– на трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии, наличие которой было диагностировано при помощи эхокардиографии, были впервые изучены электрофизиологические механизмы, лежащие в основе формирования патогномичной для этой патологии электрической нестабильности миокарда, и выявлены оригинальные биомишени для создания инновационных кардиопротекторов [49, 57, 15].

– на трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии, наличие которой было диагностировано при помощи эхокардиографии, были впервые в экспериментальной фармакологии получены данные, свидетельствующие о наличии высокой кардиопротективной активности у р-FOX ингибитора триметазидина и агониста  $\sigma_1$ -R фабомотизола в плане лечения этой патологии.

Помимо этого, сравнительный анализ особенностей формирования хронической сердечной недостаточности при коронарогенной и некоронарогенной патологии миокарда выявил существенные различия:

– формирование постинфарктной хронической сердечной недостаточности начинается с дилатации левого желудочка сердца, которая формируется в период с 30-х по 60-е сутки от момента воспроизведения инфаркта миокарда, тогда как значимое снижение инотропной функции сердца развивается в период с 60-х по 90-е сутки;

– в условиях алкоголь-обусловленного поражения миокарда на первом этапе – 20 недель от момента начала алкоголизации, – происходит значимое снижение инотропной функции сердца, тогда как дилатация полости левого желудочка сердца реализуется лишь к концу 24-ой недели алкоголизации.

Все выше сказанное позволяет заключить, что в настоящем исследовании полностью реализованы стоящие перед ним задачи.

## ВЫВОДЫ

1. Эхокардиографические исследования на мелких грызунах (крысы, морские свинки) позволяют оценить геометрию и инотропную функцию левого желудочка у животных как с закрытой грудной клеткой, так и на открытом сердце в условиях нормы и патологии миокарда.

2. Метод эхокардиографии позволяет оценить изменения геометрии и инотропной функции левого желудочка крыс в острых фармакологических тестах с изопротеренолом и метопрололом.

3. С использованием метода эхокардиографии показано, что экспериментальная терапия анксиолитиком фабомотизолом (15 мг/кг/сут., в/б, 14 дней) и ингибитором цинк-зависимых металлопротеиназ 2-го и 9-го типов доксициклином (40 мг/кг, per os), начатая в условиях острого инфаркта миокарда, не только препятствует снижению инотропной функции ЛЖ сердца, но и значительно уменьшает степень его патологического ремоделирования.

4. На разработанной с помощью метода эхокардиографии трансляционной модели ХСН показано, что анксиолитик фабомотизол (15 мг/кг/сут., в/б, 28 дней) способствует развитию обратного ремоделирования ЛЖ и существенному восстановлению инотропной функции сердца.

5. На разработанной с помощью метода эхокардиографии трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии доказана способность анксиолитика фабомотизола (15 мг/кг/сут., в/б, 28 дней) и р-FOX ингибитора триметазидина (30 мг/кг/сут., в/б, 28 дней) в условиях депривации алкоголя улучшать функциональную активность ЛЖ сердца.

6. Эхокардиография может использоваться в качестве базового метода при разработке трансляционных моделей патологии сердечно-сосудистой системы на мелких животных и оценки эффектов фармакологических средств.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Внедрение в повседневную практику разработанных нами трансляционных моделей постинфарктной ХСН и АКМП у крыс, где метод эхокардиографии играет роль ключевого диагностического инструмента, позволит ускорить и удешевить проведение доклинических фармакологических исследований, направленных на создание оригинальных инновационных кардиотропных лекарственных средств, обладающих положительным инотропным действием и препятствующих развитию и/или корригирующих патологическое ремоделирование левого желудочка сердца.

Результаты исследований, свидетельствующие о наличии у анксиолитика фабомотизола кардиопротективной активности, могут в дальнейшем быть использованы для решения вопроса о возможности расширения показаний к применению препарата в клинике.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ACC/АНА – Американская Коллегия кардиологов/Американская Ассоциация сердца

AT1-R – рецептор ангиотензина II подтипа AT1

AVP – вазопрессин

CTGF – фактор роста соединительной ткани

ERK1/2/PKC – сигнальный путь

ESC – Европейское общество кардиологов

ET-R – эндотелиновые рецепторы

FA – киназа фокальной адгезии

GTPase – семейство ферментов гидролаз, связывающих и гидролизующих гуанозинтрифосфат

iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота

IP<sub>3</sub>-R – инозитолтрифосфатные рецепторы

MME – мембранная металлоэндопептидаза

MMP – матриксная металлопротеиназа

MR – минералокортикоидные рецепторы

NEP – нейрональная эндопептидаза

NYHA – Нью-Йоркская Ассоциация кардиологов

PDE-5 – фосфодиэстераза 5

PI<sub>3</sub>K/Akt – сигнальный путь

RyR2 – рианодиновые рецепторы 2 типа

V-R – вазопрессиновые рецепторы

β-AD-R – бета-адренергические рецепторы

σ<sub>1</sub>-R – сигма<sub>1</sub>-рецепторы

АКМП – алкогольная кардиомиопатия

АПФ – ангиотензинпревращающий фермент

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

ВМ – внеклеточный матрикс

ИМ – инфаркт миокарда

КДО – конечно-диастолический объем

КДР – конечно-диастолический объем

КСО – конечно-систолический объем

КСР – конечно-систолический объем

ЛЖ – левый желудочек сердца

ОИМ – острый инфаркт миокарда

РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система

РКО – Российское кардиологическое общество

САС – симпатoadреналовая система

СПР – саркоплазматический ретикулум

ФВ – фракция выброса

ФУ – фракция укорочения

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЭИМ – экспериментальный инфаркт миокарда



## ЛИТЕРАТУРА

1. Богза, М.В. Морфофункциональные параллели при алкогольной кардиомиопатии в аспекте внезапной смерти [Текст] / М.В. Богза, В.В. Сорокина, В.П. Конев, В.В. Голошубина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2011. – Т. 2, № 8. – С. 19-24.
2. Бохан, Н.А. Смертельные исходы при алкогольной зависимости [Текст] / Н.А. Бохан, А.И. Мандель, Н.Н. Максименко, Л.Д. Михалева // Наркология. – 2007. – № 12. – С. 37-40.
3. БСК в эпоху пандемии COVID-19 [Электронный ресурс]. URL: [https://tfoms-rzn.ru/images/files/koord\\_sovet/2021/26.02.2021/2.pdf](https://tfoms-rzn.ru/images/files/koord_sovet/2021/26.02.2021/2.pdf) (Дата обращения 23.12.2022).
4. Васильев, С.В. Мембраносохраняющее действие триметазидина у больных острым инфарктом миокарда [Текст] / С.В. Васильев, Е.Ю. Майчук, В.Ю. Васильев // Рос. кардиол. ж. – 2014. – № 12. – С. 80-84.
5. Гервальд, В.Я. Алкогольная кардиомиопатия по данным аутопсийных исследований [Электронный ресурс] / В.Я. Гервальд, П.С. Спицын, А.В. Привалихина и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – №3. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24561> (Дата обращения 20.01.2023).
6. Гордеева, М.В. Внезапная сердечная смерть молодых людей [Текст] / М.В. Гордеева, Л.Б. Митрофанова, А.В. Пахомов [и др.] // Вестник аритмологии. – 2012. – № 68. – 27-37.
7. Драпкина, О.М. Проблема алкогольной кардиомиопатии [Текст] / О.М. Драпкина, Я.И. Ашихмин, В.Т. Ивашкин // Врач. – 2005. – № 8. – С. 48-50.
8. Ерохин, Ю.А. Поражение сердца при хронической алкогольной интоксикации [Текст] / Ю.А. Ерохин, Д.Ф. Хритинин // Вестник новых медицинских технологий. – 2003. – № 4. – С. 19-20.

9. Ивашкин, В.Т. Алкогольная кардиомиопатия [Текст] / В.Т. Ивашкин, О.М. Драпкина, Я.И. Ашихмин // Медицинская помощь: Научно-практический журнал. – 2006. – № 3. С. 11-15.
10. ИONOва, Е.О. Сравнительная оценка эхокардиографических и морфометрических характеристик левого желудочка сердца крыс [Текст] / Е.О. ИONOва, И.А. Мирошкина, А.В. Сорокина, С.А. Крыжановский // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2023. – 41-43. – № 1. – С. 41-43.
11. ИONOва Е.О. К возможности применения эхокардиографии у мелких лабораторных животных для проведения острых фармакологических тестов [Текст] / Е.О. ИONOва, И.Б. Цорин, В.В. Барчуков [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика // 2018. – №2. – С. 59-64.
12. ИONOва, Е.О. Сравнительная оценка эхокардиографических характеристик левого желудочка сердца у самок и самцов крыс [Текст] / Е.О. ИONOва, Е.И. Барчукова, М.Б. Вититнова [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – № 1. – С. 14-17.
13. Казаченко, А.А. Экспериментальное моделирование хронической сердечной недостаточности [Текст] / А.А. Казаченко, С.В. Оковитый, А.Н. Куликов [и др.] // Биомедицина. – 2013. – Т. 1, № 3. – С. 41-48.
14. Карпов, А.А. Моделирование постинфарктной сердечной недостаточности путем окклюзии левой коронарной артерии у крыс: техника и методы морфофункциональной оценки [Текст] / А.А. Карпов, Д.Ю. Ивкин, А.В. Драчева [и др.] // Биомедицина. – 2014. – № 3. – С. 32–48.
15. Кожевникова, Л.М. Белки Ерас и кальмодулин как возможный триггер аритмогенеза при алкогольной кардиомиопатии [Текст] / Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук [и др.] // Бюл. эксп. биологии и медицины. – 2018. – Т. 165, № 5. – С. 553–557.
16. Кожевникова, Л.М. Гендерные особенности изменений состояния сердечно-сосудистой системы при алкогольной кардиомиопатии (экспериментальное исследование) [Текст] / Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин, Е.О. ИONOва [и др.]

- // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – Т.63, №4. – С.26-31.
17. Концевая, А.В. Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в 2016 году [Текст] / А.В. Концевая, О.М. Драпкина, Ю.А. Баланова [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2018. – Т. 14, № 2. – С. 156-166.
18. Крыжановский, С.А. Алкогольная кардиомиопатия: Трансляционная модель [Текст] / С.А. Крыжановский, Л.Г. Колик, И.Б. Цорин [и др.] // Бюл. эксп. биол. и медицины. – 2017. – Т. 163, № 5. – С. 582-586.
19. Крыжановский, С.А. Влияние афобазола на уровень индуцибельной NO-синтазы в ишемизированном миокарде [Текст] / С.А. Крыжановский, Т.А. Антипова, И.Б. Цорин [и др.] // Молекулярная медицина. – 2016. – Т. 14, № 3. – С.26-31.
20. Крыжановский, С.А. Влияние ингибитора металлопротеиназ на раннее постинфарктное ремоделирование в острейшую фазу инфаркта миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, Е.О. Ионова, В.Н. Столярчук [и др.] // Бюллетень эксп. биологии и медицины. – 2013. – Т. 156, №7. – С.26-32.
21. Крыжановский, С.А. Доказательство валидности эхокардиографии в модельных экспериментах на мелких животных [Текст] / С.А. Крыжановский, Л.Г. Колик, И.Б. Цорин [и др.] // Бюл. эксп. биол. и медицины. – 2016. – Том 161, № 3. – С. 416-420.
22. Крыжановский, С.А. Изучение антиишемического действия «афобазола» в условиях экспериментального инфаркта миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, А.В. Сорокина, В.Н. Столярчук [и др.] // Бюллетень эксп. биологии и медицины. – 2010. – Т. 150, № 9. – С. 284-287.
23. Крыжановский, С.А. Изучение кардиопротективных эффектов ингибитора металлопротеиназ 1-({4-[(4-хлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-L-пролина на модели острого инфаркта миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, Е.О. Ионова, В.Н. Столярчук [и др.] // Бюллетень эксп. биологии и медицины. – 2019. – Т. 168, № 11. – С. 582-587.

24. Крыжановский, С.А. Изучение кардиопротективных эффектов фабомотизола гидрохлорида на трансляционной модели хронической сердечной недостаточности [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук [и др.] // Бюллетень эксп. биологии и медицины. – 2019. – Т. 168, № 7. – С. 39-44.
25. Крыжановский, С.А. Изучение противofiбрилляторной активности афобазола у животных с интактным и денервированным миокардом [Текст] / С.А. Крыжановский, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин // Вестник Российской АМН. – 2010. – №4. – С. 45-48.
26. Крыжановский, С.А. К возможности использования эхокардиографии для оценки этапов формирования алкогольной кардиомиопатии [Текст] / С.А. Крыжановский, Л.Г. Колик, И.Б. Цорин [и др.] // Физиология человека. – 2014. – Т. 40, № 1. – С. 122-128.
27. Крыжановский, С.А. К механизму кардиопротективного действия агониста  $\sigma_1$ -рецепторов анксиолитика фабомотизола гидрохлорида (афобазола) [Текст] / С.А. Крыжановский, Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин [и др.] // Бюл. эксп. биол. и медицины. – 2018. – Т. 165, № 5. – С. 605–609.
28. Крыжановский, С.А. О возможности использования афобазола для лечения алкогольной кардиомиопатии и профилактики сопутствующих ей осложнений [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, Л.Г. Колик [и др.] // Молекулярная медицина. – 2015. – № 4. – С.35-42.
29. Крыжановский, С.А. О механизме ремоделирования миокарда в острейшую фазу экспериментального инфаркта миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук [и др.] // Молекулярная медицина. – 2016. – Т.14, №1. – С.31-38.
30. Крыжановский, С.А. Особенности ремоделирования миокарда в острейшую фазу экспериментального инфаркта миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук [и др.] // Физиология человека. – 2012. – Т. 38, № 6. – С. 43-52.

31. Крыжановский, С.А. Отдаленные результаты экспериментальной терапии афобазолом у крыс, перенесших острый инфаркт миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук [и др.] // Бюл. эксп. биол. и медицины. – 2017. – Т. 163, № 2. – С.140-155.
32. Кожевникова, Л.М. Оценка экспрессии рецепторных и регуляторных белков в миокарде крыс в условиях трансляционной модели хронической сердечной недостаточности [Текст] / Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62, № 4. – С. 28-35.
33. Крыжановский, С.А. Оценка эффективности афобазола на модели ваготонической фибрилляции предсердий [Текст] / С.А. Крыжановский, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин // Вестник Российской АМН. – 2010. – №4. – С. 49-52.
34. Крыжановский, С.А. Роль сигма-1 рецепторов в регуляции деятельности сердца. Часть 2. роль сигма-1 рецепторов в кардиопротекции [Текст] / С.А. Крыжановский, И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова // Физиология человека. – Т. 47, № 4. – С. 124-134.
35. Крыжановский, С.А. Трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии [Текст] / С.А. Крыжановский, Л.Г. Колик, В.Н. Столярук [и др.] // Молекулярная медицина. – 2015. – № 3. – С.40-47.
36. Крыжановский, С.А. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, Е.О. Ионова [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т.62, №2. – С. 129–135.
37. Крыжановский, С.А. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности: способ и критерии оценки формирования [Текст] / Патент РФ 2 744 681 // С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, Е.О. Ионова [и др.]. – 2021.
38. Крыжановский, С.А. Хроническая сердечная недостаточность: Трансляционная модель [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н.

- Столярук [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 167, № 5. – С. 655-660.
39. Лакомкин, В.Л. Действие Апелина-12 и его аналога на гемодинамику и сократительную функцию сердца крыс с изопротеренол-индуцированным поражением миокарда [Текст] / В.Л. Лакомкин, А.А. Абрамов, Е.В. Лукошкова [и др.] // Кардиология. – 2015. – Т. 55, № 6. – С. 54-62.
40. Лакомкин, В.Л. Соотношение диастолической и систолической дисфункции миокарда при доксорубициновой кардиомиопатии [Текст] / В.Л. Лакомкин, А.А. Абрамов, В.В. Грамович [и др.] // Кардиологический вестник. 2018. – № 2. – С. 48-52.
41. Мареев, В.Ю. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр) [Текст] / В.Ю. Мареев, Ф.Т. Агеев, Г.П. Арутюнов [и др.] // Сердечная недостаточность. – 2013. – Т. 14, № 7. – С. 379-472. 52.
42. Мирошкина, И.А. Кардиопротективное действие триметазидина у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в период абстиненции [Текст] / И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова, А.В. Надорова [и др.] // Молекулярная медицина. – 2018. – Т. 16, № 1. – С. 44-50.
43. Мирошкина, И.А. Сравнительное изучение кардиопротективного действия триметазидина и фабомотизола гидрохлорида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях абстиненции [Текст] / И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова, А.В. Сорокина [и др.] // Молекулярная медицина. – 2018. – Т. 16, № 3. – С. 58–64.
44. Мирошкина, И.А., Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. К механизму антиаритмического действия фабомотизола дигидрохлорида при алкогольной кардиомиопатии [Текст] / И.А. Мирошкина, Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – № 1. – С. 30–37.

45. Никитина, С.Ю. Совершенствование статистики смертности от алкоголизма [Текст] / С.Ю. Никитина, Г.М. Козеева // Вопросы статистики. – 2006. – № 11. – С. 21-23.
46. Панова, Е. Смертность от болезней системы кровообращения в России и Москве в свете новых мировых тенденций [Текст] / Е. Панова, С. Тимонин // Московская медицина. – 2017. – №4 (19). – С. 57-64.
47. Панченко, Л.Ф. Содержание маркеров воспаления и цитокинов в крови больных алкогольной кардиомиопатией и ишемической болезнью сердца на разных стадиях сердечной недостаточности [Текст] / Л.Ф. Панченко, В.С. Моисеев, С.В. Пирожков [и др.] // Кардиология. – 2016. – Т. 55, № 3. – С. 41-48. 107=116
48. Пермяков, А.В. Алкогольная кардиомиопатия по данным ГУЗ «БСМЭ» МЗ УР (г. Ижевска) за 3 года [Текст] / А.В. Пермяков, А.С. Пирогов, И.А. Якимов [и др.] // Проблемы экспертизы в медицине. – 2003. – Т. 3, № 2. – С.11-13.
49. Рощевская, И.М. Особенности деполяризации правого и левого предсердия у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией [Текст] / И.М. Рощевская, С.Л. Смирнова, И.Б. Цорин [и др.] // Бюл. эксп. биол. и медицины. – 2018. – Т.165, № 5. – С.558–561.
50. Рябенко, Д.В. Алкогольная кардиомиопатия [Текст] / Д.В. Рябенко, Т.М. Корниенко // Український кардіологічний журнал. – 2010. – № 4. – С. 91-97.
51. Семенова, В.Г. Потери населения России в 2000-2008 г.г., обусловленные алкоголем: масштабы, структура, тенденции [Текст] / В.Г. Семенова, О.И. Антонова, Г.Н. Евдокушкина, Н.С. Гаврилова // Социальные аспекты здоровья населения: электронный научный журнал – 2010. – 01 июля [Электронный ресурс]. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/188/27/>. (Дата обращения 23.12.2022).
52. Середенин, С.Б. Агонист сигма-1 рецепторов 5-этокси-2-[2-(морфолино)этилтио]-бензимидазола дигидрохлорид и/или основание – новое средство для профилактики внезапной сердечной смертности у пациентов, страдающих алкогольной кардиомиопатией [Текст] / Патент РФ

- 2 691 636 // С.Б. Середенин, С.А. Крыжановский, Л.Г. Колик, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, Е.О. Ионова, А.В. Сорокина, А.Д. Дурнев, К.В.Алексеев – 2019.
- 53.Середенин, С.Б. Ингибиторы цинк-зависимых металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-9) в ряду бензоиламино(фенилсульфонил)-замещенных циклических аминокислот как потенциальные лекарственные средства, препятствующие постинфарктному ремоделированию левого желудочка сердца Патент РФ 2 646 752 // С.Б. Середенин, Г.В. Мокров, С.А. Крыжановский, А.М. Лихошерстов, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, Т.А. Гудашева, О.С. Григоркевич, Е.О. Ионова, А.Д. Дурнев, В.П. Жердев. – 2018.
- 54.Середенин, С.Б. К механизму противоишемического действия афобазола [Текст] / С.Б. Середенин, И.Б. Цорин, М.Б. Вититнова [и др.] // Бюллетень эксп. биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, №6. – С. 723-727.
- 55.Середенин, С.Б. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола [Текст] / С.Б. Середенин, М.А. Воронин // Эксперим. и клин. фармакология. – 2009. – Т. 72, № 1. – С. 3-11.
- 56.Середенин, С.Б. Способ моделирования алкогольной кардиомиопатии [Текст] / Патент РФ 2 646 454 // С.Б. Середенин, С.А. Крыжановский, Л.Г. Колик, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, Е.О. Ионова, А.В. Сорокина, А.Д. Дурнев, К.В. Алексеев. – 2018.
- 57.Смирнова, С.Л. Деполяризация предсердий крыс с алкогольной кардиомиопатией [Текст] / Смирнова С.Л., Рощевская И.М., Рощевский М.П. [и др.] // ДАН. – 2018. – Т.479, № 1. – С.96–98.
- 58.Терещенко, С.Н. Алкогольная и дилатационная кардиомиопатия. Правомочен ли знак равенства? [Текст] / С.Н. Терещенко, И.В. Жиров, Е.А. Котаева, Е.В. Маличенко // Кардиология. – 2008. № 3. – С. 93-96.
- 59.Улумбекова, Г.Э. Факторы влияния на смертность от новообразований и болезней системы кровообращения в РФ с 2019 по 2020 г. [Текст] / Г.Э. Улумбекова, А.Б. Гинойн, И.В. Петрачков // Вестник ВШОУЗ. – 2021. – Том 7, № 3 (25). – С. 4-23.



60. Фомин, И.В. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации. Что мы сегодня знаем и что должны делать [Текст] / И.В. Фомин // Российский кардиологический журнал. – 2016. – Т. 8, № 136. – С. 7-13.
61. Цорин, И.Б. Сравнительное изучение кардиопротекторного действия триметазидина и фабомотизола гидрохлорида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях продолжающегося потребления этанола [Текст] / И.Б. Цорин, И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – № 3. – С. 38-41.
62. Чазов Е.И. Внезапная смерть [Электронный ресурс]: Medicus amicus. URL: <http://www.medicusamicus.com/index.php?action=2x1229x1> (дата обращения 23.01.2023).
63. Abbate, A. Anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, inhibits apoptosis in experimental acute myocardial infarction [Text] / A. Abbate, F.N. Salloum, E. Vecile [et al.] // Circulation. – 2008. – Vol. 117, № 20. – P. 2670-83.
64. Abbate, A. Effects of interleukin-1 blockade with anakinra on adverse cardiac remodeling and heart failure after acute myocardial infarction [from the Virginia Commonwealth University-Anakinra Remodeling Trial (2) (VCU-ART2) pilot study] [Text] / A. Abbate, B.W. Van Tassel, G. Biondi-Zoccai [et al.] // Am. J. Cardiol. – 2013. – Vol. 111, № 10. – P. 1394-400.
65. Abbate, A. Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study) [Text] / A. Abbate, M.C. Kontos, J.D. Grizzard [et al.] // Am. J. Cardiol. – 2010. – Vol. 105, № 10. – P. 1371-1377.e1.
66. Abdelaziz, S.M. Clinical and hemodynamic effects of oral sildenafil on biventricular function on patients with left ventricular systolic dysfunction [Текст] / S.M. Abdelaziz, R.R.S. Hussein, M. El Mokadem, H.B. Mahmoud // Int. J. Clin. Pract. – 2021. – Vol. 75, № 7. – e14171.

67. Abdulla, J. A systematic review: effect of angiotensin converting enzyme inhibition on left ventricular volumes and ejection fraction in patients with a myocardial infarction and in patients with left ventricular dysfunction [Text] / J.A. Abdulla, S. Barlera, R. Latini [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2007. – Vol. 9, № 2. – P. 129-35.
68. Abdullah, C.S. Cardiac dysfunction in the sigma 1 receptor knockout mouse associated with impaired mitochondrial dynamics and bioenergetics [Text] / C.S. Abdullah, S. Alam, R. Aishwarya [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2018. – Vol. 7, № 20. – e009775.
69. Aimo, A. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies [Текст] / A. Aimo, V. Castiglione, C. Borrelli [et al.] // *Eur. J. Prev. Cardiol.* – 2020. – Vol. 27, № 5. – P. 494-510.
70. Alam, S. Sigmar1 regulates endoplasmic reticulum stress-induced C/EBP-homologous protein expression in cardiomyocytes [Text] / S. Alam, C.S. Abdullah, R. Aishwarya [et al.] // *Biosci. Rep.* – 2017. – Vol. 37, № 4. – pii: BSR20170898.
71. Ali, M.A Cardiac sarcomeric proteins: novel intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in heart disease [Text] / M.A. Ali, X. Fan, R. Schulz // *Trends Cardiovasc Med.* – 2011. – Vol. 21, № 4. – P. 112-8.
72. Alshahrani, S. Aliskiren – A promising antioxidant agent beyond hypertension reduction [Текст] / S. Alshahrani // *Chem. Biol. Interact.* – 2020. – Vol. 326. – P. 109145.
73. Anelli, T. Ero1 $\beta$  regulates Ca<sup>(2+)</sup> fluxes at the endoplasmic reticulum-mitochondria interface (MAM) [Text] / T. Anelli, L. Bergamelli, E. Margittai [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2012. – Vol. 16, № 10. – P. 1077-1087.
74. Antoine, S. Pathophysiologic mechanisms in heart failure: role of the sympathetic nervous system [Text] / S. Antoine, G. Vaidya, H. Imam, D. Villarreal // *Am. J. Med. Sci.* – 2017. – Vol. 353, № 1. – P. 27-30.
75. Archer, C.R. Endothelin-1 promotes hypertrophic remodelling of cardiac myocytes by activating sustained signalling and transcription downstream of endothelin type

- A receptors [Text] / C.R. Archer, E.L. Robinson, F.M. Drawnel, H.L. Roderick // Cell. Signal. – 2017. – Vol. 36. – P. 240-254.
76. Assmus, B. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI) [Text] / B. Assmus, V. Schächinger, C. Teupe [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 106, № 24. – P. 3009-17.
77. Bassiouni, W. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease [Текст] / W. Bassiouni, M.A.M. Ali, R. Schulz // FEBS J. – 2021. – Vol. 288, № 24. – P. 7162-7182.
78. Belkina, L.M. Particularities of the postinfarction heart failure development in animal with different pattern of autonomic regulation [Text] / L.M. Belkina, M.A. Usacheva, E.A. Smirnova [et al.] // Patogenez. – 2008. – Vol. 6, № 1. – P. 57-63.
79. Bernardez-Pereira, S. Was the enalapril dose too low in the PARADIGM-HF Trial? [Text] / S. Bernardez-Pereira, F.J.A. Ramires, R.F.T. de Melo, A.C. Pereira-Barretto // Cardiol. Rev. – 2018. – Vol. 26, № 4. – P. 196-200.
80. Betz, C. Feature article: mTOR complex 2-Akt signaling at mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes (MAM) regulates mitochondrial physiology [Текст] / C. Betz, D. Stracka, C. Prescianotto-Baschong [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – V. 110, № 31. – P. 12526-12534.
81. Beygui, F. Early aldosterone blockade in acute myocardial infarction: The ALBATROSS Randomized Clinical Trial [Text] / F. Beygui, G. Cayla, V. Roule [et al.] // Am. Coll. Cardiol. – 2016. – Vol. 67, № 16. – P. 1917-27.
82. Bhuiyan, M.S. Crucial interactions between selective serotonin uptake inhibitors and sigma-1 receptor in heart failure [Text] / M.S. Bhuiyan, H. Tagashira, K. Fukunaga // J. Pharmacol. Sci. – 2013. – Vol. 121, № 3. – P. 177-184.
83. Bhuiyan, M.S. Dehydroepiandrosterone-mediated stimulation of sigma-1 receptor activates Akt-eNOS signaling in the thoracic aorta of ovariectomized rats with abdominal aortic banding [Text] / M.S. Bhuiyan, H. Tagashira, K. Fukunaga // Cardiovasc. Ther. – 2011. – Vol. 29, № 4. – P. 219-230.

84. Bhuiyan, M.S. Targeting sigma-1 receptor signaling by endogenous ligands for cardioprotection [Текст] / Bhuiyan M.S., Fukunaga K. // *Expert Opin. Ther. Targets.* – 2011. – Vol. 15, N 2. – P. 145-155.
85. Blum, A. Heart failure – new insights [Text] / A. Blum // *Isr. Med. Assoc. J.* – 2009. – Vol. 11, № 2. – P. 105-11.
86. Bozkurt, B. Pathophysiologically relevant concentration of tumor necrosis factor-alpha promote progressive dysfunction and remodeling in rats [Text] / B. Bozkurt, S.B. Kribbs, F.J. Clubb [et al.] // *Circulation.* – 1998. – Vol. 97. – P. 1382-1391.
87. Burrell, L.M. Validation of an echocardiographic assessment of cardiac function following moderate size myocardial infarction in the rat [Text] / L.M. Burrell, R. Chan, P.A. Phillips [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 1996. – Vol. 23, № 6-7. – P. 570-572.
88. Bussey, C.T. Carvedilol and metoprolol are both able to preserve myocardial function in type 2 diabetes [Text] / C.T. Bussey, A.A. Babakr, R.R. Iremonger [et al.] // *Physiol. Rep.* – 2020. – Vol. 8, № 5. – P. e14394.
89. Camacho, P. Small mammalian animal models of heart disease [Text] / P. Camacho, H. Fan, Z. Liu, J.Q. He // *Am. J. Cardiovasc. Dis.* – 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 70-80.
90. Campbell, R.W.F. Ventricular arrhythmias in first 12 hours of acute myocardial infarction. Natural history study [Text] / R.W.F. Campbell, A. Murray, D.G. Julian // *Br. Heart J.* – 1981. – Vol. 46. – P. 351–357.
91. Cappetta, D. Effects of ranolazine in a model of doxorubicin-induced left ventricle diastolic dysfunction [Text] / D. Cappetta, G. Esposito, R. Coppini [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 174, № 21. – P. 3696-712.
92. Cerisano, G. Early short-term doxycycline therapy in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction to prevent the ominous progression to adverse remodelling: the TIPTOP trial [Text] / G. Cerisano, P. Buonamici, R. Valenti [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2014. – Vol. 35, № 3. – P. 184-91.

93. Cerisano, G. Relation between post-myocardial infarct remodelling and gelatinase activity in patients enrolled in the TIPTOP trial [Text] / G. Cerisano, P. Buonamici, A. Migliorini [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2019. – Vol. 21, № 1. – P. 127-129.
94. Cetin, N. Echocardiographic variables in healthy guineapigs anaesthetized with ketamine-xylazine [Text] / N. Cetin, E. Cetin, M. Toker // *Lab. Anim.* – 2005. – Vol. 39, № 1. – P. 100-106.
95. Chan, B.Y.H. MMP inhibitors attenuate doxorubicin cardiotoxicity by preventing intracellular and extracellular matrix remodelling [Текст] / B.Y.H. Chan, A. Roczkowsky, W.J. Cho [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2021. – Vol. 117, № 1. – P. 188-200.
96. Chaudhry, S.P. Advanced heart failure. Prevalence, natural history, and prognosis [Text] / S.P. Chaudhry, G.C. Stewart // *Heart Fail. Clin.* – 2016. – Vol. 12, № 3 – P. 323-333.
97. Chen, B. Chemokines in myocardial infarction [Text] / B. Chen, N.G. Frangogiannis // *J. Cardiovasc. Transl. Res.* – 2021. Vol. 14, № 1. – P. 35-52.
98. Chen, J. A new model of congestive heart failure in rats [Text] / J. Chen, E.R. Chemaly, L.F. Liang [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2011. – Vol. 301, № 3. – P. H994-H1003.
99. Chen, T. Effects of polysaccharides extracted from Zhu Zi Shen (rhizoma panacis majoris) on oxidative stress and hemodynamics in rats with adriamycin-induced chronic heart failure [Text] / T. Chen, Y.Q. Hu, L.R. Deng [et al.] // *J. Tradit. Chin. Med.* – 2011. – Vol. 31, № 3. – P. 235-240. 40.
100. Chen, X. The secretion patterns and roles of cardiac and circulating arginine vasopressin during the development of heart failure [Text] / X. Chen, G. Lu, K. Tang [et al.] // *Neuropeptides.* – 2015. – Vol. 51. – P. 63-73.
101. Clarisse, D. Approaches towards tissue-selective pharmacology of the mineralocorticoid receptor [Текст] / D. Clarisse, L. Deng, K. de Bosscher, A. Lother // *Br. J. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 179, № 13. – P. 323-3249.
102. Cleland, J.G.F. Beta-blockers for heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: an individual patient-level analysis of double-blind

- randomized trials [Text] / J.G.F. Cleland, K.V. Bunting, M.D. Flather [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2018. – Vol. 39, № 1. – P. 26-35.
103. Clements-Jewery, H. Phase 2 ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction: a neglected target for therapeutic antiarrhythmic drug development and for safety pharmacology evaluation [Text] / H. Clements-Jewery, D.J. Hearse, M.J. Curtis // *British J. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 145, № 5. – P. 551–564.
104. Cobos, E.J. Pharmacology and therapeutic potential of sigma(1) receptor ligands [Текст] / E.J. Cobos, J.M. Entrena, F.R. Nieto [et al.] // *Curr. Neuropharmacol.* – 2008. – V. 6, № 4. – P. 344-366.
105. Cohen, L. Remodeling secondary to chronic volume overload is attenuated by a novel MMP9/ blocking antibody [Текст] / L. Cohen, I. Sagi, E. Bigelman [et al.] // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, № 4. – e0231202.
106. Collier, T.J. The impact of eplerenone at different levels of risk in patients with systolic heart failure and mild symptoms: insight from a novel risk score for prognosis derived from the EMPHASIS-HF trial [Text] / T.J. Collier, S.J. Pocock, J.J. McMurray [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2013. – Vol. 34, № 36. – P. 2823-9.
107. Cortassa, S. Mitochondrial Ca<sup>2+</sup>, redox environment and ROS emission in heart failure: Two sides of the same coin? [Текст] / S. Cortassa, M. Juhaszova, M.A. Aon [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2021. – Vol. 151. – P. 113-125.
108. Cottrill, C.M. Echocardiographic detection of pulmonary hypertension in anesthetized rats [Text] / C.M. Cottrill, G.L. Johnson, M.N. Gillespie // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* – 1988. – Vol. 60, № 2. – P. 189-96.
109. Curtis, M.J. Characterisation, utilisation and clinical relevance of isolated perfused heart models of ischemia-induced ventricular fibrillation [Text] / M.J. Curtis // *Cardiovasc. Res.* 1998; 39: 194–215.
110. Damman, K. Renal Effects and associated outcomes during angiotensin-neprilysin inhibition in heart failure [Text] / K. Damman, M. Gori, B. Claggett [et al.] // *JACC Heart Fail.* – 2018. – Vol. 6, № 6. – P. 489-498.
111. Dayan, A. Swimming exercise training prior to acute myocardial infarction attenuates left ventricular remodeling and improves left ventricular function in rats

- [Text] / A. Dayan, M.S. Feinberg, R. Holbova [et al.] // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2005. – Vol. 35, №1. – P. 73–78.
112. De Coux, A. Myocardial matrix metalloproteinase-2: inside out and upside down [Text] / A. De Coux, M.L. Lindsey, F. Villarreal [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2014. – Vol. 77. – P. 64-72.
113. de Groot, J.R. Acute ischemia-induced gap junctional uncoupling and arrhythmogenesis [Text] / J.R. de Groot, R. Coronel // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – Vol. 62. – P. 323–334.
114. de Simone, G. Echocardiographic measurement of left ventricular mass and volume in normotensive and hypertensive rats. Necropsy validation [Text] / G. de Simone, D.C. Wallerson, M. Volpe, R.B. Devereux // *Am. J. Hypertens.* – 1990. – Vol. 3, № 9. – P. 688-696.
115. Delewi, R. Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomised controlled clinical trials [Text] / R. Delewi, A. Andriessen, J.G. Tijssen [et al.] // *Heart.* – 2013. – Vol. 99, № 4. – P. 225-32.
116. Denison, H. ST-segment changes and catecholamine-related myocardial enzyme release during alcohol withdrawal [Text] / H. Denison, S. Jern, R. Jagenburg [et al.] // *Alcohol Alcohol.* – 1997. – Vol. 32, № 2. – P. 185-194.
117. Dézsi, C.A. Differences in the clinical effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and Angiotensin receptor blockers: a critical review of the evidence [Text] / C.A. Dézsi // *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* – 2014. – Vol. 14, № 3. – P. 167-73.
118. Dézsi, C.A. Trimetazidine in practice: Review of the clinical and experimental evidence [Text] / C.A. Dézsi // *Am. J. Ther.* – 2016. Vol. 23, № 3. – P. e871-879.
119. Di Napoli, P. Long term cardioprotective action of trimetazidine and potential effect on the inflammatory process in patients with ischaemic dilated cardiomyopathy [Text] / P. Di Napoli, A.A. Toccardi, A. Barsotti // *Heart.* – 2005. – Vol. 91. – P. 161-165.

120. Dunkerly-Eyring, B. Myocardial Phosphodiesterases and Their Role in cGMP Regulation [Текст] / B. Dunkerly-Eyring, D.A. Kass // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 75, 6. – P. 483-493.
121. Dutka, M. The relevance of microRNA in post-infarction left ventricular remodelling and heart failure [Text] / M. Dutka, R. Bobiński, J. Korbecki // *Heart Fail. Rev.* – 2019. – Vol. 24, № 4. – P. 575-586.
122. El-Sherif, N. Pathophysiology, risk stratification, and management of sudden cardiac death in coronary artery disease [Text] / N. El-Sherif, A. Khan, J. Savarese, G. Turitto // *Cardiology J.* – 2010. – Vol. 17, № 1. – P. 4–10.
123. Esmaeili, R. Echocardiographic assessment of myocardial infarction. comparison of a rat model in two strains [Text] / R. Esmaeili, A. Sadeghpour, A. Darbandi-Azar [et al.] // *Iran. J. Vet. Res.* – 2017. – Vol. 18, № 1. – P. 30-35.
124. Falk, E. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view [Text] / E. Falk, M. Nakano, J.F. Bentzon [et al.] // *Eur. Heart. J.* – 2013. – Vol. 34, № 10. – P. 719–728. 16.
125. Fan, X. Matrix metalloproteinase-2 in oncostatin M-induced sarcomere degeneration in cardiomyocytes [Text] / X. Fan, B.G. Hughes, M.A. Ali [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2016. – Vol. 311, № 1. – P. H183-H189.
126. Fehske, W. Cardiac effects of isoproterenol in the complex echocardiographic evaluation [Text] / W. Fehske, E. Grube, W. Steinborn [et al.] // *Z. Kardiol.* – 1980. – Vol. 69, № 2. – P. 81-91.
127. Fernández-Solà, J. Diastolic function impairment in alcoholics [Text] / J. Fernández-Solà, J.M. Nicolás, J.C. Paré [et al.] // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2000. – Vol. 24, № 12. – P. 1830-1835.
128. Ferrari, R. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition with perindopril on left ventricular remodeling and clinical outcome: results of the randomized Perindopril and Remodeling in Elderly with Acute Myocardial Infarction (PREAMI) Study [Text] / R. Ferrari, Perindopril and Remodeling in Elderly with Acute Myocardial Infarction Investigators// *Arch. Intern. Med.* – 2006. – Vol. 166, № 6. – P. 659-666.



129. Ferrero, P. Prognostic scores in heart failure – critical appraisal and practical use [Text] / P. Ferrero, A. Iacovoni, E. D'Elia [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2015. – Vol. 188. – P. 1-9.
130. Fitzpatrick, P.A. Down-regulation of neprilysin (EC3.4.24.11) expression in vascular endothelial cells by laminar shear stress involves NADPH oxidase-dependent ROS production [Text] / P.A. Fitzpatrick, A.F. Guinan, T.G. Walsh [et al.] // *J. Biochem. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 41, № 11. – P. 2287-94.
131. Fogle, R.L. Functional proteomic analysis reveals sex-dependent differences in structural and energy-producing myocardial proteins in rat model of alcoholic cardiomyopathy [Text] / R.L. Fogle, C.S. Hollenbeak, B.A. Stanley [et al.] // *Physiol. Genomics.* – 2011. – Vol. 43, № 7. – P. 346-356.
132. Gao, L. Degradation of cardiac myosin light chain kinase by matrix metalloproteinase-2 contributes to myocardial contractile dysfunction during ischemia/reperfusion [Text] / L. Gao, Y.J. Zheng, S.S. Gu [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2014. – Vol. 77. – P. 102-12.
133. García-Manzanares, M. XPO1 gene therapy attenuates cardiac dysfunction in rats with chronic induced myocardial infarction [Text] / M. García-Manzanares, E. Tarazón, A. Ortega [et al.] // *J. Cardiovasc. Transl. Res.* – 2020. – Vol. 13, № 4. – P. 593-600.
134. Gardin, J.M. Echocardiographic assessment of left ventricular mass and systolic function in mice [Text] / J.M. Gardin, F.M. Siri, R.N. Kitsis [et al.] // *Circ Res.* – 1995. – Vol. 76, № 5. – P. 907-14.
135. Garza, M.A. Strength training attenuates post-infarct cardiac dysfunction and remodeling [Text] / M.A. Garza, E.A. Wason, J.R. Cruger [et al.] // *J. Physiol. Sci.* – 2019. – Vol. 69, № 3. – P. 523-530.
136. Gibson, C.M. Effect of intensive statin therapy on clinical outcomes among patients undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndrome. PCI-PROVE IT: A PROVE IT-TIMI 22 (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction 22)

- Substudy [Text] / C.M. Gibson, Y.B. Pride, C.P. Hochberg [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2009. – Vol. 54, № 24. – P. 2290-5.
137. Givertz, M.M. Effects of xanthine oxidase inhibition in hyperuricemic heart failure patients: the xanthine oxidase inhibition for hyperuricemic heart failure patients (EXACT-HF) Study [Text] / M.M. Givertz, K.J. Anstrom, M.M. Redfield [et al.] // Circulation. – 2015. – Vol. 131, № 20. – P. 1763-71.
138. Goldman, S. Rat infarct model of myocardial infarction and heart failure [Text] / S. Goldman, T.E. Raya // J. Card. Fail. – 1995. – Vol. 1, № 2. – P. 169-177.
139. Goldsmith, S.R. The role of vasopressin in congestive heart failure [Text] / S.R. Goldsmith // Cleve Clin. J. Med. – 2006. – Vol. 73, Suppl. 3. – P. S19-23.
140. Gu, J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of LCZ696, a novel dual-acting angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi) [Text] / J. Gu, A. Noe, P. Chandra [et al.] // J. Clin. Pharmacol. – 2010. – Vol. 50, № 4. – P. 401-14.
141. Guo, J. A. Study on the effect of different doses of rosuvastatin on ventricular remodeling in patients with acute coronary syndrome after emergency percutaneous coronary intervention [Текст] / J. Guo, W.Z. Zhang, Q. Zhao [et al.] // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2017. – Vol. 21, № 19. – P. 4457-4463.
142. Hagar, J.M. Quantitative two-dimensional echocardiographic assessment regional motion during transient ischemia and reperfusion in the rat [Text] / J.M. Hagar, R. Matthews, R.A. Kloner // J. Am. Soc. Echocardiogr. – 1995. – Vol. 8, № 2. – P. 162-174.
143. Halade, G.V. Matrix metalloproteinase (MMP)-9: a proximal biomarker for cardiac remodeling and a distal biomarker for inflammation [Text] / G.V. Halade, Y.F. Jin, M.L. Lindsey // Pharmacol. Ther. – 2013. – Vol. 139, № 1. – P. 32-40.
144. Hare, J.M. Impact of oxypurinol in patients with symptomatic heart failure. Results of the OPT-CHF study [Text] / J.M. Hare, B. Mangal, J. Brown [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 51, № 24. – P. 2301-9.

145. Hayashi, T. MAM: More than just a housekeeper [Text] / T. Hayashi, R. Rizzuto, G. Hajnoczky, T.P. Su // Trends Cell. Biol. – 2009. – Vol. 19, № 2. – P. 81-88.
146. Hayashidani, S. Fluvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction [Text] / S. Hayashidani, H. Tsutsui, T. Shiomi [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 105, № 7. – P. 868-73.
147. Hayward, R. Echocardiographic evaluation of cardiac structure and function during exercise training in the developing Sprague-Dawley rat [Text] / Hayward R., Lien C.Y. // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. – 2011. – Vol. 50, № 4. – P. 454-461.
148. He, Y.P. Involvement of ERK and AKT signaling in the growth effect of arginine vasopressin on adult rat cardiac fibroblast and the modulation by simvastatin [Text] / Y.P. He, L.Y. Zhao, Q.S. Zheng [et al.] // Mol. Cell. Biochem. – 2008. – Vol. 317, № 1-2. – P. 33-41.
149. Hearse, D.J. Cardioprotection: Intermittent ventricular fibrillation and rapid pacing can induce preconditioning in the blood-perfused rat heart [Text] / D.J. Hearse, R. Ferrari, F.J. Sutherland // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1999. – Vol. 31, № 11. – P. 1961–1973.
150. Heijnen, B.F. Cardiac remodeling during and after renin-angiotensin system stimulation in Cyp1a1-Ren2 transgenic rats [Text] / B.F. Heijnen, L.P. Pelkmans, A.H. Danser [et al.] // J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst. – 2014. – Vol. 15, № 1. – P. 69-81.
151. Hernández-Reséndiz, S. The role of redox dysregulation in the inflammatory response to acute myocardial ischaemia-reperfusion injury – adding fuel to the fire [Text] / S. Hernández-Reséndiz, K. Chinda, S-B. Ong [et al.] // Curr. Med. Chem. – 2018. – Vol. 25, № 11. – P. 1275-1293.
152. Herrmann, J.L. Transforming growth factor- $\alpha$  enhances stem cell-mediated postischemic myocardial protection [Text] / J.L. Herrmann, A.M. Abarbanell, Y. Wang [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2011. – Vol. 92, № 5. – P. 1719–1725.

153. Holinski, S. Noninvasive monitoring cardiac function in a chronic ischemic heart failure in the rat: assessment with tissue Doppler and non-Doppler 2D strain [Text] / S. Holinski, F. Knebel, G. Heinze [et al.] // *Cardiovasc Ultrasound*. – 2011. – Vol. 9. – ID15.
154. Hori, M. Oxidative stress and left ventricular remodelling after myocardial infarction [Text] / M. Hori, K. Nishida // *Cardiovasc. Res*. – 2009. – Vol. 81, № 3. – P. 457-64.
155. Hori, Y. Doxycycline attenuates isoproterenol-induced myocardial fibrosis and matrix activity in rats [Text] / Y. Hori, S. Kunihiro, S. Sato [et al.] // *Biol. Pharm. Bull*. – 2009. – Vol. 32, № 10. – P. 1678-1682.
156. Hudson, M.P. Effects of selective matrix metalloproteinase inhibitor (PG-116800) to prevent ventricular remodeling after myocardial infarction: results of the PREMIER (Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling) trial [Text] / M.P. Hudson, P.W. Armstrong, W. Ruzyllo [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol*. – 2006. – Vol. 48, № 1. – P. 15-20.
157. Hughes, B.G. Targeting MMP-2 to treat ischemic heart injury [Text] / B.G. Hughes, R. Schulz // *Basic Res. Cardiol*. – 2014. – Vol. 109, № 4. – P. 424.
158. Hussain, I. Impaired right ventricular-pulmonary arterial coupling and effect of sildenafil in heart failure with preserved ejection fraction: an ancillary analysis from the phosphodiesterase-5 inhibition to improve clinical status and exercise capacity in diastolic heart failure (RELAX) Trial [Text] / I. Hussain, S.F. Mohammed, P.R. Forfia [et al.] // *Circ. Heart Fail*. – 2016. – Vol. 9, № 4. – P. e002729.
159. Hwang, I.C. Pulmonary hemodynamics and effects of phosphodiesterase type 5 inhibition in heart failure: a meta-analysis of randomized trials [Text] / I.C. Hwang, Y.J. Kim, J.B. Park [et al.] // *BMC Cardiovasc. Disord*. – 2017. – Vol. 17, № 1. – ID 150.
160. Jing, L. Chronic alcohol intake-induced oxidative stress and apoptosis: role of CYP2E1 and calpain-1 in alcoholic cardiomyopathy [Text] / L. Jing, C.M. Jin, S.S. Li [et al.] // *Mol. Cell. Biochem*. – 2012. – Vol. 359, №1-2. – P. 283-292.

161. Johannessen, M. Antagonist action of progesterone at  $\sigma$ -receptors in the modulation of voltage-gated sodium channels [Текст] / M. Johannessen, D. Fontanilla, T. Mavlyutov [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2013. – V. 305, № 9. – P. C997.
162. Jong, W.M. Reduced acute myocardial ischemia-reperfusion injury in IL-6-deficient mice employing a closed-chest mode [Text] / W.M. Jong, H.T. Cate, A.C. Linnenbank [et al.] // *Inflamm. Res.* – 2016. – Vol. 65, № 6. – P. 489-499.
163. Kähkönen, S. Effects of alcohol withdrawal on cardiovascular system [Text] / S. Kähkönen, E. Zvartau, J. Lipsanen, B. Bondarenko // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2011. – Vol. 35, № 2. – P. 550-553.
164. Keating, G.M. Carvedilol: a review of its use in chronic heart failure [Text] / G.M. Keating, B. Jarvis B. // *Drugs.* – 2003. – Vol. 63, № 16. – P. 1697-741.
165. Kentsch, M. Neutral endopeptidase 24.11 inhibition may not exhibit beneficial haemodynamic effects in patients with congestive heart failure [Text] / M. Kentsch, W. Otter, C. Drummer [et al.] // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 51, № 3-4. – P. 269-72.
166. Kim, G.H. Reverse remodelling and myocardial recovery in heart failure [Text] / G.H. Kim, N. Uriel, D. Burkhoff // *Nat. Rev. Cardiol.* – 2018. – Vol. 15, № 2. – P. 83-96.
167. Kim, H.S. An angiotensin receptor blocker prevents arrhythmogenic left atrial remodeling in a rat post myocardial infarction induced heart failure model [Text] / H.S. Kim, C.W. No, S.H. Goo, T.J. Cha // *J. Korean Med. Sci.* – 2013. – Vol. 28, № 5. – P. 700-708.
168. Kitabayashi, K. Bcl-2 expression enhances myoblast sheet transplantation therapy for acute myocardial infarction [Text] / K. Kitabayashi, A. Siltanen, T. Patila [et al.] // *Cell. Transplant.* – 2010. – Vol. 19, № 5. – P. 573–588.
169. Klatsky, A.L. Alcohol and cardiovascular health [Text] / A.L. Klatsky // *Physiol. Behav.* – 2010. – Vol. 100, № 1. – P. 76-81.
170. Kloner, R.A. To drink or not to drink? That is the question [Text] / R.A. Kloner, S.H. Rezkalla // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116, № 11. P. 1306-1317.

171. Koenig, G.C. MT1-MMP-dependent remodeling of cardiac extracellular matrix structure and function following myocardial infarction [Text] / G.C. Koenig, R.G. Rowe, S.M. Day [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2012. – Vol. 180, № 5. – P. 1863-78.
172. Kong, P. The pathogenesis of cardiac fibrosis [Text] / P. Kong, P. Christia, N.G. Frangogiannis // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2014. – Vol. 71, № 4. – P. 549-74.
173. Konstam, M.A. Effects of oral tolvaptan in patients hospitalized for worsening heart failure: the EVEREST Outcome Trial [Text] / M.A. Konstam, M. Gheorghiade, J.C. Burnett [et al.], Efficacy of vasopressin antagonism in heart failure outcome study with tolvaptan (EVEREST) investigators // *JAMA.* – 2007. – Vol. 297, № 12. – P. 1319-1331.
174. Kuethe, F. Lack of regeneration of myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans with large anterior myocardial infarctions [Text] / F. Kuethe, B.M. Richartz, H.G. Sayer [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2004. – Vol. 97, № 1. – P. 123-7.
175. Kulbertus, H. Study of the month. The RALES study (randomized aldactone evaluation study) [Text] / H. Kulbertus // *Rev. Med. Liege.* – 1999. – Vol. 54, № 9. – P. 770-2.
176. Kuller, L.H. Myocardial infarction and sudden death in an urban community [Text] / L.H. Kuller, M. Cooper, J. Perper, R. Fisher // *Bull. N.Y. Acad. Med.* – 1973. – Vol. 49, № 6. – P. 532–543.
177. Kumar, A. The role of statins in the prevention of heart failure after acute coronary syndrome [Text] / A. Kumar, C.P. Cannon // *Heart Fail. Clin.* – 2008. – Vol. 4, № 2. – P. 129-39.
178. Lang, R.M. 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 European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology // R.M. Lang, M. Bierig, R.B. Devereux [et al.] // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2005.\*

179. Lassen, T.R. Effect of paroxetine on left ventricular remodeling in an in vivo rat model of myocardial infarction [Text] / T.R. Lassen, J.M. Nielsen, J. Johnsen [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* – 2017. – Vol. 112, № 3. – P. 26.
180. Laufs, U. Impact of HMG CoA reductase inhibition on small GTPases in the heart [Text] / U. Laufs, H. Kilter, C. Konkol [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2002. – Vol. 53, № 4. – P. 911-20.
181. Lechat, P. Clinical effects of beta-adrenergic blockade in chronic heart failure: a meta-analysis of double-blind, placebo-controlled, randomized trials [Text] / P. Lechat, M. Packer, S. Chalon [et al.] // *Circulation.* – 1998. – Vol. 98, № 12. – P. 1184-1191.
182. Lee, P. Fas pathway is a critical mediator of cardiac myocyte death and MI during ischemia-reperfusion in vivo [Text] / P. Lee, M. Sata, D.J. Lefer [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 284. – P. H456–H463.
183. Lee, V.C. Meta-analysis: angiotensin-receptor blockers in chronic heart failure and high-risk acute myocardial infarction [Text] / V.C. Lee, D.C. Rhew, M. Dylan, E. Badamgarav [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2004. – Vol. 141, № 9. – P. 693-704.
184. Leung, A.W. Recent progress in elucidating the molecular mechanism of the mitochondrial permeability transition pore [Text] / A.W. Leung, A.P. Halestrap // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008 – Vol. 1777, № 7-8. – P. 946–952.
185. Levy, D. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure [Text] / D. Levy, S. Kenchaiah, M.G. Larson [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 347, № 18. – P.1397-1402.
186. Lewis, A. Detection of isolated mitochondria-associated membranes using the sigma-1 receptor [Text] / A. Lewis, S.Y. Tsai, T.P. Su // *Methods Mol. Biol.* – 2016. – V. 1376. – P. 133-140.
187. Li, H. Clinical effects of carvedilol and trimetazidine for the treatment of alcoholic cardiomyopathy [Text] / H. Li, F.Y. Liu, X.L. Li [et al.] // *Exp Ther Med.* – 2016. – Vol. 12, № 2. – P. 979-982.

188. Li, S.Y. Cardiac overexpression of alcohol dehydrogenase exacerbates chronic ethanol ingestion-induced myocardial dysfunction and hypertrophy: role of insulin signaling and ER stress [Text] / S.Y. Li, J. Ren // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2008. – Vol. 44, № 6. – P. 992-1001.
189. Lin, H.B. Inhibition of MMP-2 expression with siRNA increases baseline cardiomyocyte contractility and protects against simulated ischemic reperfusion injury [Text] / H.B. Lin, V.J. Cadete, B. Sra [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – Article ID 810371.
190. Lindsey, M.L. Temporal and spatial expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases following myocardial infarction [Text] / M.L. Lindsey, R. Zamilpa // *Cardiovasc. Ther.* – 2012. – Vol. 30, № 1. – P. 31-41.
191. Litwin, S.E. Long-term captopril treatment improves diastolic filling more than systolic performance in rats with large myocardial infarction [Text] / S.E. Litwin, S.E. Katz, J.P. Morgan, P.S. Douglas // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1996 – Vol. 28, № 3. – P. 773-81.
192. Liu, B. A novel rat model of heart failure induced by high methionine diet showing evidence of association between hyperhomocysteinemia and activation of NF-kappaB [Text] / B. Liu, S. Ma, T. Wang [et al.] // *Am. J. Transl. Res.* – 2016. – Vol. 8, № 1. – P. 117-124.
193. Liu, J. Rats in acute withdrawal from ethanol exhibit left ventricular systolic dysfunction and cardiac sympathovagal balance shift [Text] / J. Liu, S. Shirafuji, T. Fujimiya // *Alcohol.* – 2009. – Vol. 43, № 3. – P. 207-216.
194. Liu, L. Suppression of calcium-sensing receptor ameliorates cardiac hypertrophy through inhibition of autophagy [Text] / L. Liu, C. Wang, Y. Lin [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2016. – Vol. 14, № 1. – P. 111-120.
195. Liu, Z.J. Effects of short-term high dose atorvastatin on left ventricular remodeling in patients with first time attack of anterior acute myocardial infarction [Текст] / Z.J. Liu, G.P. Hu, M.Y. Fei [et al.] // *Chin. Med. Sci. J.* – 2018. – Vol. 33, № 2. – P. 84-90.



196. Loomba, R. Serum  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase predicts all-cause, cardiovascular and liver mortality in older adults [Text] / R. Loomba, I. Doycheva, R. Bettencourt [et al.] // *J. Clin. Exp. Hepatol.* – 2013. – Vol. 3, № 1. – P. 4-11.
197. Lopaschuk, G.D. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease [Text] / G.D. Lopaschuk, D.D. Belke, J. Gamble [et al.] // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1994. – Vol. 1213 – P.263-276.
198. Madonna, R. Simvastatin attenuates expression of cytokine-inducible nitric-oxide synthase in embryonic cardiac myoblasts [Text] / R. Madonna, P. Di Napoli, M. Massaro [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, № 14. – P. 13503-11.
199. Mahmood, S.S. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease. a historical perspective [Text] / S.S. Mahmood, D. Levy, R.S, Vasan, T.J. Wang // *Lancet.* – 2014. – Vol. 383, № 9921. – P. 999-1008.
200. Mangiafico, S. Neutral endopeptidase inhibition and the natriuretic peptide system: an evolving strategy in cardiovascular therapeutics [Text] / S. Mangiafico, L.C. Costello-Boerrigter, I.A. Andersen [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2013. – Vol. 34, № 12. – P. 886-893c.
201. Marchini, T. Inflammatory cell recruitment in cardiovascular disease [Text] / T. Marchini, L.S. Mitre, D. Wolf // *Front. Cell. Dev. Biol.* – 2021. – Vol. 9. – P. 635527.
202. Marketou, M. Differential metabolic effects of beta-blockers: an updated systematic review of nebivolol [Текст] / M. Marketou, Y. Gupta, S. Jain, P. Vardas // *Curr. Hypertens Rep.* – 2017. – Vol. 19, № 3. – P. 22.
203. Marriott, K.S.  $\sigma$ -1 receptor at the mitochondrial-associated endoplasmatic reticulum membrane is responsible for mitochondrial metabolic regulation [Text] / K.S. Marriott, M. Prasad, V. Thapliyal, H.S. Bose // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2012. – Vol. 343, № 3. – P. 578-586.
204. Maupoli, V. Direct measurement of free radical generation in isolated rat heart by electron paramagnetic resonance spectroscopy: effects of trimetazidine [Text] / V. Maupoli, L. Rochette, A. Talard [et al.] / Eds. J.Emerit, L.Packer, C.Aucleir // *Preventive Med.* – N.Y.: Plenum Press, 1990. – P.373-376.

205. McMurray, J.J. Aliskiren, enalapril, or aliskiren and enalapril in heart failure [Text] / J.J. McMurray, H. Krum, W.T. Abraham [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2016. – Vol. 374, № 16. – P. 1521-32.
206. McMurray, J.J. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure, PARADIGM-HF Investigators and Committees [Text] / J.J. McMurray, M. Packer, A.S. Desai [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2014. – Vol. 371, № 11. – P. 993-1004.
207. McMurray, J.J. Effects of the oral direct renin inhibitor aliskiren in patients with symptomatic heart failure [Text] / J.J. McMurray, B. Pitt, R. Latini [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 17-24.
208. Mencarelli, A. FXR activation improves myocardial fatty acid metabolism in a rodent model of obesity-driven cardiotoxicity [Text] / A. Mencarelli, S. Cipriani, B. Renga [et al.] // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* – 2013. – Vol. 23, № 2. – P. 94-101.
209. Meyer, H. Identification and bioinformatic analysis of neprilysin and neprilysin-like metalloendopeptidases in *Drosophila melanogaster* [Текст] / H. Meyer, A. Buhr, P. Callaerts [et al.] // *MicroPubl. Biol.* – 2021. – Jun 23; 2021:10.17912/micropub.biology.000410.
210. Mezzaroma, E. NLRP3 inflammasome inhibitors in cardiovascular diseases [Текст] / E. Mezzaroma, A. Abbate, S. Toldo // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, № 4. – P. 976.
211. Michel, L.Y.M. New and emerging therapies and targets: beta-3 agonists [Text] / L.Y.M. Michel, J.L. Balligand // *Handb Exp Pharmacol.* – 2017. – Vol. 243. – P. 205-223.
212. Moshal, K.S. Mitochondrial matrix metalloproteinase activation decreases myocyte contractility in hyperhomocysteinemia [Text] / K.S. Moshal, S.M. Tipparaju, T.P. Vacek [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 2. – P. H890-7.
213. Mountain, D.J. Interleukin-1beta increases expression and activity of matrix metalloproteinase-2 in cardiac microvascular endothelial cells: role of

- PKC $\alpha$ /beta1 and MAPKs [Text] / D.J. Mountain, M. Singh, B. Menon, K. Singh // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2007. – Vol. 292, № 2. – P. C867-75.
214. Münzel, T. Pathophysiological role of oxidative stress in systolic and diastolic heart failure and its therapeutic implications [Text] / T. Münzel, T. Gori, J.F. Keaney Jr. [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2015. – Vol. 36, № 38. – P. 2555-64.
215. Myerburg, R.J. Sudden cardiac death. Sudden cardiac death caused by coronary heart disease [Text] / R.J. Myerburg, M.J. Junttila // *Circulation.* – 2012. – Vol. 125. – P. 1043–1052.
216. Myung, S.K. Efficacy of vitamin and antioxidant supplements in prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials [Text] / S.K. Myung, W. Ju, B. Cho [et al.] // *BMJ.* – 2013. – Vol. 346. – P. f10.
217. Nadur, N.F. The long and winding road of designing phosphodiesterase inhibitors for the treatment of heart failure [Текст] / N.F. Nadur, L.L. de Azevedo, L. Caruso [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2021. – Vol. 212. – P. 113123.
218. Nahrendorf, M. Impact of hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction: an experimental serial cardiac magnetic resonance imaging study [Text] / M. Nahrendorf, K. Hu, K.H. Hiller [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2002. – Vol. 40, № 9. – P. 1695-700.
219. Nakagawa, T. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death [Text] / T. Nakagawa, S. Shimizu, T. Watanabe [et al.] // *Nature.* – 2005. – Vol. 434, № 7033. – P. 652-8.
220. Nalivaeva, N.N. Expression and functions in development, ageing and disease [Text] / N.N. Nalivaeva, I.A. Zhuravin, A.J. Turner // *Mech. Ageing. Dev.* – 2020. – Vol. 192. – P. 111363.
221. Narayan, G. Vasopressin receptor antagonists and their role in clinical medicine [Text] / G. Narayan, S.N. Mandal // *Indian J Endocrinol Metab.* – 2012. – Vol. 16, № 2. – P. 183-91.

222. Nigri, A. Acute hemodynamic effects of acebutolol and propranolol [Text] / A. Nigri, E. Mangieri, E. Martuscelli, A. Reale // Clin. Ther. – 1984. – Vol. 6, № 5. – P. 693-698.
223. Nobian, A. The role of arginine vasopressin in myocardial infarction and reperfusion [Text] / A. Nobian, A. Mohamed, I. Spyridopoulos // Kardiol. Pol. – 2019. – Vol. 77, № 10. – P. 908-917.
224. Oliveira-Junior, S.A. Association echocardiographic structural parameters and body weight Wistar rats [Text] / S.A. Oliveira-Junior, P.F. Martinez, W.Y.C. Fan [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, № 16. – P. 26100-26105. 56.
225. Ono, T. The histone 3 lysine 9 methyltransferase inhibitor chaetocin improves prognosis in a rat model of high salt diet-induced heart failure [Text] / T. Ono, N. Kamimura, T. Matsubishi [et al.] // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7. – P. 39752.
226. Ozaydin, M. Nebivolol versus carvedilol or metoprolol in patients presenting with acute myocardial infarction complicated by left ventricular dysfunction [Text] / M. Ozaydin, H. Yucel, S. Kocyigit [et al.] // Med. Princ. Pract. – 2016. – Vol. 25, № 4. – P. 316-22.
227. Ozturk, N. Rosuvastatin reduces L-type Ca<sup>2+</sup> current and alters contractile function in cardiac myocytes via modulation of  $\beta$ -adrenergic receptor signaling [Текст] / N. Ozturk, S. Uslu, T. Mercan [et al.] // Cardiovasc Toxicol. – 2021. – Vol. 21, № 5. – P. 422-431.
228. Packer, M. Comparison of omapatrilat and enalapril in patients with chronic heart failure: the Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events (OVERTURE) [Text] / M. Packer, R.M. Califf, M.A. Konstam [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 106, № 8. – P. 920-926.
229. Packer, M. Long-term effect of endothelin receptor antagonism with bosentan on the morbidity and mortality of patients with severe chronic heart failure: primary results of the ENABLE Trials [Text] / M. Packer, J.J.V. McMurray, H. Krum [et al.] // JACC Heart Fail. – 2017. – Vol. 5, № 5. – P. 317-326.

230. Packer, M. What causes sudden death in patients with chronic heart failure and a reduced ejection fraction? [Text] / M. Packer // *Eur. Heart J.* – 2020. – Vol. 41, № 18. – P. 1757-1763.
231. Park, K. The impact of a dose of the angiotensin receptor blocker valsartan on post-myocardial infarction ventricular remodeling [Text] / K. Park, Y.D. Kim, K.S. Kim [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2018. – Vol. 5, № 2. – P. 354-363.
232. Parrinello, G. Right ventricular diameter predicts all-cause mortality in heart failure with preserved ejection fraction [Text] / G. Parrinello, D. Torres, S. Buscemi [et al.] // *Intern. Emerg. Med.* – 2019. – Vol. 14, № 7. – P. 1091-1100.
233. Pasini, E. Effect of nolomirole on monocrotaline-induced heart failure [Text] / E. Pasini, A. Cagnioni, F. Pastore [et al.] // *Pharmacol. Res.* – 2004. – Vol. 49, № 1. – P. 1-5.
234. Pasqualin, R.C. Sevoflurane preconditioning during myocardial ischemia-reperfusion reduces infarct size and preserves autonomic control of circulation in rats [Text] / R.C. Pasqualin, C.T. Mostarda, L.E. Souza [et al.] // *Acta Cir Bras.* – 2016. – Vol. 31, № 5. – P. 338-345.
235. Patten, R.D. Ventricular remodeling and its prevention in the treatment of heart failure [Text] / R.D. Patten, J.E. Udelson, MA. Konstam // *Curr. Opin. Cardiol.* – 1998. – Vol. 13, № 3. – P. 162-167.
236. Pei, H. The use of a novel non-steroidal mineralocorticoid receptor antagonist finerenone for the treatment of chronic heart failure: A systematic review and meta-analysis [Text] / H. Pei, W. Wang, D. Zhao [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2018. – Vol. 97, № 16. – P. e0254.
237. Pfeffer, M.A. Angiotensin receptor-neprilysin inhibition in acute myocardial infarction [Текст] / M.A. Pfeffer, B. Claggett, E.F. Lewis [et al.]; PARADISE-MI Investigators and Committees // *N. Engl. J. Med.* – 2021. – Vol. 385, № 20. – P. 1845-1855.
238. Piano, M.R. Alcoholic cardiomyopathy: Pathophysiologic insight [Text] / M.R. Piano, Sh.A. Phillips // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2014. – Vol. 14, № 4. – P. 291-308. 109.

239. Pitt, B. Eplerenone reduces mortality 30 days after randomization following acute myocardial infarction in patients with left ventricular systolic dysfunction and heart failure [Text] / B. Pitt, H. White, J. Nicolau [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2005. – Vol. 46, № 3. – P. 425-31.
240. Podlesnikar, T. Left ventricular functional recovery of infarcted and remote myocardium after ST-segment elevation myocardial infarction (METOCARD-CNIC randomized clinical trial substudy) [Text] / T. Podlesnikar, G. Pizarro, R. Fernández-Jiménez [et al.] // *J. Cardiovasc. Magn. Reson.* – 2020. – Vol. 22, № 1. – P. 44.
241. Polegato, B.F. Association between functional variables and heart failure after myocardial infarction in rats [Text] / B.F. Polegato, M.F. Minicucci, P.S. Azevedo [et al.] // *Arq Bras Cardiol.* – 2016. – Vol. 106, № 2. – P. 105-112.
242. Porter, K.E. Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling [Text] / K.E. Porter, N.A. Turner // *Pharmacol. Ther.* – 2009. – Vol. 123, № 2. – P. 255-78.
243. Porter, K.E. Statins and myocardial remodelling: cell and molecular pathways [Text] / K.E. Porter, N.A. Turner // *Expert Rev. Mol. Med.* – 2011. – Vol. 13. – e22. 306].
244. Povsic, T.J. Stem cells in cardiovascular diseases: 30,000-foot view [Текст] / T.J. Povsic, B.J. Gersh // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, № 3. – P. 600.
245. Ramani, R. Inhibition of tumor necrosis factor receptor-1-mediated pathways has beneficial effects in a murine model of postischemic remodeling [Текст] / R. Ramani, M. Mathier, P. Wang [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – Vol. 287, № 3. – P. H1369-H1377.
246. Rehm, J. Epidemiology and alcohol policy in Europe [Text] / J. Rehm, W. Zatonski, B. Taylor, P. Anderson // *Addiction.* – 2011. – Vol.106, Suppl. 1. – P. 11-19.
247. Rehsia, N.S. Potential of endothelin-1 and vasopressin antagonists for the treatment of congestive heart failure [Text] / N.S. Rehsia, N.S. Dhalla // *Heart Fail. Rev.* – 2010. – Vol. 15, № 1. – P. 85-101.

248. Ren, J. Mechanisms of alcoholic heart disease [Text] / J. Ren, L.E. Wold // *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* – 2008. – Vol. 2, №6. – P. 497-506.
249. Revuelta-López, E. Relationship among LRP1 expression, Pyk2 phosphorylation and MMP-9 activation in left ventricular remodelling after myocardial infarction [Text] / E. Revuelta-López, C. Soler-Botija, L. Nasarre [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2017. – Vol. 21, № 9. – P. 1915-1928.
250. Rodríguez, M. Hyponatremia in heart failure: Pathogenesis and management [Текст] / M. Rodríguez, M. Hernandez, W. Cheungpasitporn [et al.] // *Curr. Cardiol. Rev.* – 2019. – Vol. 15, № 4. – P. 252-261.
251. Rodríguez-Gabella, T. Renin-angiotensin system inhibition following transcatheter aortic valve replacement [Текст] / T. Rodríguez-Gabella, P. Catalá, A.J. Muñoz-García [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2019. – Vol. 74, № 5. – P. 631-641.
252. Rodríguez-Pascual, F. The profibrotic role of endothelin-1: is the door still open for the treatment of fibrotic diseases? [Text] / F. Rodríguez-Pascual, O. Busnadiego, J. González-Santamaría // *Life Sci.* – 2014. – Vol. 118, № 2. – P. 156-64.
253. Roerecke, M. Alcohol use disorders and mortality: a systematic review and meta-analysis [Text] / M. Roerecke, J. Rehm // *Addiction.* – 2013. – Vol. 108, №9. – P. 1562-1578.
254. Rossignol, P. Incidence, determinants, and prognostic significance of hyperkalemia and worsening renal function in patients with heart failure receiving the mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone or placebo in addition to optimal medical therapy: Results from the Eplerenone in Mild Patients Hospitalization and Survival Study in Heart Failure (EMPHASIS-HF) [Text] / Rossignol P., D. Dobrev, J.J.V. McMurray [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 51-58.
255. Rozec, B. Nebivolol, a vasodilating selective beta(1)-blocker, is a beta(3)-adrenoceptor agonist in the nonfailing transplanted human heart [Text] / B. Rozec,

- Erfanian M., Laurent K. [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2009. Vol. 53, № 17. – P. 1532-8.
256. Russell, S.D. Rationale for use of an exercise end point and design for the ADVANCE (A Dose evaluation of a Vasopressin ANtagonist in CHF patients undergoing Exercise) trial [Text] / S.D. Russell, P. Selaru, D.A. Pyne [et al.] // *Am. Heart J.* – 2003. – Vol. 145, № 1. – P. 179-86.
257. San Roman, J.A. Comparison of different bone marrow-derived stem cell approaches in reperfused STEMI. A multicenter, prospective, randomized, open-labeled TECAM trial [Text] / J.A. San Roman, P.L. Sánchez, A. Villa [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2015. – Vol. 65, № 22. – P. 2372-82.
258. Sánchez-Enrique, C. Heart transplant and mechanical circulatory support in patients with advanced heart failure [Text] / C.Sánchez-Enrique, U.P. Jorde, J.González-Costello // *Rev. Esp. Cardiol. (Engl Ed).* – 2017. – Vol. 70, № 5. – P. 371-81.
259. Santangeli, P. Left ventricular ejection fraction for the risk stratification of sudden cardiac death: friend or foe? [Text] / P. Santangeli, A.Dello Russo, M. Casella [et al.] // *Internal. Med. J.* – 2011. – Vol. 41. P. 55–60.
260. Santer, D. Tenascin-C aggravates ventricular dilatation and -converting enzyme activity after myocardial infarction in mice [Text] / D. Santer, F. Nagel, I.F. Gonçalves [et al.] // *ESC Heart Fail.* 2020 Oct;7(5):2113-2122.
261. Saremi, A. The cardiovascular implications of alcohol and red wine [Text] / A. Saremi, R. Arora // *Am. J. Ther.* – 2008. – Vol. 15, № 3. – P. 265-277.
262. Saridakis, N.S. Effect of dobutamine on left ventricular functional geometry after acute myocardial infarction: experimental study [Text] / N.S. Saridakis, S.T. Toumanidis, A.M. Vintzileou [et al.] // *Hellenic J. Cardiol. (HJC).* – 2007. – Vol. 48. – P. 72–79.
263. Sarzi-Puttini, P. TNF-alpha, rheumatoid arthritis, and heart failure: a rheumatological dilemma [Text] / P. Sarzi-Puttini, F. Atzeni, Y. Shoenfeld, G. Ferraccioli // *Autoimmun. Rev.* – 2005. – Vol. 4, № 3. – P. 153-61.



264. Sawicki, G. Intracellular regulation of matrix metalloproteinase-2 activity: new strategies in treatment and protection of heart subjected to oxidative stress [Text] / G. Sawicki // *Scientifica (Cairo)*. – 2013. – Vol. 2013. – article ID 130451. – 12 p.
265. Schaffer, S.W. Impaired energy metabolism of the taurine-deficient heart [Text] / S.W. Schaffer, K. Shimada-Takaura, C.J. Jong [et al.] // *Amino Acids*. – 2016. – Vol. 48, № 2. – P. 549-558. 103.
266. Sciatti, E. Sacubitril/valsartan: from a large clinical trial to clinical practice [Text] / E. Sciatti, M. Senni, C.M. Lombardi [et al.] // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. – 2018. – Vol. 19, № 9. – P. 473-479.
267. Selye, A. I. Simple technic for surgical occlusion of coronary vessels in the rat [Text] / A.I. Selye, E. Bajuz, S. Crasso, P. Nendell // *Angiology*. – 1960, - Vol. 11. – P. 398-407.
268. Sentex, E. Trimetazidine increase phospholipid turnover in ventricular myocyte [Text] / E. Sentex, J. Sergiel, A. Lucien [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 1997.– P. 153–162.
269. Shioda, N. Expression of a truncated form of the endoplasmic reticulum chaperone protein,  $\sigma 1$  receptor, promotes mitochondrial energy depletion and apoptosis [Text] / N. Shioda, K. Ishikawa, H. Tagashira [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, № 28. – P. 23318-23331.
270. Sparapani, S. The biology of vasopressin [Текст] / S. Sparapani, C. Millet-Boureima, J. Oliver [et al.] // *Biomedicines*. – 2021. – Vol. 9, № 1. – 89, 32 p.
271. Stein, A.B. Effects of anesthesia on echocardiographic assessment of left ventricular structure and function in rats [Text] / A.B. Stein, S. Tiwari, P. Thomas [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* – 2007. – Vol. 102, № 1. – P. 28-41.
272. Stamm, C. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction [Text] / C. Stamm, H.D. Kleine, B. Westphal [et al.] // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2004. – Vol. 52, № 3. – P. 152-8.

273. Štengl, M. Experimental models of spontaneous ventricular arrhythmias and of sudden cardiac death [Text] / M. Štengl // *Physiol. Res.* – 2010. – Vol. 59, № 1. – P. 25–31.
274. Su, T.P. The sigma-1 receptor as a pluripotent modulator in living systems [Текст] / T.P. Su, T.C. Su, Y. Nakamura, S.Y. Tsai // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2016. – V. 37, № 4. – P. 262-278.
275. Su, T.P. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator [Text] / T.P. Su, T. Hayashi, T. Maurice [et al.] // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2010. – Vol. 31, № 12. – P. 557-566.
276. Sun, S.Z. beta-Arrestin 2 mediates arginine vasopressin-induced IL-6 induction via the ERK(1/2)-NF-kappaB signal pathway in murine hearts [Текст] / S.Z. Sun, H. Cao, N. Yao [et al.] // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2020. – Vol. 41, № 2. – P. 198-207.
277. Tae, H.J. Chronic treatment with a broad-spectrum metalloproteinase inhibitor, doxycycline, prevents the development of spontaneous aortic lesion in a mouse model of vascular Ehler-Danlos syndrome [Text] / H.J. Tae, S. Marshall, J. Zhang [et al.] // *J. Pharmacol/ Exp. Ther.* – 2012. – Vol.343, № 1. – P. 246-251.
278. Tagashira, H. Diverse regulation of IP3 and ryanodine receptors by pentazocine through  $\sigma$ 1-receptor in cardiomyocytes [Text] / H. Tagashira, M.S. Bhuiyan, K. Fukunaga // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2013. – Vol. 305, № 8. – P. H1201-H1212.
279. Tagashira, H. Sigma1-receptor stimulation with fluvoxamine ameliorates transverse aortic constriction-induced myocardial hypertrophy and dysfunction in mice [Text] / H. Tagashira, S. Bhuiyan, N. Shioda [et al.] // *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2010. – Vol. 299, № 5. – P. H1535-H1545.
280. Tai, C. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers on cardiovascular events in patients with heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials [Text] / C. Tai, T. Gan, L. Zou [et al.] // *BMC Cardiovasc. Disord.* – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 257.

281. Takimoto, E. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy [Text] / E. Takimoto, H.C. Champion, M. Li [et al.] // *Nat. Med.* – 2005. – Vol. 11, № 2. – P. 214-22.
282. Tanaka, M. Overexpression of human copper/zinc superoxide dismutase (SOD1) suppresses ischemia-reperfusion injury and subsequent development of graft coronary artery disease in murine cardiac grafts [Text] / M. Tanaka, G.K. Mokhtari, R.D. Terry [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110, № 11 Suppl 1. – P. II200-6.
283. Tannenbaum, S. Advances in the pathophysiology and treatment of heart failure with preserved ejection fraction [Text] / S. Tannenbaum, G.T. Sayer // *Curr. Opin. Cardiol.* – 2015. – Vol. 30, № 3. – P. 250-258.
284. Tchedre, K.T. Sigma-1 receptor regulation of voltage-gated calcium channels involves a direct interaction [Текст] / K.T. Tchedre, R.Q. Huang, A. Dibas [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2008. – V. 49. – P. 4993-5002.
285. Teichholz, LE. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence of absence of asynergy [Text] / L.E. Teichholz, T. Kreulen, M.V. Herman, R. Gorlin // *Am. J. Cardiol.* – 1976. – Vol. 37, № 1. – P. 7-11.
286. Torp-Pedersen, C. Effects of metoprolol and carvedilol on cause-specific mortality and morbidity in patients with chronic heart failure – COMET [Text] / C. Torp-Pedersen, P.A. Poole-Wilson, K. Swedberg [et al.] // *Am. Heart J.* – 2005. – Vol. 149, № 2. – P. 370-376.
287. Tsutsui, H. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodeling [Text] / H. Tsutsui, S. Kinugawa, S. Matsushima // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 81, № 3. – P. 449-56.
288. Tuunanen, H. Trimetazidine, a metabolic modulator, has cardiac and extracardiac benefits in idiopathic dilated cardiomyopathy [Text] / H. Tuunanen, E. Engblom, A. Naum [et al.] // *Circulation.* – 2008. – Vol. 118. – P. 1250-1258.

289. Ulutas, Z. The protective effects of compound 21 and valsartan in isoproterenol-induced myocardial injury in rats [Text] / Z. Ulutas, N. Ermis, O. Ozhan [et al.] // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2021. – Vol. 21, № 1/ - P. 17-28.
290. Urbach, J. Antagonism in heart failure: a review of the hemodynamic studies and major clinical trials [Текст] / J. Urbach, S.R. Goldsmith // *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* – 2021. – Vol. 15. – P.1-10.
291. Ushakov, A. Regulation of myocardial extracellular matrix dynamic changes in myocardial infarction and postinfarct remodeling [Текст] / A. Ushakov, V. Ivanchenko, A. Gagarina // *Curr. Cardiol. Rev.* – 2020. – Vol. 16, № 1. – P. 11-24.
292. Ussher, J.R. Pyridine nucleotide regulation of cardiac intermediary metabolism [Text] / J.R. Ussher, J.S. Jaswal, G.D. Lopaschuk // *Circ. Res.* – 2012. – Vol. 111, № 5. – P. 628-641.
293. Vaduganathan, M. Plasma renin activity, response to aliskiren, and clinical outcomes in patients hospitalized for heart failure: the ASTRONAUT trial [Text] / M. Vaduganathan, B. Cheema, E. Cleveland [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2018. – Vol. 20, № 4. – P. 677-686.
294. van Bilsen, M. "Energenetics" of heart failure [Text] / M. van Bilsen // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2004. – Vol. 1015. – P. 238-249.
295. Van Tassell, B.W. Interleukin-1 blockade in recently decompensated systolic heart failure: results from REDHART (REcently Decompensated Heart failure Anakinra Response Trial) [Text] / B.W. Van Tassell, J. Canada, S. Carbone [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2017. – Vol. 10, № 11. – e004373.
296. Vanhoutte, D. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: a temporal and spatial window [Text] / D. Vanhoutte, M. Schellings, Y. Pinto, S. Heymans // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – Vol. 69, № 3. – P. 604-13 M-2 139]
297. Vikhert, A.M. Alcoholic cardiomyopathy and sudden cardiac death [Text] / A.M. Vikhert, V.G. Tsiplenkova, N.M. Cherpachenko // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1986. – Vol. 8, 1 Suppl. A. – P. 3A-11A.

298. Voisin, S. A three-dimensional model of the neprilysin 2 active site based on the X-ray structure of neprilysin. Identification of residues involved in substrate hydrolysis and inhibitor binding of neprilysin 2 [Text] / S. Voisin, D. Rognan, C. Gros, T. Ouimet // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 44. – P. 46172-81.
299. Wang, D. Effectiveness of atorvastatin in the treatment of asymptomatic heart failure after myocardial infarction: A clinical study [Текст] / D. Wang, L. Bai, X.R. Cui [et al.] // *Adv. Ther.* – 2020. – Vol. 37, № 11. – P. 4649-4659.
300. Watson, L.E. Baseline echocardiographic values for adult male rats [Text] / L.E. Watson, M. Sheth, R.F. Denyer, D.E. Dostal // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* – 2004. – Vol. 17, № 2. – P. 161-167.
301. Xiong, B. The benefits of sacubitril-valsartan in patients with acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis [Текст] / B. Xiong, Nie D., J. Qian [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2021. – Vol. 8, № 6. – P. 4852-4862.
302. Yan-ping H. Mitogenic effect of arginine vasopressin on adult rat cardiac fibroblast: involvement of PKC-erk1/2 pathway [Text] / H. Yan-ping, Z. Lian-you, Z. Qiang-sun [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 52, № 1. – P. 72-81.
303. Young, J.B. Mortality and morbidity reduction with Candesartan in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction: results of the CHARM low-left ventricular ejection fraction trials [Text] / J.B. Young, M.E. Dunlap, M.A. Pfeffer [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110, № 17. – P. 2618-26.
304. Yu, Y. Ginsenoside Re preserves cardiac function and ameliorates left ventricular remodeling in a rat model of myocardial infarction [Text] / Y. Yu, J. Sun, J. Liu [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2020 – Vol. 75, № 1. – P. 91-97.
305. Zhang, H. Sigma receptor activation blocks potassium channels and depresses neuroexcitability in rat intracardiac neurons [Текст] / H. Zhang, J. Cuevas // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2005. – V. 313, № 3. – P. 1387-1396.
306. Zhang, M. Beta3-adrenergic receptor activation alleviates cardiac dysfunction in hypertrophy by regulating oxidative stress [Текст] / M. Zhang, Y.

- Xu, J. Chen [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2021. – Vol. 2021. – article ID 3417242. – 13 p.
307. Zhang, X. Cellular basis of angiotensin-(1-7)-induced augmentation of left ventricular functional performance in heart failure [Text] / X. Zhang, H.J. Cheng, P. Zhou [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2017. – Vol. 236. – P. 405-12. 42.
308. Zheng, X. Effects of simvastatin on cardiac performance and expression of sarcoplasmic reticular calcium regulatory proteins in rat heart [Text] / X. Zheng, S.J. Hu // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2005. – Vol. 26, № 6. – P. 696-704.
309. Zhou, R. Protective effects of low-dose rosuvastatin on isoproterenol-induced chronic heart failure in rats by regulation of DDAH-ADMA-NO pathway [Text] / R. Zhou, P. Ma, A. Xiong [et al.] // *Cardiovasc. Ther.* – 2017. – Vol. 35, № 2. – P. e12241, 8 p.
310. Zile, M.R. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of sitaxsentan to improve impaired exercise tolerance in patients with heart failure and a preserved ejection fraction [Text] / M.R. Zile, R.C. Bourge, M.M. Redfield [et al.] // *JACC Heart Fail.* – 2014. – Vol. 2, № 2. – P. 123-30.
311. Zimmet, H. Short- and long-term outcomes of intracoronary and endogenously mobilized bone marrow stem cells in the treatment of ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized control trials [Text] / H. Zimmet, P. Porapakham, P. Porapakham [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2012. – Vol. 14, № 1. – P. 91-105.