

# DENEYSEL ATEROSKLEROZ VE MYOKARDİYAL ENFARKTÜS MODELLERİ

## 17 BÖLÜM

Ahmet Çağrı AYKAN

### GİRİŞ

Ateroskleroz damar çeperinde lipit birikimi ile karakterize ilerleyici inflamatuvar bir hastalıktır. Aterosklerozun ilerlemesi arteriyel lümenin daralmasına neden olur. Aterosklerotik plaklar yıllarca sabit kalabildiği gibi hızla kararsız hale gelebilir. Damar lümeninde tıkanıklığa bağlı akım azalmasının yanı sıra, aterosklerotik plakların varlığı miyokardiyal enfarktüs (MI) gibi akut kardiyovasküler olay ve inme riskinde artış ile ilişkilidir. Aterosklerotik plak oluşumu, ilerlemesi ve yırtılmasının altında yatan mekanizmanın daha iyi anlaşılması ve moleküler düzeyde oluşan değişikliklerin değerlendirilmesinde hayvan ateroskleroz modellerinin kullanımı önemli bir yöntemdir. Ayrıca hayvan modellerinde aterosklerozun başlamasını önleyici veya ilerlemesini yavaşlatıcı ajanların deneyleri de yapılmaktadır. Hayvan ateroskleroz modelleri, kolesterolden zengin batı diyeti, kolesterol mekanizmasındaki genlerin modifikasyonu veya diyabet gibi ateroskleroz risk faktörlerinin oluşturulması ile gerçekleştirilir.

İdeal bir hayvan modeli insan anatomisine ve patofizyolojisine benzemeli, tıp ve eczacılıkta kullanılabilme potansiyeline sahip olmalıdır. Ayrıca, model olarak kullanılan hayvanların ma-

liyet etkin, kullanımı kolay ve iyi tanımlanmış genetik özelliklere sahip olması gerekir. Ateroskleroz araştırması kullanılacak olan hayvan modeli sadece hastalık sürecinde değil, aynı zamanda lezyonların topografisinde de insanlara benzer olmalıdır. Kolesterolden zengin diyet sonrasında birçok hayvan modelinde ateroskleroz gelişir ancak lezyon topografileri insanlardan farklılık gösterebilir (1,2). Ayrıca, hayvanlarda ateroskleroz modellerinin çoğunda, insanlarda olan plak rüptürü, MI, inme ve ani ölüm gibi kendiliğinden görülen komplikasyonlar gelişmez.

### FARELERDE ATEROSKLEROZ MODELLERİ

Son yıllarda genetik manipülasyon kolaylığı, üreme hızı, makul zamanda ateroskleroz oluşturulabilmesi ve izleminin rahat olması nedeniyle fare deneysel ateroskleroz çalışmaları için en çok tercih edilen hayvan olmuştur (1,2). Fakat insanlara kıyasla lipid profillerinde olan değişiklikler nedeniyle fareler ateroskleroz oluşumuna nispeten dirençlidirler. Bu nedenle lipit profillerinin genetik manipülasyonu gerekir. Farelerde birçok lipit molekülü yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) tarzı parçacıklarla taşınır. Bu nedenle farelerde çok az miktarda aterojenik düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve çok düşük yoğunluklu

tüsünü taklit eden kademeli tıkanıklığı nedeniyele, kollateral arter arzının gelişmesini sağlar. Bu kademeli oklüzyon, hidrolik oklüder kullanılarak da elde edilebilir.

### ***Soğuk Hasar ile İndüklenen Myokardiyal Enfarktüs Modeli***

Bos EJ ve ark, soğuk hasarı ile üretilen miyokard hasarının sonucunu koroner arter ligasyonu yöntemiyle karşılaştırmıştır (58). Her ikisinin de benzer kontraktilite kaybını ve diyastolik disfonksiyonu gösterdiğini, ancak kalp yetmezliği olmayan soğuk hasar modelinde daha mütevazı LV yeniden şekillenmesini gözlemlediği sonucuna vardı. Kriyoprob tarafından uyarılan disk şeklindeki küçük bir nekrotik lezyon nedeniyle açık kalp yetmezliği görülmez. Üretilen lezyonun miyokard enfarktüsünün benzer hücresel pıhtılaşma nekrozu modelleri vardır. Dolayısıyla miyokard onarımını göstermek için kullanılan uygun bir modeldir. Kriyoinjury yöntemindeki Mİ patofizyolojisi diğer yöntemlerden farklıdır çünkü akut hücre ölümü, eşlik eden iskemi olmadan kriyoinjüri sonrasında ortaya çıkar. Hücre içi ve dışı boşlukta ve vaskülatürde buz kristallerinin oluşmasıyla indüklenen mekanik kuvvetlerden kaynaklanmaktadır. Bu yöntem miyokardiyal onarım için intrakardiyak hücre nakli üzerine araştırmalar için kullanılmıştır. Çünkü nakledilen hücre iyi tanımlanmış yerlerine kolayca enjekte edilir ve vasküler reperfüzyonun varlığı hücresel onarım için faydalıdır (58).

Neticede birçok hayvan modeli, kardiyovasküler hastalıklarla ilgili klinik durumu taklit etmek için tasarlanmıştır. İyi bir hayvan modeli yeniden üretilebilir olmalı, tutarlı bir hasar sağlayabilmeli ve insanlardaki klinik durumu iyi yansıtmalıdır. Çalışmalarda hiçbir istatistiksel veri Mİ'nin tüm yönlerini incelemek için en iyi yöntemi veya Mİ'yi indüklemek için en sık kullanılan yöntemi göstermemiştir. Her yöntem iske-miyi indüklemek için farklı bir yaklaşım sunar. Örneğin, LAD, izoprenalin ve kriyoinjury oklüzyonu akut Mİ'yi taklit etmek için uygun yön-

temlerdir, ameroid daraltıcı ve hidrolik oklüder Mİ'nin etkisini incelemek için daha uygundur. Küçük hayvanlarda MI yapmak için LAD, izoprenalin, kriyoinjury oklüzyonu seçilebilir, oysa büyük hayvanlar için LAD oklüzyonu, koroner arter embolizasyonu, balon kateterizasyonu ve ameroid daraltıcı modelleri tercih edilmektedir. Bununla birlikte, kimyasal ajanlardan izoprenalin Mİ'yi indüklemek için en yaygın kullanılan yöntemdir. İzoprenalin seçici olmayan  $\beta 1$  ve  $\beta 2$  reseptörüne etki ettiğinden, izoprenalin merkezi sinir sistemi, gastrointestinal, endokrin ve metabolik sistem gibi diğer sistemleri de etkileyebilir. LAD'nin koroner ligasyonu deney hayvanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, cerrahi prosedür ve anestezi ile ilgili komplikasyonu en aza indirmek için torakotomi tekniği, oklüzyon şiddeti, anestezi ajanı ve ventilasyon tekniği geliştirilmelidir. Kardiyovasküler alanda araştırmacılara büyük ölçüde yardımcı olması açısından Mİ'yi indükleme yöntemleri geliştirilmeye açık bir alandır.

### **KAYNAKLAR**

1. Getz GS, Reardon CA. Animal models of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012; 32: 1104–15.
2. Emini Veseli B, Perrotta P, De Meyer GRA, Roth L, Van der Donckt C, Martinet W, De Meyer GRY. Animal models of atherosclerosis. *Eur J Pharmacol.* 2017; 816: 3–13.
3. Plump AS, Smith JD, Hayek T, Aalto-Setälä K, Walsh A, Verstuyft JG, Rubin EM, Breslow JL. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell* 1992; 71: 343–53.
4. Bond, AR, Jackson, CL. The fat-fed apolipoprotein E knockout Mouse brachiocephalic artery in the study of atherosclerotic plaque rupture. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011; 2011: 1–10.
5. VanderLaan PA, Reardon CA, Getz GS. Site specificity of atherosclerosis: siteselective responses to atherosclerotic modulators. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 12–22.
6. Zadelaar S, Kleemann R, Verschuren L, de Vries-Van der Weij J, van der Hoorn J, Princen HM, Kooistra T. Mouse models for atherosclerosis and pharmaceutical modifiers. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27: 1706–21.
7. Gencer B, Kronenberg F, Stroes ES, Mach F. Lipoprotein(a): the revenant. *Eur Heart J.* 2017; 38: 1553–60.
8. Lawn RM, Wade DP, Hammer RE, Chiesa G, Verstuyft

- JG, Rubin EM. Atherogenesis in transgenic mice expressing human apolipoprotein(a). *Nature* 1992; 360: 670–2.
9. Curtiss LK, Boisvert WA. Apolipoprotein E and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2000; 11: 243–51.
  10. Sehayek E, Shefer S, Nguyen LB, Ono JG, Merkel M, Breslow JL. Apolipoprotein E regulates dietary cholesterol absorption and biliary cholesterol excretion: studies in C57BL/6 apolipoprotein E knockout mice. *PNAS.* 2000; 97: 3433–7.
  11. Reddick RL, Zhang SH, Maeda, N. Atherosclerosis in mice lacking apo E. evaluation of lesional development and progression. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 1994;14: 141–7.
  12. Nakashima Y, Plump AS, Raines EW, Breslow JL, Ross R. ApoE-deficient mice develop lesions of all phases of atherosclerosis throughout the arterial tree. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1994; 14: 133–40.
  13. Jawien J, Nastalek P, Korbut R. Mouse models of experimental atherosclerosis. *J Physiol Pharmacol.* 2004; 55: 503–17.
  14. Rattazzi M, Bennett BJ, Bea F, Kirk EA, Ricks JL, Speer M, Schwartz SM, Giachelli CM, Rosenfeld ME. Calcification of advanced atherosclerotic lesions in the innominate arteries of ApoE-deficient mice: potential role of chondrocyte-like cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 1420–5.
  15. Smith JD, Breslow JL. The emergence of mouse models of atherosclerosis and their relevance to clinical research. *J Intern Med.* 1997; 242: 99–109.
  16. Sasaki T, Kuzuya M, Nakamura K, Cheng XW, Shibata T, Sato K, Iguchi A. A simple method of plaque rupture induction in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.* 2006; 26: 1304–9.
  17. von der Thusen JH, van Berkel TJ, Biessen EA. Induction of rapid atherogenesis by perivascular carotid collar placement in apolipoprotein E-deficient and low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation* 2001;103: 1164–70.
  18. Defesche, JC. Low-density lipoprotein receptor—its structure, function, and mutations. *Semin Vasc Med.* 2004; 4: 5–11.
  19. Ishibashi S, Goldstein JL, Brown MS, Herz J, Burns DK, Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice. *J Clin Invest.* 1994; 93: 1885–93.
  20. Ishibashi S, Herz J, Maeda N, Goldstein JL, Brown MS. The two-receptor model of lipoprotein clearance: tests of the hypothesis in “knockout” mice lacking the low density lipoprotein receptor, apolipoprotein E, or both proteins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91: 4431–5.
  21. Knowles JW, Maeda N. Genetic modifiers of atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 2336–45.
  22. Hartvigsen K, Binder CJ, Hansen LF, Rafia A, Juliano J, Horkko S, Steinberg D, Palinski W, Witztum JL, Li AC. A diet-induced hypercholesterolemic murine model to study atherogenesis without obesity and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 878–85.
  23. Véniant MM, Withycombe S, Young SG. Lipoprotein size and atherosclerosis susceptibility in Apoe<sup>-/-</sup> and Ldlr<sup>-/-</sup> mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 1567–70.
  24. Bonthu S, Heistad DD, Chappell DA, Lamping KG, Faraci FM. Atherosclerosis, vascular remodeling, and impairment of endothelium-dependent relaxation in genetically altered hyperlipidemic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 2333–40.
  25. Witting PK, Pettersson K, Ostlund-Lindqvist AM, Westerlund C, Eriksson AW, Stocker R. Inhibition by a coantioxidant of aortic lipoprotein lipid peroxidation and atherosclerosis in apolipoprotein E and low density lipoprotein receptor gene double knockout mice. *FASEB J.* 1999; 13: 667–75.
  26. Lutgens E, Daemen M, Kockx M, Doevendans P, Hofker M, Havekes L, Wellens H, de Muinck ED. Atherosclerosis in APOE\*3-Leiden transgenic mice: from proliferative to atheromatous stage. *Circulation.* 1999; 99: 276–83.
  27. van Vlijmen BJ, van den Maagdenberg AM, Gijbels MJ, van der Boom H, HogenEsch H, Frants RR, Hofker MH, Havekes LM. Diet-induced hyperlipoproteinemia and atherosclerosis in apolipoprotein E3-Leiden transgenic mice. *J Clin Invest.* 1994; 93: 1403–10.
  28. Zou Y, Dietrich H, Hu Y, Metzler B, Wick G, Xu Q. Mouse model of venous bypass graft arteriosclerosis. *Am J Pathol.* 1998; 153: 1301–10.
  29. Lardenoye JH, Delsing DJ, de Vries MR, Deckers MM, Princen HM, Havekes LM, van Hinsbergh VW, van Bockel JH, Quax PH. Accelerated atherosclerosis by placement of a perivascular cuff and a cholesterol-rich diet in ApoE\*3Leiden transgenic mice. *Circ Res.* 2000; 87: 248–53.
  30. Lardenoye JHP, de Vries MR, Löwik CW, Xu Q, Dhore CR, Cleutjens JP, van Hinsbergh VW, van Bockel JH, Quax PH. Accelerated atherosclerosis and calcification in vein grafts: a study in APOE\*3 Leiden transgenic mice. *Circ Res.* 2002; 91: 577–84.
  31. Bjorklund MM, Hollensen AK, Hagensen MK, Dagnaes-Hansen F, Christoffersen C, Mikkelsen JG, Bentzon JF. Induction of atherosclerosis in mice and hamsters without germline genetic engineering. *Circ Res.* 2014; 114: 1684–9.
  32. Denis M, Marcinkiewicz J, Zaid A, Gauthier D, Poirier S, Lazure C, Seidah NG, Prat A. Gene inactivation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces atherosclerosis in mice. *Circulation.* 2012; 125: 894–901.
  33. Suhy DA, Kao SC, Mao T, Whiteley L, Denise H, Souberbielle B, Burdick AD, Hayes K, Wright JF, Lavender H, Roelvink P, Kolykhalov A, Brady K, Moschos SA, Hauck B, Zeleniaia O, Zhou S, Scribner C, High KA, Renison SH, Corbau R. Safe, long-term hepatic expression of anti-HCV shRNA in a nonhuman primate model. *Mol Ther.* 2012; 20: 1737–49.
  34. Zsebo K, Yaroshinsky A, Rudy JJ, Wagner K, Greenberg B, Jessup M, Hajjar RJ. Long-term effects of AAV1/SERCA2a gene transfer in patients with severe heart failure: analysis of recurrent cardiovascular events and mortality. *Circ Res.* 2014; 114: 101–8.
  35. Roche-Molina M, Sanz-Rosa D, Cruz FM, Garcia-Prie-

- to J, Lopez S, Abia R, Muriana FJ, Fuster V, Ibanez B, Bernal JA. Induction of sustained hypercholesterolemia by single adeno-associated virus-mediated gene transfer of mutant hPCK9. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015; 35: 50–9.
36. Van Herck JL, De Meyer GRY, Martinet W, Van Hove CE, Foubert K, Theunis MH, Apers S, Bult H, Vrints CJ, Herman AG. Impaired fibrillin-1 function promotes features of plaque instability in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* 2009; 120: 2478–87.
  37. Van der Donckt C, Van Herck JL, Schrijvers DM, Vanhoutte G, Verhoye M, Blockx I, Van Der Linden A, Bauters D, Lijnen HR, Sluimer JC, Roth L, Van Hove CE, Franssen P, Knaapen MW, Hervent AS, De Keulenaer GW, Bult H, Martinet W, Herman AG, De Meyer GRY. Elastin fragmentation in atherosclerotic mice leads to intraplaque neovascularization, plaque rupture, myocardial infarction, stroke, and sudden death. *Eur Heart J.* 2015; 36: 1049–58.
  38. Fulop T, Larbi A, Fortun A, Robert L, Khalil A. Elastin peptides induced oxidation of LDL by phagocytic cells. *Pathol Biol (Paris).* 2005; 53: 416–23.
  39. Gough PJ, Gomez IG, Wille PT, Raines EW. Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2006; 116: 59–69.
  40. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN, Wrenn SP, Narula J. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 2054–61.
  41. Rademakers T, Douma K, Hackeng TM, Post MJ, Sluimer JC, Daemen MJAP, Biessen EAL, Heeneman S, van Zandvoort MAMJ. Plaque-associated vasa vasorum in aged apolipoprotein E-deficient mice exhibit proatherogenic functional features in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33: 249–56.
  42. Fan J, Watanabe T. Cholesterol-fed and transgenic rabbit models for the study of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2000; 7: 26–32.
  43. Watanabe Y. Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHLrabbit). *Atherosclerosis.* 1980; 36: 261–8.
  44. Brousseau ME, Hoeg JM. Transgenic rabbits as models for atherosclerosis research. *J Lipid Res.* 1999; 40: 365–75.
  45. Niimi M, Yang D, Kitajima S, Ning B, Wang C, Li S, Liu E, Zhang J, Eugene Chen Y, Fan J. ApoE knockout rabbits: a novel model for the study of human hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2016; 245: 187–93.
  46. Shim J, Al-Mashhadi RH, Sorensen CB, Bentzon JF. Large animal models of atherosclerosis—new tools for persistent problems in cardiovascular medicine. *J Pathol.* 2016; 238: 257–66.
  47. Rona G. Catecholamine cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol.* 1985; 17: 291–306.
  48. Shukla AC, Steven JM, Jr FXM. Cardiac Physiology and Pharmacology. In: *A Pract. Anaesth. Infants Child*, Philadelphia: Saunders; 2009, Pp. 361–95.
  49. Ribeiro D, Buttros J, Oshima C, Bergamaschi C, Campos R. Ascorbic acid prevents acute myocardial infarction induced by Isoproterenol in rats: role of nitric oxide synthase production. *J Mol Histol.* 2009; 40: 99–105.
  50. Shikalgar TS, Naikwade NS. Evaluation of cardioprotective activity of fulvic acid against isoproterenol induced oxidative damage in rat myocardium. *Int Res J Pharm.* 2018; 9: 71–80.
  51. Brady S, York M, Scudamore C, Williams T, Griffiths W, Turton J. Cardiac Troponin I in isoproterenol-induced cardiac injury in the hanover wistar rat: studies on low dose levels and routes of administration. *Toxicol Pathol.* 2010; 38: 287–91.
  52. Wang J, Bo H, Meng X, Wu Y, Bao Y, Li Y. A simple and fast experimental model of myocardial infarction in the mouse. *Texas Hear Inst J.* 2006; 33: 290–3.
  53. Altıntaş Aykan D, Seyithanoğlu M, Kazancı Ü. Disease-Modifying Antirheumatic Drugs and Remote Ischemic Postconditioning Ameliorate for Myocardial Injury in Rats Under Cerebral Stroke. *Erciyes Med J* 2019; 41: 429–34
  54. Verma S, Fedak PWM, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A, et al. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. *Circulation.* 2002; 105: 2332–6.
  55. Isorni MA, Casanova A, Piquet J, Bellamy V, Pignon C, Puymirat E, Menasche P. Comparative analysis of methods to induce myocardial infarction in a closed-chest rabbit model. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 893051
  56. Hu F, Zhai N, Gao W, Wu P, Luo Y, Pan D, et al. Outer balloon ligation increases success rate of ischemia-reperfusion injury model in mice. *PLoS One.* 2016; 11: e0167631.
  57. Keeran KJ, Jeffries KR, Zetts AD, Taylor J, Kozlov S, Hunt TJ. A chronic cardiac ischemia model in swine using an ameroid constrictor. *J Vis Exp.* 2017; (128).
  58. Van Den Bos EJ, Mees BME, De Waard MC, De Crom R, Duncker DJ. A novel model of cryoinjury-induced myocardial infarction in the mouse: a comparison with coronary artery ligation. *Am J Physiol Hear Circ Physiol.* 2005; 289: 1291–300.