

## ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ И ХРОНИЧЕСКОЙ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ГРЫЗУНОВ И СРЕДНИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Карпов А. А.<sup>1,3</sup>, Смирнов С. С.<sup>1,2</sup>, Шиленко Л. А.<sup>2</sup>, Плиско Г. А.<sup>3</sup>, Кротова Н. В.<sup>2</sup>, Ваулина Д. Д.<sup>1,4</sup>

### Контактная информация

Карпов Андрей Александрович,  
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»  
Минздрава России,  
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,  
Россия, 197341.  
E-mail: karpovmed@gmail.com

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

*Статья поступила в редакцию 04.03.2021  
и принята к печати 11.05.2021.*

### Резюме

Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) по распространенности занимает третье место среди всех сердечно-сосудистых заболеваний. Она по-прежнему связана с высокой внутрибольничной летальностью, а также с развитием острых и хронических осложнений. Лечение и профилактика ТЭЛА и ее осложнений требует высокотехнологичных подходов, направленных на улучшение прогноза пациентов. В связи с этим экспериментальные исследования, нацеленные на изучение патогенеза, улучшение методов диагностики и поиск новых фармакологических субстанций для профилактики и лечения ТЭЛА, являются востребованными с точки зрения клинической практики. Учитывая современные тенденции доклинических исследований, все большую распространенность приобретают экспериментальные работы на грызунах — мышах, крысах, хомяках, а также на средних лабораторных животных (кроликах). Использование этих видов животных является этически приемлемым и экономически целесообразным. Выбор конкретного вида животного и способа моделирования ТЭЛА в первую очередь определяется задачами исследования. В данной статье приводится обзор основных подходов к моделированию ТЭЛА, а также рассматриваются преимущества и недостатки каждого из методов. Отдельное внимание уделено моделированию хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (ХТЭЛГ) как одного из наиболее опасных осложнений ТЭЛА. В работе проанализированы публикации с 1978 по 2020 гг., в которых выполнялось моделирование ТЭЛА на грызунах и средних лабораторных животных.

**Ключевые слова:** кролики, крысы, мыши, тромбоземболия легочной артерии, хроническая тромбоземболическая легочная гипертензия, экспериментальная модель.

Для цитирования: Карпов А.А., Смирнов С.С., Шиленко Л.А. и др. Подходы к моделированию тромбоземболии легочной артерии и хронической тромбоземболической легочной гипертензии у грызунов и средних лабораторных животных. *Трансляционная медицина*. 2021;8(2):46-57. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-2-46-57

## APPROACHES TO MODELING PULMONARY EMBOLISM AND CHRONIC THROMBOEMBOLIC PULMONARY HYPERTENSION IN RODENTS AND MEDIUM-SIZED LABORATORY ANIMALS

Karpov A. A.<sup>1,3</sup>, Smirnov S. S.<sup>1,2</sup>, Shilenko L. A.<sup>2</sup>, Plisko G. A.<sup>3</sup>, Krotova N. V.<sup>2</sup>, Vaulina D. D.<sup>1,4</sup>

**Corresponding author:**

Karpov Andrei A.,  
Almazov National Medical Research Centre,  
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia,  
197341.  
E-mail: karpovmed@gmail.com

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup>Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

<sup>4</sup>Bechterev Institute of Human brain, Saint Petersburg, Russia

Received 04 March 2021; accepted 11 May 2021.

### Abstract

Pulmonary embolism (PE) is the third most common cardiovascular disease. It is still associated with high hospital mortality, as well as with the development of acute and chronic complications. Treatment and prevention of PE and its complications requires high-tech approaches aimed at improving the prognosis of patients. In this regard, experimental studies aimed at studying the pathogenesis, improving diagnostic methods and searching for new pharmacological substances for the prevention and treatment of PE are in demand from the point of view of clinical practice. Considering the current trends in preclinical research, experimental work on rodents — mice, rats, hamsters, as well as on medium-sized laboratory animals (rabbits) is becoming more and more common. The use of these animal species is ethically acceptable and economically viable. The choice of a specific type of animal and a method for modeling PE is primarily determined by the objectives of the study. This article provides an overview of the main approaches to modeling PE, as well as discusses the advantages and disadvantages of each method. Special attention is paid to the modeling of chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) as one of the most dangerous complications of PE. The work analyzed publications from 1978 to 2020, in which PE was simulated in rodents and medium laboratory animals.

**Key words:** chronic thromboembolic pulmonary hypertension, experimental model, mice, pulmonary embolism, rabbits, rats.

For citation: Karpov AA, Smirnov SS, Shilenko LA, et al. Approaches to modeling pulmonary embolism and chronic thromboembolic pulmonary hypertension in rodents and medium-sized laboratory animals. *Translational Medicine*. 2021;8(2):46-57. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-2-46-57

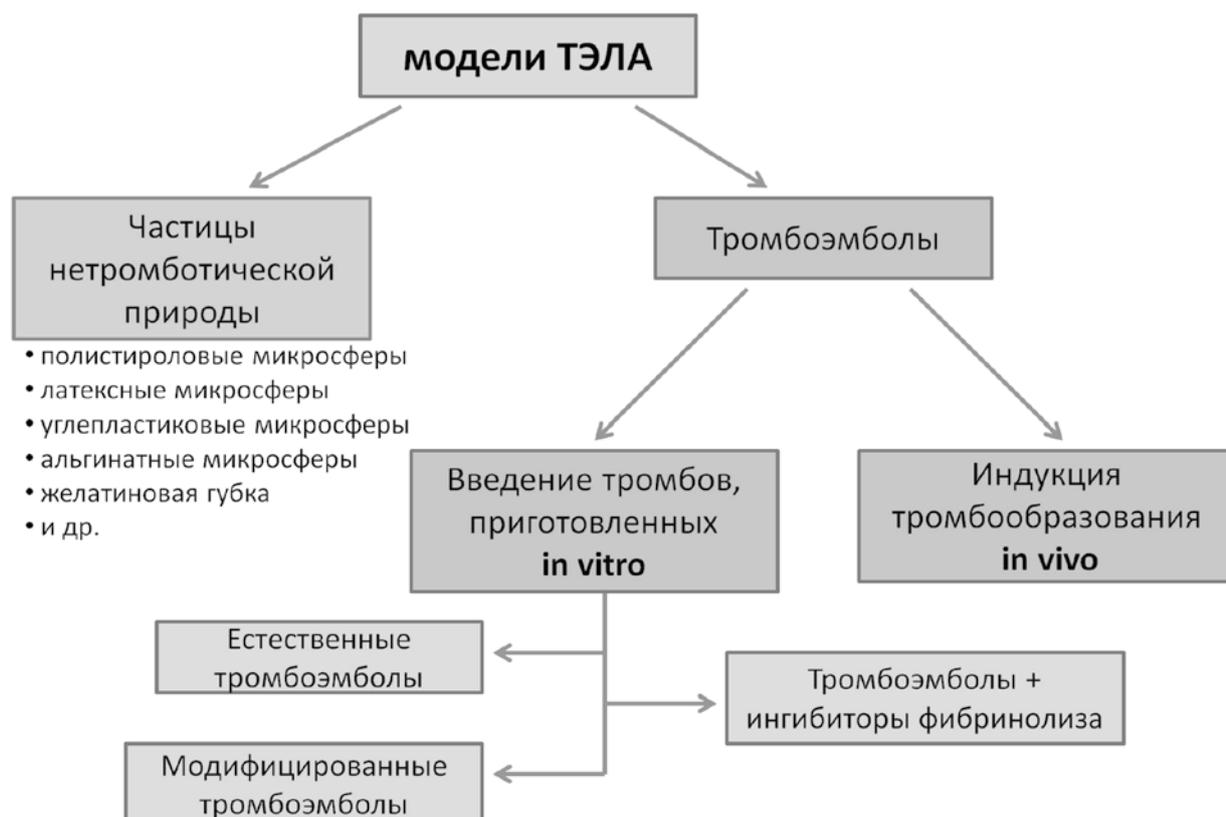
**Список сокращений:** АДФ — аденозиндифосфат, ЛЖ — левый желудочек, ПЖ — правый желудочек, СДПЖ — систолического давления в правом желудочке, ТЭЛА — тромбоэмболия легочной артерии, ХТЭЛГ — хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия, ЭхоКГ — эхокардиографическое исследование, Сор. — Copenhagen, PolyP — полифосфат, SD — Sprague-Dawley, VEGF — сосудистый эндотелиальный фактора роста.

**Введение**

Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) по распространенности занимает третье место среди всех сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Она по-прежнему связана с высокой внутрибольничной летальностью, а также с развитием острых и хронических осложнений [2]. Частота развития ТЭЛА в Российской Федерации составляет 35–40 случаев на 100 000 населения [3]. Более того, наблюдательные исследования выявили тенденцию к увеличению числа случаев ТЭЛА в год с течением времени [4]. Так, по данным Keller K. и соавторов [5] частота возникновения ТЭЛА в Германии за период с 2005 по 2015 гг. увеличилась с 85 до 109 случаев на 100 000 человек в год. Похожие данные были получе-

ны в Датском регистре, где отмечалось нарастание частоты развития ТЭЛА в период с 2004 по 2014 гг. с 45 до 83 случаев на 100 000 человек в год [6]. Эта тенденция может быть связана как с увеличением продолжительности жизни и распространенности факторов риска ТЭЛА, так и с улучшением выявляемости данной патологии. Кроме того, ТЭЛА также может сопровождаться целым рядом осложнений. Одним из наиболее грозных последствий является хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ), характеризующаяся неполным лизисом тромбоэмболов и устойчивым повышением давления в легочной артерии. Пятилетняя выживаемость больных с ХТЭЛГ, получающих только терапию пероральными антикоагулянтами, при среднем уровне давления в легочной артерии более 30 мм рт. ст. не превышает 10 % [7].

Лечение и профилактика ТЭЛА, а также ее осложнений требуют высокотехнологичных подходов, направленных на улучшение прогноза пациентов. В связи с этим экспериментальные исследования, нацеленные на изучение патогенеза, улучшение методов диагностики, а также поиск новых фармакологических субстанций для профилактики и лечения ТЭЛА и ее осложнений, являются востре-



**Рис. 1.** Подходы к моделированию тромбоэмболии легочной артерии на грызунах и средних лабораторных животных

бованными с точки зрения клинической практики. Учитывая современные тенденции доклинических исследований, все большую распространенность приобретают экспериментальные работы на грызунах — мышах, крысах, хомяках, а также на средних лабораторных животных (кроликах). Использование этих видов животных является этически приемлемым и экономически целесообразным.

В литературе описано большое количество различных моделей, используемых для воспроизведения ТЭЛА. Все имеющиеся подходы к моделированию ТЭЛА можно разделить на три основные группы (рис. 1):

- индукция тромбообразования *in vivo*;
- введение тромбов, приготовленных *in vitro*;
- введение частиц нетромботической природы.

Отдельным направлением в этой области является моделирование ХТЭЛГ. В связи со сложным патогенезом данного осложнения, а также высокой фибринолитической активностью плазмы крови у грызунов, моделирование этой патологии затруднено и на данный момент не имеет оптимального решения.

Выбор конкретного вида животного и способа моделирования ТЭЛА, в первую очередь, определяется задачами исследования. В данной статье приводится обзор основных подходов к моделированию ТЭЛА, а также рассматриваются преимущества и недостатки каждого из методов. В работе проанализированы публикации с 1978 по 2020 гг., в которых выполнялось моделирование ТЭЛА на грызунах и средних лабораторных животных.

### Моделирование ТЭЛА с помощью индукции тромбообразования *in vivo*

Моделирование ТЭЛА путем индукции образования эндогенных тромбов наиболее часто применяется для исследования антикоагулянтной [8] и антитромбоцитарной [9, 10] активности фармакологических субстанций, изучения патогенеза различных форм нарушения свертывания крови [11]. Основным видом животных, используемый для моделей этого типа — мыши [12]. Это позволяет формировать значительные по объему исследуемые группы и таким образом частично компенсировать невысокую воспроизводимость этих моделей. В единичных работах использовались крысы [13] и кролики [14].

В качестве агентов для формирования эндогенных тромбов наиболее часто используют коллаген изолированно [8, 15] или в сочетании с адреналином [11], норадреналином [9]. Доза вводимого коллагена и эпинефрина варьировалась в значительных пределах: коллаген от 12,5 мкг/кг веса

животного [16, 17] до 100 мкг/кг [18]; эпинефрин от 0,075 мкг/кг [17] до 1 мкг/кг [19].

В большинстве работ вводимая доза индукторов тромбообразования определялась из расчета целевой смертности в контрольной группе.

В работе Crikis S. и соавторов [8] для моделирования ТЭЛА у мышей использовалось изолированное внутривенное введение коллагена в дозе 0,075 мкг/г. Смертность животных в контрольной группе через час составила 53 %.

В работе Ryu K. H. и соавторов [20] моделирование ХТЭЛГ на мышах проводилось с помощью внутривенного введения коллагена (500 мкг/кг) в сочетании с адреналином (50 мкг/кг). Смертность через 15 минут после введения составила  $82,9 \pm 10,7$  %.

Кроме того, для формирования эндогенных тромбов могут быть использованы такие вещества, как аденозиндифосфат (АДФ) [10, 21], тромбин [22, 23], высокомолекулярный полифосфат [24], агонист рецепторов тромбоксана A<sub>2</sub> U46619 [17], эластаза нейтрофилов [21], арахидоновая кислота [25], изолированное применение тканевого фактора [26] и тканевой фактор в комбинации с фосфолипидами и кальцием [24].

Примером использования АДФ в качестве агента для моделирования ТЭЛА является работа Katsumata S. и соавторов [21]. В этой работе мышам внутривенно однократно вводился АДФ в дозе 28 мг/100 г. Смертность в ранние сроки после введения тромбогенного агента составила 43 %.

В работе Hsu M. F. и соавторов [25] для моделирования ТЭЛА на мышах использовали три различных протромботических агента: АДФ в дозе 40 мг/100 г, коллаген в дозе 2,5 мг/100 г или арахидоновая кислота в дозе 9 мг/100 г массы животного. При внутривенном введении каждой из этих субстанций смертность от ТЭЛА составляла 90 % в течение первых трех минут наблюдения.

Два нестандартных подхода к моделированию ТЭЛА были описаны в статье Vanno F. и соавторов [24]. В качестве протромботического агента в первом случае был использован человеческий рекомбинантный тканевой фактор, содержащий фосфолипиды и кальций, во втором — высокомолекулярный полифосфат (PolyP). PolyP — это линейный полимер неорганических фосфатов, действующий как естественная отрицательно заряженная поверхность, которая активирует свертывающую систему крови. Дозы обоих веществ были подобраны с расчетом 20 % выживаемости через 20 минут после ТЭЛА у мышей контрольной группы.

Окклюзия легочной артерии может быть достигнута не только путем индукции тромбообразо-

вания, но и с помощью хирургической окклюзии. Поскольку левое легкое крысы состоит всего из одной доли против четырех долей у правого легкого, что сопровождается значительно более низким объемом перфузии, левая легочная артерия является предпочтительной для моделирования. Этому способствует также более удобный хирургический доступ к левой легочной артерии. Однако у данной модели имеется ряд существенных недостатков: модель слабо отражает патофизиологию тромбоэмболического процесса и является необратимой. В связи с этим основной целью использования этой модели является изучение ремоделирования правого желудочка (ПЖ) после ТЭЛА [13].

### Введение тромбов, приготовленных *in vitro*

Протокол моделирования ТЭЛА с использованием тромбоцитических масс, приготовленных *in vitro*, предполагает первоначальный забор крови животного и создание на ее основе нативных или модифицированных тромбов заданного размера и количества с последующим их введением в кровеносное русло того же исследуемого животного. В некоторых работах для изготовления тромбоэмболов использовалась кровь аллогенного [27, 28] или ксеногенного [29–31] происхождения. Данный тип моделей характеризуется значимо большей управляемостью по сравнению с моделями ТЭЛА, воспроизведенными с помощью формирования эндогенных тромбов. Применение радиоактивных меток, таких как  $^{125}\text{I}$ -меченый фибрин, позволяет детально оценить распределение тромбов в кровеносном русле и их дальнейшую судьбу [30–33]. Из недостатков этого направления моделирования стоит отметить значительную трудозатратность моделирования и многократность оперативных вмешательств при использовании аутологических тромбов. Модели этого типа воспроизводятся на животных различных видов: мышах [32, 34], крысах [35, 36], хомяках [30, 37], кроликах [38–40].

Классическим примером моделирования ТЭЛА с помощью изготовленных *in vitro* тромбоэмболов является протокол моделирования, использованный в работе Tang Z. и соавторов [41]. В статье изучалось изменение экспрессии генов в легочной артерии в подострый период (7 дней) после ТЭЛА. В экспериментах использовались кролики, у которых предварительно забиралось 0,5 мл крови из краевой вены уха. В дальнейшем в стерильных условиях при комнатной температуре в течение 45 минут формировались тромбоцитические массы, из которых путем нарезания готовили эмболизирующие частицы длиной 5 мм. Сгустки крови в 10 мл физиологического раствора вводили в бедрен-

ную вену. Дополнительные 5 мл физиологического раствора использовали для промывки катетера и продвижения тромбоэмболов.

В большинстве работ этого направления для формирования тромбоэмболов заданного размера использовались трубки соответствующего диаметра, в которых происходило формирование тромбоцитической массы. Затем полученную тромбоцитическую массу нарезали по длине, придавая ей заданные характеристики готовых тромбоэмболов [42, 43].

Для ускорения образования тромбоцитических масс в условиях *in vitro* в ряде работ использовался тромбин [28, 44], тканевой фактор [43] и хлорид кальция [44, 45].

Как уже упоминалось выше, кровь грызунов обладает высокой фибринолитической активностью, что приводит к быстрому лизису экзогенно вводимых тромбов. С целью подавления фибринолитической активности крови экспериментальных животных использовалась транексамовая кислота [44, 46].

В работе Runyon M. S. и соавторов [44] исследование проводилось на двух линиях крыс: Sprague-Dawley (SD) и Copenhagen (Cop.). Создание тромбов *ex vivo* осуществлялось путем забора крови, обработки ее тромбином и хлоридом кальция с последующим инкубированием в трубках PE-200 для SD и PE-160 для Cop. С целью подавления системы фибринолиза перед введением сформированных тромбов внутривенно вводилась транексамовая кислота в дозе 60 мг/100 г массы тела. Введение тромбов осуществлялось до достижения значения систолического давления в ПЖ (СДПЖ), равного 40 мм рт. ст. В результате исследования авторы отмечали значительное увеличение СДПЖ (45–55 мм рт. ст.) сразу после введения тромбов с последующей нормализацией СДПЖ в течение 24 часов у крыс линии SD и в течение 5 дней у крыс линии Cop. Лизис тромбов у SD через 24 часа составил — 95 %, через 5 дней — 97 %; у Cop. — 70 и 87 % соответственно. Таким образом, указанная модель может быть применена для тестирования острой ТЭЛА, однако не приводит к стойкому повышению давления в легочной артерии и формированию ХТЭЛГ.

В ряде случаев используются фибриновые сгустки, изготовленные из плазмы крови [32, 33]. В работе Murciano J. C. и соавторов [35] для исследования фибринолитического агента, состоящего из адгезированного на эритроцитах тканевого активатора пламиногена, применялись фибриновые микроэмболы размером 3–5 мкм, меченные изотопом йода-125. Эти микроэмболы служили основой для дальнейшего запуска свертывающей системы

крови и формирования тромботических масс значительного размера.

В работе Guarneri L. и соавторов [31] эритроциты модифицировались с помощью хлорпромазина, обладающего антигемолитическими свойствами, и глутарового альдегида, который вызывал фиксацию эритроцитов. Эта модификация придавала клеткам большую устойчивость к лизису. Более того, авторы отмечают, что активация тромбоцитов не была задействована в патогенезе этого экспериментального процесса, что позволяет исследовать подходы к лечению ТЭЛА, не связанные с воздействием на тромбоциты.

На мышах, крысах и хомяках этот тип моделей наиболее часто используется для тестирования новых тромболитических [30, 35] и антикоагулянтных [47] субстанций. В ряде работ проводилось исследование изменений уровня паракринных факторов при ТЭЛА с целью раскрытия молекулярно-генетических основ патологических процессов, происходящих как в острый период ТЭЛА, так и в последующее время [42, 46].

В моделях на кроликах исследовали изменение генной экспрессии в легочной артерии и ткани легкого в разные периоды ТЭЛА [41, 48], оценивали изменение гемодинамики во время острой ТЭЛА [49, 50], тестировали препараты для коррекции нарушений гемодинамики [39, 51] и новые контрастные вещества для компьютерной томографии [52].

### **Введение частиц нетромботической природы**

Моделирование ТЭЛА с помощью частиц нетромботической природы, состоящих из природных или синтетических полимеров, наиболее часто выполняется на двух видах животных (крысах и кроликах), причем подходы к моделированию и цели сильно различаются между этими видами животных.

У крыс наиболее часто в качестве эмболизирующих частиц используют полистироловые микросферы [53, 54]. Стандартный диаметр микрочастиц составляет 23–26 мкм [55, 56]. Так, в работе Watts J. A. и соавторов [57] для эмболизации сосудистого русла легкого использовались полистироловые микросферы размером 25 мкм в виде 10 % суспензии ( $1,3 \times 10^6$  микросфер/мл). Микросферы вводились наркотизированным крысам-самцам линии SD массой 350–400 г в правую яремную вену в дозе  $1,8 \times 10^6$  микросфер на 100 г массы. По данным проволочной миографии через 18 часов после эмболизации было выявлено значимое снижение расслабления сосудистых колец легочной артерии в ответ на воздействие ацетилхолином у экспериментальных животных по сравнению с контролем.

Похожий протокол был использован в работе Zagorski J. и соавторов [58], где крысам-самцам линии SD массой 375–450 г вводилась суспензия полистироловых микросфер размером  $25 \pm 1$  мкм в 0,01 % Tween-20 до конечной концентрации  $13 \times 10^6$  микросфер на 1 мл. Три различные дозы микросфер ( $1,3 \times 10^6/100$  г массы,  $1,65 \times 10^6/100$  г массы и  $2,0 \times 10^6/100$  г массы) вводились в яремную вену наркотизированного животного. В работе было показано дозозависимое повышение СДПЖ как через 2 часа, так и через 18 часов после эмболизации.

Кроме полистироловых микросфер также используют латексные [59, 60], углепластиковые [61] микрочастицы.

В исследовании Riegger G. A. и соавторов [59] для моделирования ТЭЛА на крысах использовались латексные микрочастицы. Наркотизированным крысам-самцам стока Wistar массой 300–350 г через катетер, установленный в легочную артерию, вводили латексные микросферы диаметром  $25,7 \pm 5,8$  мкм до достижения среднего давления в легочной артерии 35 мм рт. ст.

В ряде работ были использованы микросферы Сефадекс (Pharmacia Biotech, Германия), представляющие собой гель-фильтрационную смолу, полученную путем поперечного сшивания декстрана эпихлоргидрином [62, 63]. В работе Palei A. C. и соавторов [62] эксперименты проводились на крысах-самцах стока Wistar (240–280 г), которым для моделирования ТЭЛА вводились микросферы Сефадекс G50 в дозе 9 мг/кг, размер эмболизирующих частиц составлял 300 мкм. Авторы статьи указывают, что в пилотных исследованиях тестировали различные дозы микросфер в диапазоне от 5 до 15 мг/кг. Выбор дозы 9 мг/кг обусловлен индукцией значительной системной артериальной гипотензии, не приводящей к летальному исходу. Через 60 минут после эмболизации выраженность снижения среднего артериального давления составила  $25,5 \pm 4,4$  мм рт. ст.

Целый ряд более сложных протоколов моделирования на основе искусственных частиц используется для воспроизведения ХТЭЛГ [54, 64, 65].

Для исследования рентгенологических и магнитно-резонансных изображений активно используются модели обструкции легочной артерии на кроликах с помощью внутрисосудистых силиконовых баллонов, устанавливаемых в просвет легочной артерии [66, 67].

Кроме того, в качестве эмболизирующих частиц у кроликов используют желатиновую губку. Размер этих эмболизирующих агентов стандартизован и составляет  $4 \times 4 \times 10$  мм или  $2 \times 4 \times 10$  мм [68–70].

В работе Zhang L. J. и соавторов [70] при тестировании метода двухэнергетической компьютерной томографии легких для диагностики ТЭЛА использовали модель эмболизации ветвей легочной артерии на кроликах с помощью желатиновой губки. Для исследования использовали новозеландских белых кроликов массой 2–3 кг. Четыре эмбола из желатиновой губки размером  $4 \times 4 \times 10$  мм или  $2 \times 4 \times 10$  мм вводили в правую бедренную вену каждому из кроликов. Через 2 часа после эмболии у 18 из 20 кроликов опытной группы выявлялись эмболы в легких. У двух оставшихся кроликов эмболизирующие частицы были обнаружены в нижней полой вене.

Основными преимуществами моделей, использующих искусственные частицы, является высокая стандартизация и повторяемость получаемого результата, простота моделирования. Однако искусственные частицы не могут в полной мере моделировать важные процессы, происходящие при тромбоэмболии: частичную или полную биодеградацию, высвобождение биологически активных веществ и т. д.

### Моделирование ХТЭЛГ

Большинство исследователей сходятся во мнении, что изолированное применение приготовленных *in vitro* нативных тромбов у здоровых мелких лабораторных грызунов не может вызвать формирование ХТЭЛГ [44, 65].

Однако в работе Zhou B. и соавторов [71] однократное внутривенное введение *in vitro* приготовленных аутологичных тромбов крысам линии SD приводило к повышению среднего давления в легочной артерии к 28 дню после моделирования. Тромботические массы перед введением обрабатывались 10 минут на водяной бане при температуре 70 °С, размер эмболизирующих частиц составлял  $1,1 \times 2$  мм.

Эффективность применения транексамовой кислоты как ингибитора фибринолиза для стабилизации экзогенно введенных тромбов и формирования ХТЭЛГ противоречива.

Коллектив Deng C. и соавторов в серии работ продемонстрировал возможность такого подхода к моделированию [72, 73]. Эксперименты проводились на крысах линии SD. Кровь забиралась из орбитальной вены с помощью трубки с внутренним диаметром 1 мм. Тромботические массы формировались при комнатной температуре в течение 24 часов. Цилиндрические аутологичные сгустки крови были обрезаны до длины 3 мм и суспендированы в физиологическом растворе, содержащем транексамовую кислоту в дозе 200 мг/кг массы тела животного. Введение суспензии выполнялось в яремную

вену со скоростью 0,2 мл/мин наркотизированному животному. Повторная инъекция выполнялась через 4 дня после первой. Анализ гемодинамики, молекулярно-генетическое и гистологическое исследование проводились через 1, 2 и 4 недели после моделирования. Отмечалось значимое повышение уровня среднего давления в легочной артерии и легочного сосудистого сопротивления по сравнению со здоровыми животными и значимое нарастание этих показателей с течением времени.

В работе Li C. Y. и соавторов [74] также использовалось сочетание экзогенно приготовленных аутологичных тромбов с транексамовой кислотой. В ходе моделирования крысам выполнялись 3 внутривенные инъекции аутологичных тромбоэмболов с интервалом в 2 недели. Каждая из инъекций включала введение 15 эмболизирующих частиц размером  $3 \times 1$  мм, суспензированных в 2 мл физиологического раствора, со скоростью введения 0,5 мл/мин. В течение всего периода моделирования внутрибрюшинно вводилась транексамовая кислота в дозе 12,5 мг/кг в сутки. По данным авторов, через 4 недели после моделирования отмечалось значимое повышение СДПЖ по данным катетеризации сердца, а также увеличение соотношения площади ПЖ к площади левого желудочка (ЛЖ) согласно гистологическому исследованию.

Похожий протокол бы использован в ранее упомянутой работе Runyon M. S. и соавторов [44], где приготовленные *in vitro* тромбоэмболы в сочетании с транексамовой кислотой не дали стойкого повышения СДПЖ на двух линиях крыс: SD и Cop., что было связано с быстрым лизисом тромбоэмболов.

В связи с выраженной фибринолитической способностью плазмы грызунов одним из наиболее частых способов моделирования ХТЭЛГ является применение искусственных эмболизирующих частиц.

В работе Liu W. и соавторов [53] моделирование ХТЭЛГ производилось с помощью внутривенного введения полистироловых микросфер размером  $25 \pm 1$  мкм в дозе  $1,3 \times 10^6/100$  г веса. В последующих точках наблюдения (3 дня, 1-, 2-, 4-, 8-, 12 недель) регистрировалось последовательное нарастание среднего давления в легочной артерии, относительной толщины меди в дистальных ветвях легочной артерии, выраженности гипертрофии ПЖ.

В работе Arias-Loza P. A. и соавторов [54] использовались эмболизирующие микросферы сложной структуры: на полистироловые микросферы диаметром 45 мкм наносилось фибрин-коллагеновое покрытие. Полученные микросферы в дозе 1000 микросфер/г веса животного и тромбин в дозе 0,0027 Ед/мкл вводили в хвостовую вену наркоти-

зированным крысам-самцам стока Wistar. С интервалом в неделю введение эмболизирующей смеси повторялось еще два раза. При этом во время последнего введения доза микросфер была уменьшена до 750 микросфер/г веса. Эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) проводилось через 7 дней после последнего введения микросфер, исследование гемодинамики в правых камерах сердца и гистологическое исследование выполнялось через 9 дней. Авторы отмечали значимое повышение СДПЖ по сравнению с контролем, увеличение уровня мозгового натрийуретического пептида, снижение систолической функции ПЖ по данным ЭхоКГ. Стоит отметить, что представленная модель скорее отражает легочную гипертензию на фоне подострой стадии ТЭЛА. Для окончательного формирования ХТЭЛГ требуется больший срок наблюдения.

Подтверждением теории нарушения ангиогенеза при формировании ХТЭЛГ является работа Neto-Neves E. M. и соавторов [64]. В этом исследовании моделирование производилось на крысах-самцах линии SD массой 400–420 г. Было показано, что совместное однократное внутривенное введение полистироловых микросфер размером 85 мкм в дозе 97 000/100 г веса и ингибитора тирозинкиназы SU5416 (Tocris Bioscience UK), который способен подавлять пострецепторный сигналинг сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), приводило к стабильному повышению систолического давления в ПЖ в течение 6 недель после эмболизации. Обращает на себя внимание тот факт, что изолированное применение микросфер в указанной дозе не приводило к значимому повышению СДПЖ.

В работе Frey M. K. и соавторов [75] указан возможный подход к моделированию ТЭЛА с дальнейшим развитием ХТЭЛГ. В этой работе изучалась роль спленэктомии в развитии ХТЭЛГ. В ходе эксперимента наркотизированным мышам выполнялась спленэктомия, через 1 месяц после этого на нижнюю полую вену ниже левой почечной вены накладывалась лигатура, вызывающая сужение сосуда (резидуальный кровоток соответствовал диаметру нити пролена 5–0). К 28 дню тромбы, образовавшиеся ниже лигатуры, в группе без выполнения спленэктомии почти полностью рассосались, в то время как лизис тромба у животных со спленэктомией было значительно отсрочен. Авторы указывают, что увеличение объема тромба после спленэктомии связано с активацией тромбоцитов, а последующая задержка разрешения тромба обусловлена ингибированием реканализации тромба. Таким образом, хотя

в этой работе напрямую не производилось моделирование ТЭЛА, в ней раскрыт возможный подход для разработки новых моделей, отражающий один из частных клинических вариантов формирования ХТЭЛГ.

В ранее проведенном нами исследовании [65] был предложен метод моделирования ХТЭЛГ с помощью частично биodeградирующих микросфер из альгината натрия. Альгинат натрия — естественный биополимер из бурых водорослей, который обладает высокой биосовместимостью. В работах других авторов этот полимер активно применяли для инкапсулирования клеток различного происхождения, в том числе бета-клеток островков Лангерганса [76] и стволовых клеток [77, 78] с последующей их имплантацией в организм.

В ходе исследования было продемонстрировано, что через 6 недель после последнего введения микросфер из альгината натрия отмечалось снижение толерантности к физической нагрузке по данным тредмил-теста, значимое повышение СДПЖ и уровня эндотелина-1, расширение легочного ствола и выносящего тракта ПЖ по данным ЭхоКГ, ремоделирование ветвей легочной артерии по данным гистологического исследования. При применении аутологических тромбов значимого через 6 недель наблюдения изменений в оцениваемых показателях выявлено не было.

Благодаря частичной и управляемой биodeградации микросфер, высокой биосовместимости альгинат натрия является перспективным материалом для изготовления эмболизирующих частиц при моделировании ХТЭЛГ. Дополнительным преимуществом использования микросфер из альгината натрия является возможность заключения в них тромботической массы с эффектом замедленного высвобождения биологически активных веществ, секретлируемых тромбоцитами (серотонин, бета-тромбоглобулин, тромбоспондин, ионы кальция и др.), и продуктов деградации фибрина, что позволяет дополнительно повысить соответствие патогенеза с моделируемой патологией [79].

В одном из исследований перевязка левой легочной артерии была использована в качестве подхода к моделированию ХТЭЛГ [80]. Авторами статьи отмечалось стабильное повышение СДПЖ через 2 и 5 недель после наложения лигатуры. Однако стоит указать, что данный подход к моделированию представляется излишне механистичным и отражает только редукцию сосудистого русла как одно из звеньев в патогенезе ХТЭЛГ, не учитывая при этом молекулярные механизмы вазоконстрикции, опосредованные через эндотелиальную дисфункцию и асептическое воспаление.

Стоит обратить внимание, что в целом ряде работ для моделирования ХТЭЛГ использовался подход многократного введения эмболизирующих частиц, что увеличивало суммарный объем эмболизированных сосудов и позволяло снизить смертность [46, 54, 74]

С этой же целью в работе Li C. Y. и соавторов [74] использовалась низкая скорость введения эмболизирующих частиц (4 минуты) для предотвращения развития острой ПЖ недостаточности.

### Заключение

На основе представленного в статье анализа публикаций, описывающих моделирование ТЭЛА, можно сделать ряд основных выводов. В первую очередь следует отметить, что не существует единого оптимального способа моделирования ТЭЛА и ХТЭЛГ. Выбор конкретной модели и вида животных определяется, исходя из задач предполагаемого исследования. Так, например, для тестирования антикоагулянтов, антиагрегантов и фибринолитических препаратов наиболее оптимально использовать модели с применением тромбов, приготовленных *in vitro* на крысах, или модели ТЭЛА с помощью формирования эндогенных тромбов на мышах. Применение искусственных частиц в этом случае невозможно, а использование кроликов в большинстве подобных исследований не отвечает соображениям гуманности и экономической целесообразности. С другой стороны, для тестирования новых рентгенологических и магнитно-резонансных технологий в диагностике ТЭЛА наиболее актуально использовать кроликов, применяя при этом эмболизацию сосудистого русла искусственными частицами или раздувая баллон в просвете заданного сосуда.

Моделирование ХТЭЛГ является, по сути, отдельным направлением в экспериментальном моделировании и характеризуется особой сложностью из-за недостаточно точно определенного патогенеза заболевания и значительной фибринолитической способностью плазмы у грызунов. Модели, используемые для воспроизведения ХТЭЛГ, должны характеризоваться стойким повышением давления в легочной артерии и стабильной редукцией сосудистого русла за счет эмболов. Срок наблюдения в большинстве проанализированных публикаций был более 4 недель, что условно соответствует 3 месяцам наблюдения у человека. Важными критериями, подтверждающими успешность моделирования данной патологии, является стойкое нарастание легочного сосудистого сопротивления, а также гипертрофические и фиброзные изменения сосудов малого круга кровообращения и ПЖ по данным гистологического исследования.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена в рамках государственного задания № 056-00109-21-01.

### Список литературы / References

1. Raskob GE, Angchaisuksiri P, Blanco AN, et al. Thrombosis: a major contributor to global disease burden. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(11):2363–2371. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304488.
2. Jimenez D, de Miguel-Diez J, Guijarro R, et al. Trends in the management and outcomes of acute pulmonary embolism: analysis from the RIETE Registry. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(2):162–170. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.10.060.
3. Nikulina NN, Terekhovskaya YuV. Epidemiology of pulmonary embolism in today's context: analysis of incidence, mortality and problems of their study. *Russian Journal of Cardiology.* 2019;24(6):103–108. DOI: 10.15829/1560-4071-2019-6-103-108. In Russian [Никулина Н.Н., Тереховская Ю.В. Эпидемиология тромбоэмболии легочной артерии в современном мире: анализ заболеваемости, смертности и проблем их изучения. *Российский кардиологический журнал.* 2019;24(6):103–108. DOI: 10.15829/1560-4071-2019-6-103-108].
4. Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, et al. 2019 ESC guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J.* 2020;41(4):543–603. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz405.
5. Keller K, Hobohm L, Ebner M, et al. Trends in thrombolytic treatment and outcomes of acute pulmonary embolism in Germany. *Eur Heart J.* 2020;41(4):522–529. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz236.
6. Lehnert P, Lange T, Moller CH, et al. Acute pulmonary embolism in a national Danish cohort: increasing incidence and decreasing mortality. *Thromb Haemost.* 2018;118(3):539–546. DOI: 10.1160/TH17-08-0531.
7. Riedel M, Stanek V, Widimsky J, et al. Longterm follow-up of patients with pulmonary thromboembolism. Late prognosis and evolution of hemodynamic and respiratory data. *Chest.* 1982;81(2):151–158. DOI: 10.1378/chest.81.2.151.
8. Crikis S, Zhang XM, Dezfouli S, et al. Anti-inflammatory and anticoagulant effects of transgenic expression of human thrombomodulin in mice. *Am J Transplant.* 2010;10(2):242–250. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02939.x.
9. Frattani FS, Coriolano EO, Lima LM, et al. Oral antithrombotic effects of acylhydrazone derivatives. *J Atheroscler Thromb.* 2013;20(3):287–295. DOI: 10.5551/jat.14886.
10. Teng CM, Wu CC, Ko FN, et al. YC-1, a nitric oxide-independent activator of soluble guanylate cyclase, inhibits platelet-rich thrombosis in mice. *Eur J Pharmacol.* 1997;320(2–3):161–166. DOI: 10.1016/S0014-2999(96)00911-9.
11. Fidler TP, Middleton EA, Rowley JW, et al. Glucose transporter 3 potentiates degranulation and is

- required for platelet activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37(9):1628–1639. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309184.
12. Huang S-W, Kuo H-L, Hsu M-T, et al. A novel thromboxane receptor antagonist, nstpbp5185, inhibits platelet aggregation and thrombus formation in animal models. *Thromb haemost.* 2016;116(2):285–299. DOI: 10.1160/TH15-12-0993.
13. Fukumitsu M, Kawada T, Shimizu S, et al. Effects of proximal pulmonary artery occlusion on pulsatile right ventricular afterload in rats. *Circulation J.* 2016;80(9):2010–2018. DOI: 10.1253/circj.CJ-16-0349.
14. Paul W, Gresele P, Momi S, et al. The effect of defibrotide on thromboembolism in the pulmonary vasculature of mice and rabbits and in the cerebral vasculature of rabbits. *Br J Pharmacol.* 1993;110(4):1565–1571.
15. Hayashi H, Kyushiki H, Nagano K, et al. Anopheline anti-platelet protein from a malaria vector mosquito has anti-thrombotic effects in vivo without compromising hemostasis. *Thromb Res.* 2012;129(2):169–175. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.09.015.
16. Momi S, Impagnatiello F, Guzzetta M, et al. NCX 6560, a nitric oxide-releasing derivative of atorvastatin, inhibits cholesterol biosynthesis and shows anti-inflammatory and anti-thrombotic properties. *Eur J Pharmacol.* 2007;570(1–3):115–124. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.05.014.
17. Rossiello MR, Momi S, Caracchini R, et al. A novel nitric oxide-releasing statin derivative exerts an antiplatelet/antithrombotic activity and inhibits tissue factor expression. *J thromb haemost.* 2005;3(11):2554–2562. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01605.x.
18. Maurice P, Pires V, Amant C, et al. Antithrombotic effect of the type III collagen-related octapeptide (KOGEOGPK) in the mouse. *Vascul Pharmacol.* 2006;44(1):42–49. DOI: 10.1016/j.vph.2005.09.006.
19. Mekhfi H, Belmekki F, Ziyat A, et al. Antithrombotic activity of argan oil: an in vivo experimental study. *Nutrition.* 2012;28(9):937–941. DOI: 10.1016/j.nut.2011.11.032.
20. Ryu KH, Han HY, Lee SY, et al. Ginkgo biloba extract enhances antiplatelet and antithrombotic effects of cilostazol without prolongation of bleeding time. *Thromb Res.* 2009;124(3):328–334. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.02.010.
21. Katsumata S, Nagashima M, Kato K, et al. Changes in coagulation-fibrinolysis marker and neutrophil elastase following the use of tourniquet during total knee arthroplasty and the influence of neutrophil elastase on thromboembolism. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2005;49(4):510–516. DOI: 10.1111/j.1399-6576.2005.00621.x.
22. Sathler PC, Lourenco AL, Rodrigues CR, et al. In vitro and in vivo analysis of the antithrombotic and toxicological profile of new antiplatelets N-acylhydrazone derivatives and development of nanosystems: determination of novel NAH derivatives antiplatelet and nanotechnological approach. *Thrombosis Res.* 2014;134(2):376–383. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.05.009.
23. Wang L, Li L, Sun Y, et al. In vitro and in vivo evaluation of chitosan graft glyceryl monooleate as peroral delivery carrier of enoxaparin. *Int J Pharm.* 2014;471(1–2):391–399. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.05.050.
24. Banno F, Kita T, Fernandez JA, et al. Exacerbated venous thromboembolism in mice carrying a protein S K196E mutation. *Blood.* 2015;126(19):2247–2253. DOI: 10.1182/blood-2015-06-653162.
25. Hsu MF, Young JH, Wang JP, et al. Effect of hsiensho-t'sao (*Agrimonia pilosa*) on experimental thrombosis in mice. *Am J Chin Med.* 1987;15(1–2):43–51. DOI: 10.1142/S0192415X87000060.
26. Zhong C, Zhang L, Chen L, et al. Coagulation factor XI vaccination: an alternative strategy to prevent thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2017;15(1):122–130. DOI: 10.1111/jth.13561.
27. Sullivan DM, Watts JA, Kline JA. Biventricular cardiac dysfunction after acute massive pulmonary embolism in the rat. *J Appl Physiol.* 2001;90(5):1648–1656. DOI: 10.1152/jappl.2001.90.5.1648.
28. Li S-q, Qi H-w, Wu C-g, et al. Comparative proteomic study of acute pulmonary embolism in a rat model. *Proteomics.* 2007;7(13):2287–2299. DOI: 10.1002/pmic.200500665.
29. Ding B-S, Zhou Y-J, Chen X-Y, et al. Lung endothelium targeting for pulmonary embolism thrombolysis. *Circulation.* 2003;108(23):2892–2898. DOI: 10.1161/01.CIR.0000103685.61137.3D.
30. Wan H, Liu Z, Xia X, et al. A recombinant antibody-targeted plasminogen activator with high affinity for activated platelets increases thrombolytic potency in vitro and in vivo. *Thromb res.* 2000;97(3):133–141. DOI: 10.1016/s0049-3848(99)00142-5.
31. Guarneri L, Molinari A, Casacci F, et al. A new model of pulmonary microembolism in the mouse. *J Pharmacol Methods.* 1988;20(2):161–167. DOI: 10.1016/0160-5402(88)90076-9.
32. Carmeliet P, Stassen JM, Van Vlaenderen I, et al. Adenovirus-mediated transfer of tissue-type plasminogen activator augments thrombolysis in tissue-type plasminogen activator-deficient and plasminogen activator inhibitor-1-overexpressing mice. *Blood.* 1997;90(4):1527–1534.
33. Lu HR, Lijnen HR, Stassen JM, et al. Comparative thrombolytic properties of bolus injections and continuous infusions of a chimeric (t-PA/u-PA) plasminogen activator in a hamster pulmonary embolism model. *Blood.* 1991;78(1):125–131.
34. Singh S, Houg A, Reed GL. Releasing the brakes on the fibrinolytic system in pulmonary emboli: unique effects of plasminogen activation and  $\alpha$ 2-antiplasmin inactivation. *Circulation.* 2017;135(11):1011–1020. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024421.
35. Murciano J-C, Medinilla S, Eslin D, et al. Prophylactic fibrinolysis through selective dissolution of nascent clots by tPA-carrying erythrocytes. *Nat Biotechnol.* 2003;21(8):891–896. DOI: 10.1038/nbt846.
36. Hu W, Narasaki R, Nishimura N, et al. SMTP (*Stachybotrys microspora* triprenyl phenol) enhances clot clearance in a pulmonary embolism model in rats. *Thromb J.* 2012;10(1):2. DOI: 10.1186/1477-9560-10-2.
37. Dewerchin M, Lijnen HR, Stassen JM, et al. Effect of chemical conjugation of recombinant single-chain urokinase-type plasminogen activator with monoclonal antiplatelet antibodies on platelet aggregation and on plasma clot lysis in vitro and in vivo. *Blood.* 1991;78(4):1005–1018.
38. Lin X, Liang X-x, Tang J-j, et al. The effect of the fibrinolytic enzyme FIIa from *Agkistrodon acutus* venom on acute pulmonary thromboembolism. *Acta Pharmacol Sin.* 2011;32(2):239–244. DOI: 10.1038/aps.2010.193.

39. Zhang Z, Meng Z, Wang Y. Correlations of inhaled NO with the cTnI levels and the plasma clotting factor in rabbits with acute massive pulmonary embolism. *Acta Cir Bras.* 2018;33(8):664–672. DOI: 10.1590/s0102-865020180080000002.
40. Evlakhov VI, Poyassov IZ, Ovsyannikov VI. Pulmonary microcirculation in experimental model of pulmonary thromboembolism under conditions of  $\alpha$ -adrenoceptor blockade. *Bull Exp Biol Med.* 2019;166(3):313–316. DOI: 10.1007/s10517-019-04340-3.
41. Tang Z, Wang X, Huang J, et al. Gene expression profiling of pulmonary artery in a rabbit model of pulmonary thromboembolism. *PloS One.* 2016;11(10):e0164530. DOI: 10.1371/journal.pone.0164530.
42. Li S-q, Yun J, Xue F-b, et al. Comparative proteome analysis of serum from acute pulmonary embolism rat model for biomarker discovery. *J Proteome Res.* 2007;6(1):150–159. DOI: 10.1021/pr0603102.
43. Witt W, Baldus B, Bringmann P, et al. Thrombolytic properties of *Desmodus rotundus* (vampire bat) salivary plasminogen activator in experimental pulmonary embolism in rats. *Blood.* 1992;79(5):1213–1217.
44. Runyon MS, Gellar MA, Sanapareddy N, et al. Development and comparison of a minimally-invasive model of autologous clot pulmonary embolism in Sprague-Dawley and Copenhagen rats. *Thromb J.* 2010;8:3. DOI: 10.1186/1477-9560-8-3.
45. Chun C, Yang W, Xueding C, et al. Resveratrol downregulates acute pulmonary thromboembolism-induced pulmonary artery hypertension via p38 mitogen-activated protein kinase and monocyte chemoattractant protein-1 signaling in rats. *Life Sci.* 2012;90(19–20):721–727. DOI: 10.1016/j.lfs.2012.03.008.
46. Deng C, Wu D, Yang M, et al. Expression of tissue factor and forkhead box transcription factor O-1 in a rat model for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J Thromb Thrombolysis.* 2016;42(4):520–528. DOI: 10.1007/s11239-016-1413-9.
47. Li XK, Lijnen HR, Nelles L, et al. Biochemical and biologic properties of rt-PA del (K296-G302), a recombinant human tissue-type plasminogen activator deletion mutant resistant to plasminogen activator inhibitor-1. *Blood.* 1992;79(2):417–429.
48. Zhang J-X, Chen Y-L, Zhou Y-L, et al. Expression of tissue factor in rabbit pulmonary artery in an acute pulmonary embolism model. *World J Emerg Med.* 2014;5(2):144–147. DOI: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2014.02.012.
49. Evlakhov VI, Poyassov IZ, Shaidakov EV. Peculiarities of blood flow changes in venae cavae during experimental pulmonary embolism. *Bull Exp Biol Med.* 2016;161(6):759–762. DOI: 10.1007/s10517-016-3503-2.
50. Bouchacourt JP, Riva J, Grignola JC. Pulmonary hypertension attenuates the dynamic preload indicators increase during experimental hypovolemia. *BMC Anesthesiol.* 2017;17(1):35. DOI: 10.1186/s12871-017-0329-z.
51. Yu D, Wang Y, Yu Y, et al. Acute beneficial effects of sodium nitroprusside in a rabbit model of massive pulmonary embolism associated with circulatory shock. *Am J Pathol.* 2018;188(8):1768–1778. DOI: 10.1016/j.ajpath.2018.04.014.
52. Burke SJ, Annapragada A, Hoffman EA, et al. Imaging of pulmonary embolism and t-PA therapy effects using MDCT and liposomal iohexol blood pool agent: preliminary results in a rabbit model. *Acad radiol.* 2007;14(3):355–362. DOI: 10.1016/j.acra.2006.12.014.
53. Liu W, Zhang Y, Lu L, et al. Expression and correlation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) with pulmonary artery remodeling and right ventricular hypertrophy in experimental pulmonary embolism. *Med Sci Monit.* 2017;23:2083–2088. DOI: 10.12659/msm.900354.
54. Arias-Loza P-A, Jung P, Abeßer M, et al. Development and characterization of an inducible rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Hypertension.* 2016;67(5):1000–1005. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07247.
55. Zagorski J, Debelak J, Gellar M, et al. Chemokines accumulate in the lungs of rats with severe pulmonary embolism induced by polystyrene microspheres. *J Immunol.* 2003;171(10):5529–5536. DOI: 10.4049/jimmunol.171.10.5529
56. Zagorski J, Gellar MA, Obratsova M, et al. Inhibition of CINC-1 decreases right ventricular damage caused by experimental pulmonary embolism in rats. *J Immunol.* 2007;179(11):7820–7826. DOI: 10.4049/jimmunol.179.11.7820.
57. Watts JA, Marchick MR, Gellar MA, et al. Up-regulation of arginase II contributes to pulmonary vascular endothelial cell dysfunction during experimental pulmonary embolism. *Pulm Pharmacol Ther.* 2011;24(4):407–413. DOI: 10.1016/j.pupt.2011.01.009.
58. Zagorski J, Marchick MR, Kline JA. Rapid clearance of circulating haptoglobin from plasma during acute pulmonary embolism in rats results in HMOX1 up-regulation in peripheral blood leukocytes. *J Thromb Haemost.* 2010;8(2):389–396. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03704.x.
59. Riegger GA, Hoferer P. A new experimental model for measurement of pulmonary arterial haemodynamic variables in conscious rats before and after pulmonary embolism and during general anaesthesia. *Cardiovasc Res.* 1990;24(4):340–344. DOI: 10.1093/cvr/24.4.340.
60. Courtney DM, Watts JA, Kline JA. End tidal CO<sub>2</sub> is reduced during hypotension and cardiac arrest in a rat model of massive pulmonary embolism. *Resuscitation.* 2002;53(1):83–91. DOI: 10.1016/s0300-9572(01)00504-4.
61. Cuenoud HF, Joris I, Majno G. Ultrastructure of the myocardium after pulmonary embolism. A study in the rat. *Am J Pathol.* 1978;92(2):421–458.
62. Palei ACT, Zaneti RAG, Fortuna GM, et al. Hemodynamic benefits of matrix metalloproteinase-9 inhibition by doxycycline during experimental acute pulmonary embolism. *Angiology.* 2005;56(5):611–617. DOI: 10.1177/000331970505600513.
63. Souza-Costa DC, Figueiredo-Lopes L, Alves-Filho JC, et al. Protective effects of atorvastatin in rat models of acute pulmonary embolism: involvement of matrix metalloproteinase-9. *Crit Care Med.* 2007;35(1):239–245. DOI: 10.1097/01.CCM.0000251638.67104.C3.
64. Neto-Neves EM, Brown MB, Zaretskaia MV, et al. Chronic embolic pulmonary hypertension caused by pulmonary embolism and vascular endothelial growth factor inhibition. *Am J Pathol.* 2017;187(4):700–712. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.12.004.
65. Karpov AA, Anikin NA, Cherepanov DE, et al. Model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension in rats, caused by repeated intravenous administration of biodegradable microspheres from sodium alginate. Regional blood circulation

- and microcirculation. 2019;18(1): 86–95. DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-1-86-95. In Russian [Карпов А.А., Аникин Н.А., Черепанов Д.Е. и др. Модель хронической тромбоэмболической легочной гипертензии у крыс, вызванная повторным внутривенным введением биodeградируемых микросфер из альгината натрия. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2019;18(1):86–95. DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-1-86-95].
66. Mata JF, Bozlar U, Mugler 3<sup>rd</sup> JP, et al. Time-resolved and high-resolution MRA in a rabbit model of pulmonary embolism at 7 T: preliminary results. *Magn Reson Imaging*. 2010;28(1):139–145. DOI: 10.1016/j.mri.2009.06.005.
67. Keilholz SD, Bozlar U, Fujiwara N, et al. MR diagnosis of a pulmonary embolism: comparison of P792 and Gd-DOTA for first-pass perfusion MRI and contrast-enhanced 3D MRA in a rabbit model. *Korean J Radiol*. 2009;10(5):447–454. DOI: 10.3348/kjr.2009.10.5.447.
68. Chai X, Zhang L-J, Yeh BM, et al. Acute and subacute dual energy CT findings of pulmonary embolism in rabbits: correlation with histopathology. *Br J Radiol*. 2012;85(1013):613–622. DOI: 10.1259/bjr/67661352.
69. Zhang LJ, Wang ZJ, Lu L, et al. Feasibility of gadolinium-enhanced dual energy CT pulmonary angiography: a pilot study in rabbits. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2011;27(7):1069–1080. DOI: 10.1007/s10554-010-9755-4.
70. Zhang LJ, Chai X, Wu SY, Zhao YE, Hu XB, Hu YX, et al. Detection of pulmonary embolism by dual energy CT: correlation with perfusion scintigraphy and histopathological findings in rabbits. *European radiology*. 2009;19(12):2844–2854. DOI: 10.1007/s00330-009-1518-z.
71. Zhou B, Sun G, Mei F, et al. The effects of low-molecular-weight heparin on lung and pulmonary artery injuries in acute pulmonary embolism rat model via platelet-derived growth factor- $\beta$ . *Saudi Pharm J*. 2017;25(4):564–569. DOI: 10.1016/j.jsps.2017.04.024.
72. Deng C, Zhong Z, Wu D, et al. Role of FoxO1 and apoptosis in pulmonary vascular remodeling in a rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Sci Rep*. 2017;7(1):2270. DOI: 10.1038/s41598-017-02007-5.
73. Deng C, Wu D, Yang M, et al. The role of tissue factor and autophagy in pulmonary vascular remodeling in a rat model for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Respir Res*. 2016;17(1):65. DOI: 10.1186/s12931-016-0383-y.
74. Li C-y, Deng W, Liao X-q, et al. The effects and mechanism of ginsenoside Rg1 on myocardial remodeling in an animal model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur J Med Res*. 2013;18(1):16. DOI: 10.1186/2047-783X-18-16.
75. Frey MK, Alias S, Winter MP, et al. Splenectomy is modifying the vascular remodeling of thrombosis. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000772. DOI: 10.1161/JAHA.113.000772.
76. Alagpulinsa DA, Cao JLL, Driscoll RK, et al. Alginate-microencapsulation of human stem cell-derived  $\beta$  cells with CXCL12 prolongs their survival and function in immunocompetent mice without systemic immunosuppression. *Am J Transplant*. 2019;19(7):1930–1940. DOI: 10.1111/ajt.15308.
77. Karpov AA, Puzanov MV, Ivkin DYU, et al. Non-inferiority of microencapsulated mesenchymal stem cells to free cells in cardiac repair after myocardial infarction: A rationale for using paracrine factor(s) instead of cells. *Int J Exp Pathol*. 2019;100(2):102–113. DOI: 10.1111/iep.12312.
78. Levit RD, Landazuri N, Phelps EA, et al. Cellular encapsulation enhances cardiac repair. *J Am Heart Assoc*. 2013;2(5):e000367. DOI: 10.1161/JAHA.113.000367.
79. Karpov AA, Lomakina AM, Cherepanov DE, et al. A method for modeling chronic thromboembolic pulmonary hypertension. Patent on the application #2018119575, 28.05.2018. In Russian [Карпов А.А., Ломакина А.М., Черепанов Д.Е. и др. Способ моделирования хронической тромбоэмболической легочной гипертензии. Патент по заявке № 2018119575 от 28.05.2018 г.].
80. Yun X, Chen Y, Yang K, et al. Upregulation of canonical transient receptor potential channel in the pulmonary arterial smooth muscle of a chronic thromboembolic pulmonary hypertension rat model. *Hypertens Res*. 2015;38(12):821–828. DOI: 10.1038/hr.2015.80.

#### Информация об авторах:

Карпов Андрей Александрович, к.м.н., заведующий НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, доцент кафедры патологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, научный сотрудник Центра экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России;

Смирнов Сергей Сергеевич, лаборант-исследователь НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, клинический ординатор кафедры травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Шиленко Леонид Алексеевич, студент ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Плиско Григорий Алексеевич, младший научный сотрудник Центра экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России;

Кротова Наталья Владиславовна, студент ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Ваулина Дария Дмитриевна, младший научный сотрудник НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, младший научный сотрудник ИМЧ РАН.

#### Author information:

Karpov Andrei A., PhD, Head of Laboratory of Pulmonary Vascular Disease, Almazov National Medical Research Centre; Associate Professor of the Department of Pathology of Almazov National Medical Research Centre; Researcher, Center for Experimental Pharmacology Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University;

Smirnov Sergey S., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Pulmonary Vascular Disease, Almazov National Medical Research Centre; Clinical Resident, Department of Traumatology and Orthopedics, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Shilenko Leonid A., Student, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Plisko Grigory A., Junior Researcher, Center for Experimental Pharmacology Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University;

Krotova Natalia V., Student, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Vaulina Daria D., Junior Researcher, Laboratory of Pulmonary Vascular Disease, Almazov National Medical Research Centre; Junior Researcher, Bechterev Institute of Human brain.