

Экспериментальные модели рестриктивной кардиомиопатии

Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова 2
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6-8
e-mail: galagoudza@mail.ru

Реферат

Рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) характеризуется выраженной изолированной диастолической дисфункцией желудочков сердца в результате снижения способности миокарда к расслаблению. В эксперименте описан ряд моделей РКМП, включая приобретенные и генетически обусловленные формы РКМП у грызунов, а также модели, воспроизводимые на крупных животных. Приобретенная РКМП формируется при перегрузке миокарда экзогенным железом, пострadiационном фиброэластозе эндокарда, эозинофильном миокардите, а также склеродермии и AL-амилоидозе. Генетические модели РКМП воспроизводят клинические ситуации, ассоциированные с генетическими дефектами сократительных и структурных белков миокарда, а также наследственных форм гемохроматоза и амилоидоза. Новым направлением в моделировании РКМП является создание модели заболевания у плодовых мушек. Основными требованиями к экспериментальной модели РКМП являются: 1) резко выраженное возрастание конечно-диастолического давления в левом желудочке в ответ на нагрузку объемом; 2) повышенная жесткость стенки желудочков при исследовании биомеханики миокарда *in vitro*; 3) увеличение обоих предсердий; 4) отсутствие признаков дилатации левого желудочка и выраженной гипертрофии миокарда.

Ключевые слова: рестриктивная кардиомиопатия, экспериментальные модели, грызуны, генетические модели, диастолическая дисфункция, жесткость миокарда.

Введение

Понятие «рестриктивная кардиомиопатия» (РКМП) объединяет целый ряд заболеваний различной природы, общим проявлением которых является значительное повышение конечно-диастолического давления в желудочках сердца при сниженном или нормальном объеме их наполнения [25]. При этом систолическая функция желудочков, как правило, не нарушена. Характерным анатомическим признаком РКМП является уменьшение диастолического объема полостей желудочков, формирующееся вследствие нарушенного диастолического расслабления и/или умеренного увеличения толщины их стенок при нормальных внешних размерах сердца [29]. Как следствие, отмечается также дилатация обоих предсердий, связанная с их значительной перегрузкой давлением. Клиническая симптоматика РКМП включает классические проявления хронической сердечной недостаточности (ХСН), а именно — одышку при минимальной физической нагрузке, возникающую вследствие выраженного повышения давления в малом кругу кровообращения, а также отеки как следствие правожелудочковой сердечной недостаточности. Патогномоничным диагностическим признаком является отсутствие увеличения размеров левого желудочка при обзорной рентгенографии грудной клетки, а лишь атриомегалия и, на более поздних стадиях, увеличение размеров правого желудочка.

Недостаточная изученность патогенеза РКМП в сочетании со множественностью ее причин делает актуальным изучение ее патогенеза с использованием экспериментальных моделей.

Этиология и патогенез РКМП

В соответствии с причиной, различные формы РКМП подразделяют на генетически обусловленные/семейные и приобретенные/несемейные. В таблице 1 приведены основные причины РКМП в соответствии с классификацией, предложенной в 2008 г. рабочей группой по заболеваниям миокарда и перикарда Европейского кардиологического общества [15]. Важнейшим патогенетическим фактором, отмечающимся при приобретенных формах РКМП, является ремоделирование внеклеточного матрикса миокарда, которое может проявляться либо в виде накопления белков с нарушенной конформацией, либо в виде интенсивного фиброза вследствие диффузной гибели кардиомиоцитов [19]. Функциональные нарушения в самих кардиомиоцитах при приобретенных РКМП не описаны. Напротив, при генетически обусловленных РКМП отмечаются множественные нарушения функции кардиомиоцитов, проявляющиеся, в частности, повышенной чувствительностью миофиламентов к кальцию. Характерный для РКМП фенотип отмечается при мутациях тропонина I и T [23, 31], десмина [24,

Этиология рестриктивной кардиомиопатии [15, 29]

Таблица 1

Генетически обусловленные/семейные формы	Семейная РКМП с неустановленными кандидатными генами. Мутации саркомерных белков: - тропонин I - основная легкая цепь миозина. Семейный амилоидоз: - транстиретин (РКМП + нейропатия) - аполипопротеин (РКМП + нефропатия). Десминопатия. Эластическая псевдоксантома. Гемохроматоз. Болезнь Фабри. Гликогенозы.
Приобретенные/несемейные формы	Амилоидоз (легкие цепи иммуноглобулинов, преальбумин). Саркоидоз. Склеродермия. Радиационный фиброз. Метастазирование в сердце. Карциноидный синдром. Применение антрациклинов. Эндомиокардиальный фиброз: - идиопатический; - гиперэозинофильный синдром; - хромосомные поломки; - лекарственный; - серотонин; - метисергид; - препараты ртути; - эрготамин; - бусульфан.

36], миозина, актина и α - β -кристаллина [47] и ряда других генов, кодирующих белки кардиомиоцитов. Примечательно, что другие мутации этих же генов могут сопровождаться развитием гипертрофической кардиомиопатии. Возникновение симптоматической РКМП в детском возрасте в отсутствие экстракардиальных нарушений, как правило, свидетельствует о первичном генетическом дефекте.

Виды экспериментальных моделей РКМП

В экспериментальной практике описан ряд моделей РКМП, включая приобретенные и генетически обусловленные формы РКМП у грызунов, а также модели, воспроизводимые на крупных животных. Новым направлением в моделировании РКМП является создание модели заболевания у плодовых мушек.

Модели приобретенной РКМП у грызунов

К моделям приобретенной РКМП у грызунов относят перегрузку экзогенным железом, радиационный фиброз миокарда и фиброэластоз эндокарда, эозинофильный миокардит, а также генетически обусловленные формы склеродермии и амилоидоза.

Перегрузка экзогенным железом у грызунов приводит к проявлениям, сходным с кардиомиопатией при гемохроматозе, а также с кардиомиопатией, развивающейся у больных наследственными гемолитическими анемиями в результате повторных гемотрансфузий. Показано, что ежедневное внутрибрюшинное введение декстрана железа мышам в

течение 3 недель в дозах 5, 10 и 20 мг приводит к дозозависимому эффекту на функцию изолированного сердца, проявляющемуся снижением систолического и пульсового давления в левом желудочке (ЛЖ), а также повышением конечно-диастолического давления [2]. В роли основного механизма систолической и диастолической дисфункции ЛЖ при этом выступает усиление процессов свободно-радикального окисления [1]. На модели перегрузки железом у монгольских песчанок показана одинаковая эффективность хелаторов железа деферасирокса и деферипрона в отношении снижения содержания железа в сердце [44]. Вторичная перегрузка железом также приводит к его накоплению в сердце морской свинки [38], однако при телеметрической регистрации ЭКГ у животных не было обнаружено увеличения встречаемости аритмий, являющихся одной из важнейших причин смерти у пациентов с РКМП [22].

При лучевой терапии рака молочной железы, легкого, пищевода, а также лимфогранулематоза нередко в результате поглощения сердцем ионизирующего излучения у пациентов развивается пострadiационная кардиомиопатия, относящаяся к группе РКМП [4, 40]. В основе данных нарушений лежит развитие отсроченного (часто через 10–20 лет после облучения) выраженного фиброза и фиброэластоза эндокарда, приводящих к снижению способности миокарда к расслаблению. Механизмы развития РКМП после лучевого воздействия на сердце включают эндотелиальную дисфункцию, активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС)

и дисфункцию тучных клеток сердца. У животных пострadiaционная кардиомиопатия моделируется путем локального однократного облучения сердца в дозе 5–25 Гр либо дробного облучения, включающего 5 доз по 9 Гр. Протективная роль тучных клеток в развитии пострadiaционной РКМП была доказана в экспериментах на крысах Ws/Ws с генетически обусловленным дефицитом тучных клеток [6]. Через 6 месяцев после однократного облучения сердца в дозе 18 Гр у животных с дефицитом тучных клеток была отмечена более выраженная диастолическая дисфункция ЛЖ и более интенсивное накопление коллагена III типа в интерстиции сердца. Роль оксидативного стресса, повреждения эндотелия и активации РААС в развитии пострadiaционной РКМП подтверждается положительным эффектом применения α -токоферола, пентоксифиллина [5] и каптоприла [46].

Эозинофильный миокардит представляет собой еще одну причину приобретенной РКМП, что в экспериментальной практике нашло отражение в модели введения аутологичных спленоцитов мышам, предварительно сенсибилизированным овалбумином [18]. Несмотря на гистологические признаки эозинофильной инфильтрации эндокарда, фенотип РКМП не был верифицирован с помощью функциональных критериев. Аналогичная ситуация имеет место для моделей склеродермии у мышей Tsk с плотной кожей, гиперэкспрессирующих фибриллин-1 [3], и животных с повышенным уровнем амилоидогенных белков, таких как транстиретин [10].

Генетические модели РКМП у грызунов

Экспериментальные модели наследственной РКМП воспроизводят клинические ситуации наследственного гемохроматоза и мутаций саркомерных белков. Биомоделью наследственного гемохроматоза являются мыши с гомозиготным нокаутированием гена гемоювелина (JUV-/-) [20, 34]. У животных было отмечено интенсивное накопление железа в печени, поджелудочной железе и сердце. Предположительно, перегрузка железом связана с его усиленным всасыванием в тонкой кишке вследствие нарушения ингибирующего влияния гепцидина на экспрессию ферропортина. В работе C. J. Brewer et al. [8] был изучен уровень экспрессии белков — транспортеров железа в миокарде мышей JUV-/- в зависимости от пола. Известно, что мужчины, страдающие гемохроматозом или кардиомиопатией вследствие экзогенной перегрузки железом, имеют в 2 раза более высокий уровень летальности, чем женщины [7, 9]. В полном соответствии с этими данными, у самцов мышей JUV-/- был отмечен значимо более высокий уровень железа в миокарде, что было ассоциировано с пониженной экспрессией в миокарде ферропортина, рецептора трансферрина-1 и транспортера дивалентных металлов-1. Таким образом, самки имеют более эффективные механизмы выведения железа из клетки, что препятствует формированию перегрузки кардиомиоцитов железом. Еще одной мутацией, также ассоциированной с развитием наследственного гемохроматоза у мышей, является

мутация гена HFE, кодирующего b2-микроглобулин (b2m)-ассоциированный белок, подобный белку I класса главного комплекса гистосовместимости. Если у JUV-/- животных отложение железа в миокарде возникает при содержании на обычной диете, то у b2m-/- мышей для этого требуется увеличение содержания железа в пище [17]. Хотя те же мутации вызывают наследственный гемохроматоз и РКМП у людей, фенотип РКМП у мышей с мутациями JUV и HFE до сих пор охарактеризован недостаточно.

Также существуют две модели РКМП у мышей, вызванные мутациями гена сердечного тропонина I (TNNI3). В первой модели трансгенные животные являются носителями мутации R193H, которая ассоциирована с РКМП у людей [13, 14]. У животных наблюдается дилатация предсердий с уменьшением размеров камеры ЛЖ, а также нарастание жесткости стенки ЛЖ без сопутствующего увеличения ее толщины. По сравнению с нетрансгенными животными того же помета, у носителей мутации R193H отмечается сниженный сердечный выброс в покое, сниженный сократительный резерв в ответ на стимуляцию добутамином и повышенная летальность в возрасте одного года [13]. Дальнейшая детальная характеристика фенотипа у мышей с кардиоспецифичной гиперэкспрессией R193H была предпринята в работе J. Davis et al. [11]. Эхокардиография и катетеризация ЛЖ подтвердили наличие у животных сниженной эластичности миокарда, повышенного конечно-диастолического давления в ЛЖ и неполного расслабления миокарда — признаков, в совокупности свидетельствующих о выраженной диастолической дисфункции миокарда в отсутствие фиброза и иных морфологических изменений.

С помощью углеродного микроволокна было впервые показано, что при растяжении R193H кардиомиоцитов в физиологических пределах генерировалось более высокое сопротивление при отсутствии изменений внутриклеточной концентрации кальция. В кардиомиоцитах трансгенных мышей отмечалась повышенная чувствительность миофиламентов к кальцию, что проявлялось их гиперконтрактильностью. На молекулярном уровне обнаружена своеобразная адаптация сократительного аппарата кардиомиоцитов, проявлявшаяся сниженной экспрессией фосфоламбана. Создание трансгенных мышей с варьируемым уровнем экспрессии R193H TNNI3 позволило выявить особенности прогрессии РКМП [27]. Так, время расслабления и скорость снижения Ca^{2+} в саркоплазме коррелировали с уровнем экспрессии мутантного белка в миокарде и нарушением активности актинмиозиновой АТФазы миофиламентов. У животных с максимальным уровнем R193H TNNI3 резко выраженное нарушение диастолического расслабления миокарда приводило к ишемии миокарда, фиброзу и формированию систолической дисфункции, быстро сменявшейся сердечной недостаточностью и смертью животных.

Вторая генетическая модель РКМП у мышей, связанная с R145W мутацией гена TNNI3, сопровождается повышением чувствительности миофиламентов к кальцию, а также повышением силы и

продолжительности сокращения филаментов на 40 %, что также приводит к нарушению наполнения ЛЖ в диастолу [43]. Примечательно, что нуклеотидные замены в локусе R145W в зависимости от конкретной локализации могут приводить у человека и мыши как к формированию РКМП, так и гипертрофической кардиомиопатии [43].

В одной из последних работ описаны функциональные и морфологические последствия экспрессии у мышей мутантного гена MYRN, кодирующего белок миопалладин [21]. Миопалладин обеспечивает механотрансмиссию сигнала от структурных белков Z- и I-дисков к ядру кардиомиоцита, где под влиянием миопалладина осуществляется регуляция экспрессии ряда генов. Мутация гена миопалладина MYRN-Q529X ранее была идентифицирована у пациентов с семейной РКМП [37]. У животных-гомозигот по MYRN-Q529X была отмечена «рестриктивная физиология», т. е. выраженная диастолическая дисфункция ЛЖ при сохраненной систолической функции. Гистологическое исследование показало наличие интенсивного интерстициального и периваскулярного фиброза без гипертрофии кардиомиоцитов. Экспрессионный анализ выявил уменьшение фосфорилирования киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (Erk1/2), и протеинкиназы B (Akt). С другой стороны, наблюдалось повышение экспрессии маркеров фиброза (трансформирующий фактор роста β , периостин, остеопонтин, α -гладкомышечный актин) и сердечной недостаточности (натрийуретический пептид А, тяжелая цепь миозина б). Авторы предположили, что вызванная дефектом миопалладина даун-регуляция белка Сагр в сочетании с активацией Мр и десмина усиливает фиброз миокарда, а снижение уровня Erk1/2 препятствует развитию гипертрофии. Таким образом, генетические модели РКМП у грызунов в настоящее время являются наиболее полно охарактеризованными с точки зрения как молекулярных механизмов формирующихся нарушений, так и функциональных изменений сердца.

РКМП у крупных животных

Модели РКМП у крупных животных включают спонтанно возникающую кардиомиопатию у кошек [28, 41], а также амилоидоз сердца у коров и других животных [45]. Спонтанно возникающая у домашних кошек РКМП описана и подробно охарактеризована Р. R. Fox et al. [16]. При эхокардиографии у животных были выявлены такие типичные признаки рестрикции, как увеличение ранней скорости наполнения, снижение поздней скорости наполнения и уменьшение времени замедления на митральном клапане. Систолическая функция желудочков была сохранена. При эхокардиографии и патоморфологическом исследовании были обнаружены увеличение обоих предсердий, а также отсутствие дилатации и гипертрофии желудочков. Выраженное отложение амилоида в сердце описано у абиссинских кошек с семейной формой амилоидоза [12]. Транстиретиновый амилоидоз был также описан у старой зеленой мартышки [33], а генерализованный амилоидоз АА — у коров [45].

К настоящему времени РКМП у крупных животных описана в основном как спонтанно возникающее заболевание, что не дает возможности стандартизировать возникающие нарушения и использовать крупных животных для преклинического тестирования новых методов лечения РКМП.

Модели РКМП у насекомых

В 2014 г. описана новая генетическая модель диастолической дисфункции и РКМП у плодовой мушки *Drosophila melanogaster* [42]. Мутация *upheld101*, приводящая к замене Glu/Lys в зоне прилегания к тропомиозин-связывающему участку N-терминального домена тропонина Т (TNNT2), сопровождается увеличением времени систолы и уменьшением диастолического размера сердечной трубки. Фенотип РКМП был дополнительно подтвержден повышенной жесткостью миокарда в покое, зафиксированной *in vitro* с помощью атомно-силовой микроскопии. Электронная микроскопия тонких филаментов в сочетании с трехмерной реконструкцией выявила нестабильность расположения тропомиозина, сопровождающуюся увеличением числа доступных миозин-связывающих сайтов. Моделирование патологии на насекомых неизбежно вызывает вопрос о правомочности экстраполяции полученных данных на другие виды, включая человека. Однако TNNT2 представляет собой филогенетически консервативный участок, мутации которого обуславливают возникновение различных кардиомиопатий у человека [30, 32, 35, 39].

Фенотип РКМП у *Drosophila melanogaster* может формироваться в результате более сложных генетических взаимодействий, чем точечная мутация. Так, у плодовых мушек практически изогенной линии WE70 из персикового сада в Северной Каролине, США, были описаны два различных фенотипа, первый из которых характеризуется повышенной встречаемостью аритмий, а второй — резким уменьшением диастолического и систолического диаметра сердечной трубки [48]. Второй вариант может рассматриваться в качестве модели РКМП. При этом поиск полиморфизмов с помощью микроципового анализа геномной ДНК и последующее полногеномное секвенирование показали, что данный фенотип определяется полигенным наследованием с явлениями эпистаза. Генетические модели РКМП с использованием насекомых позволяют изучить не только функциональную основу формирования заболевания на молекулярном уровне, но и определить роль взаимодействия неаллельных генов в реализации того или иного фенотипа.

Модели РКМП у рыб (Danio Rerio)

В последнее время перспективным является моделирование различных генетических состояний, в частности, сердечно-сосудистой системы, на модели лучеперых рыб *Danio Rerio*. К преимуществам данных экспериментальных моделей относится легкость их создания с применением генно-инженерного подхода морфолино, быстрые сроки размножения и развития рыб, а также простота и доступность оценки

ОБЗОРЫ

физиологической функции миокарда, возможность прямой визуальной оценки и легкость получения первичных культур клеток и клеточных белковых экстрактов в достаточном количестве. Одновременно, несмотря на эволюционную отдаленность, миокард рыб имеет в составе все основные белки миофиламентов, характерные миокарду человека, что делает исследования с использованием подхода морфолино у рыб более физиологически релевантными, чем исследования на насекомых [26].

Заключение

Одним из основных требований к экспериментальной модели является максимальная приближенность к реальной клинической ситуации. Для моделирования РКМП предложено множество подходов, в которых используется как генетическая модификация животных, так и воздействие экзогенных факторов. Экспериментальная модель РКМП должна сопровождаться значимым возрастанием жесткости и снижением комплаентности стенки желудочков, которое на функциональном уровне проявляется резким возрастанием конечно-диастолического давления в ЛЖ в ответ на нагрузку объемом. Свидетельством длительной диастолической дисфункции миокарда является увеличение размеров предсердий, подтверждаемое с помощью визуализационных методик. Для доказательства возросшей жесткости миокарда в экспериментальных моделях РКМП рекомендуется

проводить исследование биомеханических свойств миокарда *in vitro*. Однако поскольку нарастание жесткости миокарда может быть и проявлением далеко зашедшей гипертрофической и дилатационной кардиомиопатии, фенотип РКМП у лабораторных животных следует дополнительно подтверждать по отсутствию признаков дилатации ЛЖ и выраженной гипертрофии миокарда.

В случае моделирования вызванной РКМП ХСН необходимо дополнительно верифицировать прогрессирующее снижение функционального резерва ЛЖ, показать наличие летальности вследствие ХСН, продемонстрировать прогрессивное возрастание легочной гипертензии, задержку жидкости в организме и активацию нейрогуморальных систем (например, уровень катехоламинов в плазме). При наличии возможности животным может быть выполнено нагрузочное тестирование, подтверждающее сниженную толерантность к нагрузке. Экспериментальные модели, удовлетворяющие всем перечисленным критериям, позволяют не только исследовать патогенетические механизмы РКМП, но и тестировать новые терапевтические и хирургические методы ее лечения.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных школ (НШ-1611.2014.7) и гранта Российского Научного Фонда 14-15-00745.

Литература

1. Bartfay W. J., Bartfay E. Iron-overload cardiomyopathy. Evidence for a free radical-mediated mechanism of injury and dysfunction in a murine model // *Biol. Res. Nurs.* 2000. № 2 (1). P. 49–59.
2. Bartfay W. J., Dawood F., Wen W. H. et al. Cardiac function and cytotoxic aldehyde production in a murine model of chronic iron-overload // *Cardiovasc. Res.* 1999. № 43 (4). P. 892–900.
3. Bashey R. I., Philips N., Insinga F., Jimenez S. A. Increased collagen synthesis and increased content of type vi collagen in myocardium of tight skin mice // *Cardiovasc. Res.* 1993. № 27. P. 1061–1065.
4. Boerma M., Hauer-Jensen M. Preclinical research into basic mechanisms of radiation-induced heart disease // *Cardiol. Res. Pract.* 2011. P. 858–862.
5. Boerma M., Roberto K. A., Hauer-Jensen M. Prevention and treatment of functional and structural radiation injury in the rat heart by pentoxifylline and alpha-tocopherol // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008. № 72 (1). P. 170–177.
6. Boerma M., Wang J., Wondergem J. et al. Influence of mast cells on structural and functional manifestations of radiation-induced heart disease // *Cancer Res.* 2005. № 65 (8). P. 3100–3107.
7. Borgna-Pignatti C., Rugolotto S., De Stefano P. et al. Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine // *Haematologica.* 2004. № 89. P. 1187–1193.
8. Brewer C. J., Wood R. I., Wood J. C. mRNA regulation of cardiac iron transporters and ferritin subunits in a mouse model of iron overload // *Exp. Hematol.* 2014. № 42 (12). P. 1059–1067.
9. Burke W., Thomson E., Khoury M. et al. Hereditary hemochromatosis. Gene discovery and its implications for population-based screening // *JAMA.* 1998. № 280. P. 172–178.
10. Buxbaum J., Tagoe C., Gallo G. et al. The pathogenesis of transthyretin tissue deposition. P. lessons from transgenic mice // *Amyloid.* 2003. № 10 (S1). P. 2–6.
11. Davis J., Yasuda S., Palpant N. J. et al. Diastolic dysfunction and thin filament dysregulation resulting from excitation-contraction uncoupling in a mouse model of restrictive cardiomyopathy // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2012. № 53 (3). P. 446–457.
12. DiBartola S. P., Tarr M. J., Benson M. D. Tissue distribution of amyloid deposits in Abyssinian cats with familial amyloidosis // *J. Comp. Pathol.* 1986. № 96 (4). P. 387–398.
13. Du J., Liu J., Feng H. Z. et al. Impaired relaxation is the main manifestation in transgenic mice expressing a restrictive cardiomyopathy mutation, R193H, in cardiac TnI // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2008. № 294. P. H2604–H2613.
14. Du J., Zhang C., Liu J. et al. A point mutation (R192H) in the C-terminus of human cardiac troponin I causes diastolic dysfunction in transgenic mice // *Arch. Biochem. Biophys.* 2006. № 456 (2). P. 143–150.
15. Elliott P., Andersson B., Arbustini E. et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases // *Eur. Heart J.* 2008. № 29 (2). P. 270–276.
16. Fox P. R., Basso C., Thiene G., Maron B. J.

Spontaneously occurring restrictive nonhypertrophied cardiomyopathy in domestic cats: a new animal model of human disease // *Cardiovasc. Pathol.* 2014. № 23 (1). P. 28–34.

17. Gutierrez L., Quintana C., Patino C. et al. Iron speciation study in Hfe knockout mice tissues. Magnetic and ultrastructural characterization // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. № 1792. P. 541–547.

18. Hirasawa M., Ito Y., Shibata M. A., Otsuki Y. Mechanism of inflammation in murine eosinophilic myocarditis produced by adoptive transfer with ovalbumin challenge // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007. № 142 (1). P. 28–39.

19. Houser S. R., Margulies K. B., Murphy A. M. et al. Animal models of heart failure: a scientific statement from the American Heart Association // *Circ. Res.* 2012. № 111 (1). P. 131–150.

20. Huang F. W., Pinkus J. L., Pinkus G. S. et al. A mouse model of juvenile hemochromatosis // *J. Clin. Invest.* 2005. № 115. P. 2187–2191.

21. Huby A. C., Mendsaikhon U., Takagi K. et al. Disturbance in Z-disk mechanosensitive proteins induced by a persistent mutant myopalladin causes familial restrictive cardiomyopathy // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014. № 64 (25). P. 2765–2776.

22. Kaiser L., Davis J., Patterson J. et al. Iron does not cause arrhythmias in the guinea pig model of transfusional iron overload // *Comp. Med.* 2007. № 57 (4). P. 383–389.

23. Kostareva A., Gudkova A., Sjoberg G. et al. Deletion in TNNI3 gene is associated with restrictive cardiomyopathy // *Int. J. Cardiol.* 2009. № 131 (3). P. 410–412.

24. Kostareva A., Gudkova A., Sjoberg G. et al. Desmin mutations in a St. Petersburg cohort of cardiomyopathies // *Acta Myol.* 2006. № 25 (3). P. 109–115.

25. Kushwaha S. S., Fallon J. T., Fuster V. Restrictive cardiomyopathy // *N. Engl. J. Med.* 1997. № 336 (4). P. 267–276.

26. Li M., Andersson-Lendahl M., Sejersen T., Arner A. Muscle dysfunction and structural defects of dystrophin-null sapje mutant zebrafish larvae are rescued by ataluren treatment // *FASEB J.* 2014. № 28(4). P. 1593–1599. doi. P. 10.1096/fj.13-240044. Epub 2013 Dec 26.

27. Li Y., Zhang L., Jean-Charles P. Y. et al. Dose-dependent diastolic dysfunction and early death in a mouse model with cardiac troponin mutations // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2013. № 62. P. 227–236.

28. Liu S. K., Tilley L. P. Animal models of primary myocardial diseases // *Yale J. Biol. Med.* 1980. № 53. P. 191–211.

29. Maisch B., Noutsias M., Ruppert V. et al. Cardiomyopathies: classification, diagnosis, and treatment // *Heart Fail. Clin.* 2012. № 8 (1). P. 53–78.

30. Menon S. C., Michels V. V., Pellikka P. A. et al. Cardiac troponin T mutation in familial cardiomyopathy with variable remodeling and restrictive physiology // *Clin. Genet.* 2008. № 74. P. 445–454.

31. Mogensen J., Kubo T., Duque M. et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations // *J. Clin. Invest.* 2003. № 111. P. 209–216.

32. Mogensen J., Murphy R. T., Shaw T. et al. Severe disease expression of cardiac troponin C and T mutations in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004. № 44. P. 2033–2040.

33. Nakamura S., Okabayashi S., Ageyama N. et al. Transthyretin amyloidosis and two other aging-related amyloidoses in an aged vervet monkey // *Vet Pathol.* 2008. № 45. P. 67–72.

34. Nick H., Allegrini P. R., Fozard L. et al. Deferasirox reduces iron overload in a murine model of juvenile hemochromatosis // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2009. № 234. P. 492–503.

35. Peddy S. B., Vricella L. A., Crosson J. E. et al. Infantile restrictive cardiomyopathy resulting from a mutation in the cardiac troponin T gene // *Pediatrics*. 2006. № 117. P. 1830–1833.

36. Pruszczyk P., Kostera-Pruszczyk A., Shatunov A. et al. Restrictive cardiomyopathy with atrioventricular conduction block resulting from a desmin mutation // *Int. J. Cardiol.* 2007. № 117. P. 244–253.

37. Purejav E., Arimura T., Augustin S. et al. Molecular basis for clinical heterogeneity in inherited cardiomyopathies due to myopalladin mutations // *Hum. Mol. Genet.* 2012. № 21. P. 2039–2053.

38. Schwartz K. A., Fisher J., Adams E. T. Morphologic investigations of the guinea pig model of iron overload // *Toxicol. Pathol.* 1993. № 21 (3). P. 311–320.

39. Stefanelli C. B., Rosenthal A., Borisov A. B. et al. Novel troponin T mutation in familial dilated cardiomyopathy with gender-dependant severity // *Mol. Genet. Metab.* 2004. № 83. P. 188–196.

40. Taunk N. K., Haffty B. G., Kostis J. B., Goyal S. Radiation-induced heart disease // *Pathologic abnormalities and putative mechanisms. Front Oncol.* 2015. № 5. P. 39.

41. Tilley L. P., Liu S. K., Gilbertson S. R. et al. Primary myocardial disease in the cat. A model for human cardiomyopathy // *Am. J. Pathol.* 1977. № 86. P. 493–522.

42. Viswanathan M. C., Kaushik G., Engler A. J. et al. Drosophila melanogaster model of diastolic dysfunction and cardiomyopathy based on impaired troponin-T function // *Circ. Res.* 2014. № 114 (2). P. e6–e17.

43. Wen Y., Xu Y., Wang Y. et al. Functional effects of a restrictive-cardiomyopathy-linked cardiac troponin I mutation (R145W) in transgenic mice // *J. Mol. Biol.* 2009. № 392. P. 1158–1167.

44. Wood J. C., Otto-Duessel M., Gonzalez I. et al. Deferasirox and deferiprone remove cardiac iron in the iron-overloaded gerbil // *Transl. Res.* 2006. № 148 (5). P. 272–280.

45. Yamada M., Kotani Y., Nakamura K. et al. Immunohistochemical distribution of amyloid deposits in 25 cows diagnosed with systemic AA amyloidosis // *J. Vet. Med. Sci.* 2006. № 68. P. 725–729.

46. Yarom R., Harper I. S., Wynchank S. et al. Effect of captopril on changes in rats' hearts induced by long-term irradiation // *Radiat. Res.* 1993. № 133 (2). P. 187–197.

47. Zhang J., Kumar A., Stalker H. J. et al. Clinical and molecular studies of a large family with desmin-associated restrictive cardiomyopathy // *Clin. Genet.* 2001. № 59 (4). P. 248–256.

48. Zhang Z., Hsieh B., Poe A. et al. Complex genetic architecture of cardiac disease in a wild type inbred strain of *Drosophila melanogaster* // *PLoS One*. 2013. № 8 (4). P. e62909.

Experimental models of restrictive cardiomyopathy

North-West Federal Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia

First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Saint-Petersburg, Russia

e-mail: galagoudza@mail.ru

Abstract

Restrictive cardiomyopathy (RCMP) is characterized by the isolated diastolic ventricular dysfunction due to increased myocardial stiffness. Animal models of RCMP include the models of acquired and hereditary RCMP as well as the models in large animals. Acquired RCMP is observed in exogenous iron overload, radiation-induced myocardial fibrosis, eosinophilic myocarditis, systemic sclerosis, and amyloidosis. Genetic models of RCMP mimic clinical scenarios of hereditary hemochromatosis and sarcomeric protein mutations. A new approach to modeling RCMP is genetic modification of fruit flies. There are several critical characteristics of successful animal model of RCMP: 1) severe increase in left ventricular end-diastolic pressure in response to volume load; 2) increased ventricular stiffness in the in vitro settings; 3) biatrial enlargement; 4) lack of left ventricular dilation and advanced myocardial hypertrophy.

Keywords: restrictive cardiomyopathy, animal models, rodents, genetic models, diastolic dysfunction, myocardial stiffness.

References

1. Bartfay WJ, Bartfay E. Iron-overload cardiomyopathy: evidence for a free radical-mediated mechanism of injury and dysfunction in a murine model. *Biol Res Nurs.* 2000;2(1):49–59.
2. Bartfay WJ, Dawood F, Wen WH, Lehotay DC, Hou D, Bartfay E, Luo X, Backx PH, Liu PP. Cardiac function and cytotoxic aldehyde production in a murine model of chronic iron-overload. *Cardiovasc Res.* 1999;43(4):892–900.
3. Bashey RI, Philips N, Insinga F, Jimenez SA. Increased collagen synthesis and increased content of type vi collagen in myocardium of tight skin mice. *Cardiovasc Res.* 1993;27:1061–1065.
4. Boerma M, Hauer-Jensen M. Preclinical research into basic mechanisms of radiation-induced heart disease. *Cardiol Res Pract.* 2010;2011:858262.
5. Boerma M, Roberto KA, Hauer-Jensen M. Prevention and treatment of functional and structural radiation injury in the rat heart by pentoxifylline and alpha-tocopherol. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008;72(1):170–177.
6. Boerma M, Wang J, Wondergem J, Joseph J, Qiu X, Kennedy RH, Hauer-Jensen M. Influence of mast cells on structural and functional manifestations of radiation-induced heart disease. *Cancer Res.* 2005;65(8):3100–3107.
7. Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P et al. Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica.* 2004;89:1187–1193.
8. Brewer CJ, Wood RI, Wood JC. mRNA regulation of cardiac iron transporters and ferritin subunits in a mouse model of iron overload. *Exp Hematol.* 2014;42(12):1059–1067.
9. Burke W, Thomson E, Khoury M et al. Hereditary hemochromatosis: Gene discovery and its implications for population-based screening. *JAMA.* 1998;280:172–178.
10. Buxbaum J, Tagoe C, Gallo G, Reixach N, French D. The pathogenesis of transthyretin tissue deposition: lessons from transgenic mice. *Amyloid.* 2003;10(S1):2–6.
11. Davis J, Yasuda S, Palpant NJ, Martindale J, Stevenson T, Converso K, Metzger JM. Diastolic dysfunction and thin filament dysregulation resulting from excitation-contraction uncoupling in a mouse model of restrictive cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2012;53(3):446–457.
12. DiBartola SP, Tarr MJ, Benson MD. Tissue distribution of amyloid deposits in Abyssinian cats with familial amyloidosis. *J Comp Pathol.* 1986;96(4):387–398.
13. Du J, Liu J, Feng HZ, Hossain MM, Gobara N, Zhang C, Li Y, Jean-Charles PY, Jin JP, Huang XP. Impaired relaxation is the main manifestation in transgenic mice expressing a restrictive cardiomyopathy mutation, R193H, in cardiac TnI. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294:H2604–H2613.
14. Du J, Zhang C, Liu J, Sidky C, Huang XP. A point mutation (R192H) in the C-terminus of human cardiac troponin I causes diastolic dysfunction in transgenic mice. *Arch Biochem Biophys.* 2006;456(2):143–150.
15. Elliott P, Andersson B, Arbustini E et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2008;29(2):270–276.
16. Fox PR, Basso C, Thiene G, Maron BJ. Spontaneously occurring restrictive nonhypertrophied cardiomyopathy in domestic cats: a new animal model of human disease. *Cardiovasc Pathol.* 2014;23(1):28–34.
17. Gutierrez L, Quintana C, Patino C, Bueno J, Coppin H, Roth MP, Lazaro FJ. Iron speciation study in Hfe knockout mice tissues: magnetic and ultrastructural characterisation. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1792:541–547.
18. Hirasawa M, Ito Y, Shibata MA, Otsuki Y. Mechanism of inflammation in murine eosinophilic myocarditis produced by adoptive transfer with ovalbumin challenge. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;142(1):28–39.
19. Houser SR, Margulies KB, Murphy AM et al. Animal models of heart failure: a scientific statement from the American Heart Association. *Circ Res.* 2012;111(1):131–150.
20. Huang FW, Pinkus JL, Pinkus GS, Fleming MD, Andrews NC. A mouse model of juvenile hemochromatosis. *J Clin Invest.* 2005;115:2187–2191.
21. Huby AC, Mendsaikhhan U, Takagi K et al. Disturbance in Z-disk mechanosensitive proteins induced by a persistent mutant myopalladin causes familial restrictive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(25):2765–2776.
22. Kaiser L, Davis J, Patterson J, Boyd RF, Olivier NB, Bohart G, Schwartz KA. Iron does not cause arrhythmias in the guinea pig model of transfusional iron overload. *Comp Med.* 2007;57(4):383–389.
23. Kostareva A, Gudkova A, Sjöberg G et al. Deletion in TNNI3 gene is associated with restrictive cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2009;131(3):410–412.
24. Kostareva A, Gudkova A, Sjöberg G et al. Desmin

mutations in a St. Petersburg cohort of cardiomyopathies. *Acta Myol.* 2006;25(3):109–115.

25. Kushwaha SS, Fallon JT, Fuster V. Restrictive cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 1997;336(4):267–276.

26. Li M, Andersson-Lendahl M, Sejersen T, Arner A. Muscle dysfunction and structural defects of dystrophin-null sapje mutant zebrafish larvae are rescued by ataluren treatment. *FASEB J.* 2014;28(4):1593–9. doi: 10.1096/fj.13-240044. Epub 2013 Dec 26.

27. Li Y, Zhang L, Jean-Charles PY, Nan C, Chen G, Tian J, Jin JP, Gelb IJ, Huang X. Dose-dependent diastolic dysfunction and early death in a mouse model with cardiac troponin mutations. *J Mol Cell Cardiol.* 2013;62:227–236.

28. Liu SK, Tilley LP. Animal models of primary myocardial diseases. *Yale J Biol Med.* 1980;53:191–211.

29. Maisch B, Noutsias M, Ruppert V, Richter A, Pankuweit S. Cardiomyopathies: classification, diagnosis, and treatment. *Heart Fail Clin.* 2012;8(1):53–78.

30. Menon SC, Michels VV, Pellicka PA, Ballew JD, Karst ML, Herron KJ, Nelson SM, Rodeheffer RJ, Olson TM. Cardiac troponin T mutation in familial cardiomyopathy with variable remodeling and restrictive physiology. *Clin Genet.* 2008;74:445–454.

31. Mogensen J, Kubo T, Duque M et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations. *J Clin Invest.* 2003;111:209–216.

32. Mogensen J, Murphy RT, Shaw T, Bahl A, Redwood C, Watkins H, Burke M, Elliott PM, McKenna WJ. Severe disease expression of cardiac troponin C and T mutations in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:2033–2040.

33. Nakamura S, Okabayashi S, Ageyama N, Koie H, Sankai T, Ono F, Fujimoto K, Terao K. Transthyretin amyloidosis and two other aging-related amyloidoses in an aged vervet monkey. *Vet Pathol.* 2008;45:67–72.

34. Nick H, Allegrini PR, Fozard L, Junker U, Rojkaer L, Salie R, Niederkofer V, O'Reilly T. Deferasirox reduces iron overload in a murine model of juvenile hemochromatosis. *Exp Biol Med (Maywood).* 2009;234:492–503.

35. Peddy SB, Vricella LA, Crosson JE, Oswald GL, Cohn RD, Cameron DE, Valle D, Loeys BL. Infantile restrictive cardiomyopathy resulting from a mutation in the cardiac troponin T gene. *Pediatrics.* 2006;117:1830–1833.

36. Pruszczyk P, Kostera-Pruszczyk A, Shatunov A et al. Restrictive cardiomyopathy with atrioventricular conduction block resulting from a desmin mutation. *Int J Cardiol.* 2007;117:244–253.

37. Purejav E, Arimura T, Augustin S et al. Molecular basis for clinical heterogeneity in inherited cardiomyopathies due to myopalladin mutations. *Hum Mol Genet* 2012;21:2039–2053.

38. Schwartz KA, Fisher J, Adams ET. Morphologic investigations of the guinea pig model of iron overload. *Toxicol Pathol.* 1993;21(3):311–320.

39. Stefanelli CB, Rosenthal A, Borisov AB, Ensing GJ, Russell MW. Novel troponin T mutation in familial dilated cardiomyopathy with gender-dependant severity. *Mol Genet Metab.* 2004;83:188–196.

40. Taunk NK, Haffty BG, Kostis JB, Goyal S. Radiation-induced heart disease: pathologic abnormalities and putative mechanisms. *Front Oncol.* 2015;5:39.

41. Tilley LP, Liu SK, Gilbertson SR, Wagner BM, Lord PF. Primary myocardial disease in the cat. A model for human cardiomyopathy. *Am J Pathol.* 1977;86:493–522.

42. Viswanathan MC, Kaushik G, Engler AJ, Lehman W, Cammarato A. A *Drosophila melanogaster* model of diastolic dysfunction and cardiomyopathy based on impaired troponin-T function. *Circ Res.* 2014;114(2):e6–e17.

43. Wen Y, Xu Y, Wang Y, Pinto JR, Potter JD, Kerrick WG. Functional effects of a restrictive-cardiomyopathy-linked cardiac troponin I mutation (R145W) in transgenic mice. *J Mol Biol.* 2009;392:1158–1167.

44. Wood JC, Otto-Duessel M, Gonzalez I, Aguilar MI, Shimada H, Nick H, Nelson M, Moats R. Deferasirox and deferiprone remove cardiac iron in the iron-overloaded gerbil. *Transl Res.* 2006;148(5):272–280.

45. Yamada M, Kotani Y, Nakamura K, Kobayashi Y, Horiuchi N, Doi T, Suzuki S, Sato N, Kanno T, Matsui T. Immunohistochemical distribution of amyloid deposits in 25 cows diagnosed with systemic AA amyloidosis. *J Vet Med Sci.* 2006;68:725–729.

46. Yarom R, Harper IS, Wynchank S, van Schalkwyk D, Madhoo J, Williams K, Salie R, Genade S, Lochner A. Effect of captopril on changes in rats' hearts induced by long-term irradiation. *Radiat Res.* 1993;133(2):187–197.

47. Zhang J, Kumar A, Stalker HJ, Viridi G, Ferrans VJ, Horiba K, Fricker FJ, Wallace MR. Clinical and molecular studies of a large family with desmin-associated restrictive cardiomyopathy. *Clin Genet.* 2001;59(4):248–256.

48. Zhang Z, Hsieh B, Poe A, Anderson J, Ocorr K, Gibson G, Bodmer R. Complex genetic architecture of cardiac disease in a wild type inbred strain of *Drosophila melanogaster*. *PLoS One.* 2013;8(4):e62909.