

the pancreas can develop because of malnutrition. The aim of the study is to elucidate the effect of hypocaloric nutrition on the morphofunctional state of the exocrine portion of the pancreas in rats. Materials and methods. The experiment was carried out on 20 rats, divided into 2 groups of 10 rats in each. The group 1 included rats kept on hypocaloric diet (57.4 calories per day). This group was exposed to modeled alimentary protein deficiency. The animals of the control group (group 2) received a balanced diet (104.5 calories per day). In a biochemical study, a spectrometric method was used to assess the levels of lipase and α -amylase in blood serum, and an immunoturbidimetric method for determining the level of α 1-antitrypsin. All the obtained digital data were processed by the single-factor analysis of variance. All procedures on animals, as well as the removal of animals from the experiment by decapitation, were performed under anesthesia using thiopental anesthesia in accordance with national generally accepted ethical principles. Results of research. Changes in the caloric content of the ration of animals caused morphological changes in the pancreas in the rats of the main group that probably contributed to functional changes in the disturbance of the secretory activity of the pancreas. Analysis of the exocrine activity of the pancreas in rats has shown that 100% of the animals in the group 1 demonstrate a deviation of the level of enzyme from the normative values that indicates exocrine pancreatic dysfunction. Such biochemical changes in blood serum of the animals of the main group are most likely a consequence of prolonged hypertrypsinemia, which is caused by insufficient activity of the blood plasma antiproteinase system due to protein deficiency in the diet, as well as active consumption of plasma inhibitors. Hyperenzymemia in rats receiving hypocaloric nutrition is probably due to a stimulating neurohumoral effect on the acinocytes, for example "vagotonia," and damage to pancreatic cells or the consequence of the "enzyme evasion phenomenon". Conclusions. Hypocaloric nutrition negatively affects the function of the exocrine part of the pancreas, causing its hyperfunctioning, as indicated by an increase in the level of enzymes. Due to the long-term hypertrypsinemia, the antiprotease system is depleted, causing intoxication and damage cells of the body by the active enzymes of the pancreas. Unbalanced nutrition is a risk factor for the pathology of the pancreas with subsequent involvement of other systems and organs in the pathological process.

УДК 616.12:616-092.9

Пономарьова І.В., Бакуновський О.М, Портниченко А.Г.

МОДЕЛЮВАННЯ КАРДІОМІОПАТІЇ ТАКОТСУБО У ЩУРІВ ПЕРЕДСТАРЕЧОГО ВІКУ

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ

Синдром такотсубо клінічно проявляється ознаками гострого коронарного синдрому з елементами гострої серцевої недостатності. Також відомий як синдром апікального балонування, стресова кардіоміопатія і "синдром розбитого серця". Вперше захворювання було описано в 1991 р. На сьогодні визначені критерії діагностики синдрому, але патофізіологічні механізми його розвитку потребують дослідження. Експериментальні моделі на гризунах, що існують, розроблені на щурах-самцях молодого віку, що не відповідає епідеміології синдрому. Метою роботи була розробка експериментальної моделі захворювання шляхом фармакологічної стимуляції β 2-адренорецепторів, наближеної до клінічної патології. Методи. Експерименти проведено на щурах-самках лінії Вістар передстаречого віку (18 місяців), що відповідає статеві-віковим критеріям синдрому. Агоніст β 2-адренорецепторів ізопреналін вводили внутрішньоочеревинно в ізотонічному розчині хлориду натрію в дозі 50 або 80 мг/кг. Реєстрували електро- та ехокардіографічні показники в динаміці експерименту. Показано, що введення ізопреналіну в дозі 50 мг/кг у щурів даної статеві-вікової групи добре відтворює ознаки захворювання за функціональними проявами та часовим перебігом патологічних порушень. Висновки. Розроблено експериментальну модель захворювання, наближену до клінічної патології, шляхом фармакологічної стимуляції β 2-адренорецепторів. Поліпшено критерії адекватності експериментальної моделі, що оптимізує можливості дослідження на її основі патофізіологічних механізмів цього захворювання.

Ключові слова: синдром такотсубо; експериментальна модель, стресова кардіоміопатія, β 2-адренорецептори, ізопреналін.

Вступ

Синдром такотсубо (СТ) клінічно проявляється ознаками гострого коронарного синдрому з елементами гострої серцевої недостатності за наявності незначущого ураження коронарних судин або його відсутності. Вперше цей синдром був описаний Sato і співавт. у 1991 р. [1]. Назва "такотсубо" обумовлена візуальною схожістю ехокардіографічних змін лівого шлуночка в гострий період захворювання із формою посуду, що

використовується в Японії. В західній популяції «минущу дисфункцію лівого шлуночка, зумовлену емоційним стресом» описали Pavin і співавт. у 1997 р. [2]. В літературі зустрічається також терміни «синдром апікального балонування» [3], «стресова кардіоміопатія» [4], «синдром розбитого серця» [5]. Останні назви вказують на зв'язок захворювання із фізичним або психологічним стресом.

Довгий час вважалось, що захворювання має

доброякісний перебіг. Але, згідно з останніми даними, госпітальна летальність при СТ може наближатись до рівня летальності при гострому інфаркті міокарда [6;7;8;9]. Хоча специфічні анатомічні зміни лівого шлуночка у вигляді апікального балонування не реєструються при повторному ехокардіографічному дослідженні через 1-6 місяців і систолічна функція залишається збереженою, наразі віддалений прогноз не вважається абсолютно сприятливим [10;11]. Зберігається дисфункція автономної регуляції серцевої діяльності у віддаленому періоді [12]. У пацієнтів середнього віку частіше реєструються аритмії, що загрожують життю, а у літніх пацієнтів частіше розвивається серцева недостатність [13].

Незважаючи на наявність різних концепцій розвитку захворювання, патогенез синдрому такотсубо вважається недостатньо вивченим. Одним з основних патогенетичних механізмів вважається «катехоламіновий вибух» внаслідок дії сильного стресового фактора. Безпосередня дія циркулюючих катехоламінів (адреналіну і норадреналіну), а також катехоламінів, що виділяються з нервових закінчень, індукує сигнальні каскади в серці, викликаючи специфічні зміни. Окрім патологічної дії катехоламінів патофізіологічними механізмами є мікросудинна дисфункція, недостатність естрогену, спазм коронарних артерій, гемодинамічні зміни у вигляді обструкції вихідного тракту лівого шлуночка [14].

Існує кілька експериментальних моделей синдрому такотсубо. Всі моделі, спрямовані на реалізацію концепції «катехоламінового вибуху», проте мають свої недоліки.

– Стрес-індуковані зміни міокарду внаслідок іммобілізації щурів. Перевагою методу є дотримання етіопатогенетичних критеріїв [15]. Але, за даними різних авторів, характерні зміни лівого шлуночка у вигляді балонування виникають після 30-хв. іммобілізації лише у комбінації з фармакологічними агентами (α 2-агоніст адренорецепторів), що може спотворювати показники гемодинаміки і результати дослідження [16]. Слід також зазначити, що окрім кардіальних змін іммобілізація щурів сприяє виникненню виразок шлунка і підвищенню капілярної проникності [17], що може негативно впливати на гемодинамічні параметри.

– Лігація передньої міжшлуночкової артерії (ПМША). Характерні функціональні порушення лівого шлуночка при синдромі такотсубо у вигляді вираженого гіпокінезу верхівки нагадують такі, що виникають при оклюзії ПМША. Однак при порівнянні гемодинамічних змін, що виникають у цьому випадку, зі змінами при фармакологічній стимуляції адренорецепторів, було доведено формування двох різних гемодинамічних профілів [18]. Таким чином, оклюзія ПМША не є референтною моделлю формування синдрому такотсубо.

– Фармакологічна стимуляція кардіальних адренорецепторів. Надмірна стимуляція адре-

норецепторів в результаті «катехоламінового шторму» у відповідь на стрес є одним з провідних патофізіологічних механізмів розвитку синдрому такотсубо [4;9]. За даними деяких авторів, після введення агоністів β -адренорецепторів реєструються характерні зміни лівого шлуночка у вигляді апікального балонування [19]. Фармакологічне моделювання синдрому такотсубо має переваги: економічна і часова ефективність, вірогідне досягнення характерних змін лівого шлуночка, відсутність сторонніх ефектів і ураження інших органів.

Разом з тим, експериментальне моделювання захворювання вимагає дотримання вимог відповідності основним критеріям патології, що моделюється. Реперними критеріями експериментальної моделі є: вік і стать тварин; препарат, доза, кратність і шлях введення; методи підтвердження патології, а саме - реєстрація кардіальних змін, що є ключовими для даного захворювання; хронологічні терміни реєстрації змін. Однак і моделі синдрому такотсубо, що існують, розроблені на тваринах невідповідного віку і статі (молоді самці щурів), що погіршує критерії адекватності експериментальної моделі та зменшує можливості дослідження на її основі патофізіологічних механізмів цього захворювання.

Робота є частиною планової НДР «Механізми розвитку та компенсації гіпоксичних та оксидативних тканинних пошкоджень при нейродегенеративних і метаболічних розладах» (2017-2019 рр.).

Мета

Розробити метод експериментального моделювання синдрому такотсубо шляхом фармакологічної стимуляції β 2-адренорецепторів, наближений до клінічної патології.

Матеріали та методи досліджень

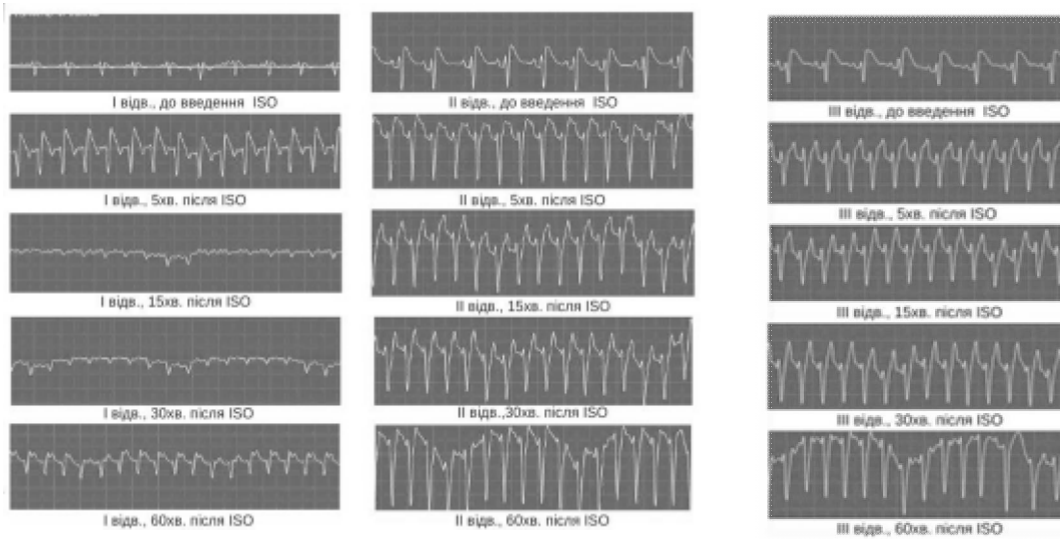
Для моделювання синдрому такотсубо було обрано метод фармакологічної стимуляції шляхом введення агоніста β 2-адренорецепторів ізопреналіну. Експерименти проведено на щурах-самках лінії Вістар передстаречого віку (18 місяців). Щури були наркотизовані введенням комбінованого розчину ketamine-xylazine у відповідних дозах 80 мг/кг і 10мг/кг інтраперитонеально. Після досягнення хірургічної стадії наркозу (зникнення педального рефлексу) розпочинали реєстрацію ЕКГ в динаміці експерименту за допомогою голкових електродів, які вводили підшкірно. Ізопреналін ((-)-Isoprenaline hydrochloride, Sigma, США) вводили внутрішньоочеревинно в ізотонічному розчині хлориду натрію в дозі 50 або 80 мг/кг. Ехокардіографічні дослідження проводили в динаміці після введення ізопреналіну за допомогою УЗД-сканера для тварин M7 Vet Mindray. УЗД дослідження серця проводилось в проекції довгої вісі лівого шлуночка з візуалізацією мітрального клапана і вихідного тракту.

Результати та їх обговорення

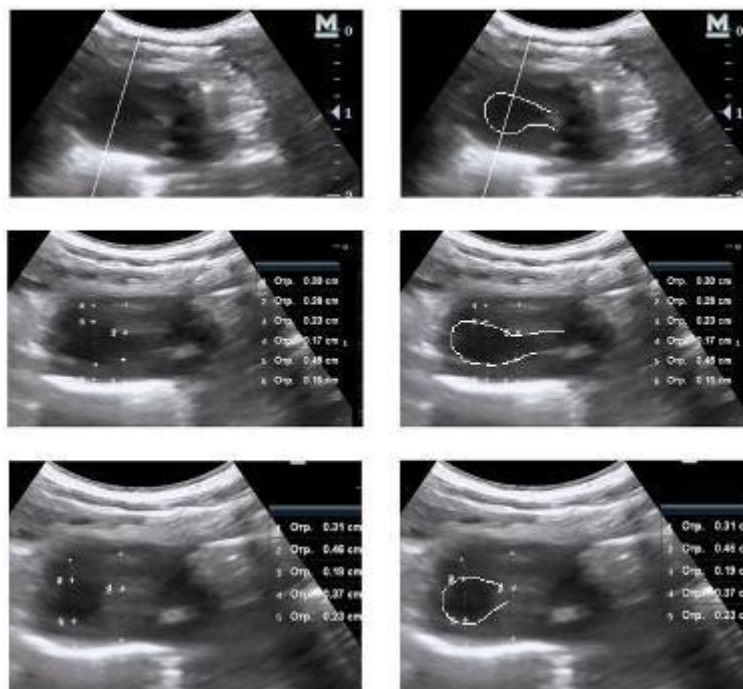
Виявлено, що введення шурам-самкам передстаречого віку ізопреналіну в дозі 80 мг/кг викликало 100% летальність тварин протягом 0,5-24 год. після введення. Таким чином, доза катехоламінового впливу, прийнятна для молодих щурів [19], є надмірною для тварин старшого віку. Застосована доза 50 мг/кг викликала 30% летальність і характеризувалася відповідними електрокардіографічними змінами протягом 60 хв. реєстрації (мал.1). На ЕКГ зареєстровано подовження інтервалу QT і виражену елевацію сегмента ST в II і III відведеннях. Елевація сегмента ST в I відведенні, зареєстрована на 5 хв., змінилась зникненням зубця R і формуванням зубця QS на 15, 30 і 60 хв. Вже через 5 хв. після вве-

дення ізопреналіну реєструвалось збільшення ЧСС в середньому на 50% (200 уд/хв. в спокої і 300 уд/хв після фармакологічного втручання).

Ехокардіографічні зміни були найбільш виразними через 3 год після введення ізопреналіну та вказували на характерну балонну деформацію та дисфункцію верхівки лівого шлуночка (мал. 2). При ехокардіографічному дослідженні привертала увагу зміни сегментарної скоротливості лівого шлуночка у вигляді вираженого гіперкінезу базальних відділів з формуванням обструкції вихідного тракту і значним гіпокінезом верхівкових відділів. Фракція викиду, визначена в М-режимі на рівні верхівкових відділів, складала менше 20%, що відповідає значному зниженню в порівнянні з нормою (70%).



Мал. 1. Динаміка електрокардіографічних змін у щурів після введення 50 мг/кг ізопреналіну.



Мал. 2. Ехокардіографічні зміни в серці щурів через 3 год. після введення 50 мг/кг ізопреналіну (світлою кривою позначено апікальну балонну дисфункцію).

Одержані результати відповідають висунутим у 2015 р. Європейською асоціацією кардіологів критеріям стресової кардіоміопатії: транзиторні порушення регіональної скоротливості міокарду лівого або правого шлуночка, яким часто передує стресовий фактор; зміни на ЕКГ (елевація або депресія сегменту ST, інвертований зубець T, подовження сегменту QT), що вперше виникли і є транзиторними протягом гострої фази захворювання; відновлення скоротливої функції серця за даними кардіовізуалізації при повторному обстеженні (через 3-6 місяців) [9]. Відповідність результати дослідження вказаним критеріям свідчать про адекватність розробленої нами моделі.

Метод відтворення синдрому такотсубо у гризунів, вперше описаний Shao та співавт. (2013) відповідає перебігу даного захворювання у людини [19]. А саме, введення ізопреналіну викликало тривалу гіпокінезію верхівки серця, яка виникала протягом 100 хв. і тривала до 10 днів. Однак дозування ізопреналіну в досліді на самцях варіює від 50 до 450 мг/кг, а результати різних авторів щодо малих доз препарату мають відмінності [19;20]. Використана нами доза 50 мг/кг ізопреналіну в досліді на самках є ефективною, а одержані нами часові параметри розвитку дисфункції серця після введення препарату добре відповідають клінічному перебігу захворювання.

Епідеміологія кардіоміопатії такотсубо вказує на ураження переважно жінок постменопаузального віку [6], для яких характерна висока чутливість до дії катехоламінів внаслідок зниження рівня естрогенів і, як наслідок, їх кардіопротекторної дії. Однак дана категорія жінок залишається менш чутливою до адренергічної стимуляції, в порівнянні з чоловіками аналогічної вікової групи, у яких частіше настає раптова смерть без розвитку катехоламінової дисфункції. До недавнього часу даний факт не дозволяв диференціювати синдром такотсубо від інфаркту міокарда [3;10;18]. З огляду на ці статеві-вікові відмінності патогенезу, розроблена нами модель може бути значно більш прийнятною для дослідження феноменології та механізмів кардіоміопатичних змін у жінок постменопаузального віку.

Висновки

Розроблено експериментальну модель синдрому такотсубо, наближену до клінічної патології. Поліпшено критерії адекватності експериментальної моделі, що оптимізує можливість дослідження на її основі патофізіологічних механізмів цього захворювання.

Перспективи подальших досліджень базуються на встановленні патофізіологічних механізмів розвитку кардіоміопатії такотсубо при її мо-

делюванні шляхом фармакологічної стимуляції β_2 -адренорецепторів у щурів-самок передстаречого віку.

Література

1. Dote K. Myocardial stunning due to simultaneous multivessel coronary spasms: a review of 5 cases / K. Dote, H. Sato, H. Tateishi, T. Uchida, M. Ishihara // J Cardiol. – 1991. – V. 21(2). – P. 203-214.
2. Pavin D. Human stress cardiomyopathy mimicking acute myocardial syndrome. / D. Pavin, H. Le Breton, C. Daubert // Heart. – 1997. – 78(5). – P. 509-511.
3. Tsuchihashi K. Angina Pectoris-Myocardial Infarction Investigations in Japan. Transient left ventricular apical ballooning without coronary artery stenosis: a novel heart syndrome mimicking acute myocardial infarction. Angina Pectoris-Myocardial Infarction Investigations in Japan. / K. Tsuchihashi, K. Ueshima, T. Uchida [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2001 – Jul.38(1). – P.11-18.
4. Dawson DK. Acute stress-induced (takotsubo) cardiomyopathy. / D.K. Dawson // Heart. – 2018. – Jan.104(2). – P.96-102.
5. Mukherjee A. 'Broken Heart' syndrome in Scotland: a case of Takotsubo cardiomyopathy in a recently widowed lady. / A. Mukherjee, B. Sünkel-Laing, N. Dewhurst // Scott Med J. – 2013. – Feb; 58(1). – P. 15-19.
6. Deshmukh A. Prevalence of Takotsubo cardiomyopathy in the United States. / A. Deshmukh, G. Kumar, S. Pant // Am Heart J. – 2012. – Jul.164(1). – P. 66-71.
7. Brinjikji W. In-hospital mortality among patients with takotsubo cardiomyopathy: a study of the National Inpatient Sample 2008 to 2009. / W. Brinjikji, A.M. El-Sayed, S. Salka // Am Heart J. – 2012. – V.164(2). – P.215-221.
8. Sharkey S.W. A Clinical Perspective of the Takotsubo Syndrome. / Sharkey S.W. // Heart Fail Clin. – 2016. – Oct.12(4). – P. 507-520.
9. Lyon A.R. Current state of knowledge on Takotsubo syndrome: a Position Statement from the Taskforce on Takotsubo Syndrome of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. / A.R. Lyon, E. Bossone, B. Schneider // Eur J Heart Fail. – 2016. – Jan.18(1). – P. 8-27.
10. Sharkey S.W. Clinical Profile of Patients With High-Risk Takotsubo Cardiomyopathy. / S.W. Sharkey, V.R. Pink, J.R. Lesser // Am J Cardiol. – 2015. – 116(5). – P. 765-772.
11. Glaveckaitė S. Clinical features and three-year outcomes of Takotsubo (stress) cardiomyopathy: Observational data from one center. / S. Glaveckaitė, P. Šerpytis, D. Pečiuraitė // Hellenic J Cardiol. – 2016. – 57(6). – P. 428-434.
12. Lazzeroni D. Autonomic function in Takotsubo syndrome long after the acute phase. / D. Lazzeroni, M. Bini, P. Castiglioni // Int J Cardiol. – 2017. – V.15(231). – P. 222-224.
13. Huseynov A. Age related differences and outcome of patients with Takotsubo syndrome. / A. Huseynov, I. El-Batrawy, U. Ansari // J Geriatr Cardiol. – 2017. – V.14(10). – P. 632-638.
14. Ueyama T. Emotional stress induces transient left ventricular hypocontraction in the rat via activation of cardiac adrenoceptors: a possible animal model of 'tako-tsubo cardiomyopathy' / T. Ueyama, K. Kasamatsu, T. Hano // Circ J. – 2002. – V.66(7). – P. 712-713.
15. Williams R. Current Concepts in the Pathogenesis of Takotsubo Syndrome. / R. Williams, S. Arri, A. Prasad // Heart Fail Clin. – 2016. – V. 12(4). – P. 473-484.
16. Kuroda R. Immobilization Stress With α_2 -Adrenergic Stimulation Induces Regional and Transient Reduction of Cardiac Contraction Through Gi Coupling in Rats. / R. Kuroda, K. Shintani-Ishida, K. Unuma, K. Yoshida // Int Heart J. – 2015. – V.56(5). – P. 537-543.
17. Saxena B. Comparison of three acute stress models for simulating the pathophysiology of stress-related mucosal disease. / B. Saxena, S. Singh // Drug Discov Ther. – 2017. – V.11(2). – P. 98-103.
18. Redfors, B., Shao, Y., Ali, A., Sun, B., & Omerovic, E. (2015). Rat models reveal differences in cardiocirculatory profile between Takotsubo syndrome and acute myocardial infarction. / B. Redfors, Y. Shao, A. Ali, B. Sun, E. Omerovic // Journal of Cardiovascular Medicine. - 2015. – V. 16(9). – P. 632–638.
19. Shao Y. Novel rat model reveals important roles of β -adrenoreceptors in stress-induced cardiomyopathy. / Y. Shao, B. Redfors, M. Scharin Täng // Int J Cardiol. – 2013. – V. 168(3). – P. 1943-1950.
20. Sachdeva J, Dai W, Kloner RA. Functional and histological assessment of an experimental model of Takotsubo's cardiomyopathy. / J. Sachdeva, W. Dai, RA. Kloner // J Am Heart Assoc. – 2014. – V. 3(3). – P. 921.

Реферат

МОДЕЛИРОВАНИЕ КАРДИОМИОПАТИИ ТАКОТСУБО У КРЫС ПРЕДСТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

Пономарева И.В., Бакуновский А.Н., Портниченко А.Г.

Ключевые слова: синдром такотсубо; экспериментальная модель, стрессовая кардиомиопатия, β 2-адренорецепторы, изопреналин.

Синдром такотсубо клинически проявляется признаками острого коронарного синдрома с элементами острой сердечной недостаточности при отсутствии значимого поражения коронарных артерий. Также известен как синдром апикального баллонирования, стрессовая кардиомиопатия и "синдром разбитого сердца". Впервые заболевание было описано в 1991 г. На сегодняшний день определены критерии диагностики, но патофизиологические механизмы развития синдрома требуют дальнейшего исследования. Существующие модели на грызунах разработаны на крысах-самцах молодого возраста, что не соответствует эпидемиологии синдрома. Целью работы была разработка экспериментальной модели заболевания, приближенной к клинической патологии, путем фармакологической стимуляции β 2-адренорецепторов. Методы. Эксперименты проведены на крысах-самках линии Вистар предстарческого возраста (18 месяцев), что соответствует возрастано-половым критериям синдрома. Агонист β 2-адренорецепторов изопреналин вводили внутривентриально в изотоническом растворе хлорида натрия в дозе 50 или 80 мг/кг. Регистрировали электро- и эхокардиографические показатели в динамике эксперимента. Показано, что введение изопреналина в дозе 50 мг/кг у крыс данной возрастано-половой группы хорошо воспроизводит признаки заболевания по функциональным проявлениям и временной динамике патологических нарушений. Выводы. Разработана экспериментальная модель заболевания путем фармакологической стимуляции β 2-адренорецепторов, приближенная к клинической патологии. Улучшены критерии адекватности экспериментальной модели, что оптимизирует возможности исследования на ее основе патофизиологических механизмов данного заболевания.

Summary

MODELLING OF TAKOTSUBO CARDIOMYOPATHY IN PRESENILE RATS

Ponomaryova I.V., Bakunovskiy O.M., Portnychenko A.G.

Key words: Takotsubo syndrome; experimental model, stress cardiomyopathy, β 2-adrenergic receptors,

Takotsubo syndrome is clinically manifested by signs of acute coronary syndrome with elements of acute heart failure. It is also known as left ventricle apical ballooning, stress cardiomyopathy, and "broken heart syndrome". For the first time the disease was described in 1991. Currently an international register of patients has been established, and diagnostic criteria of the syndrome have been established. But underlying pathophysiological mechanisms are still not clearly understood. There is also a discrepancy in experimental models of the syndrome. Existing rodent models have been developed using young male rats. This point does not match the epidemiology of the syndrome. In the present study we aimed to develop an experimental model of Takotsubo syndrome which would be the most exact simulation of this clinical pathology. Methods. Experiments have been performed on female Wistar rats of presenile ages (18 months old). This corresponds to sex and age criteria of the majority of patients with the syndrome. The β 2-adrenoreceptor agonist isoprenaline was administered intraperitoneally with 0,5 ml saline solution in a dose of 50 or 80 mg/kg. Electro- and echocardiographic parameters were recorded during the experiment. Results. It has been shown that the administration of 50 mg/kg of isoprenaline in rats of this sex-age group reproduces main criteria of Takotsubo syndrome in terms of functional manifestations and the course of pathological changes. Conclusions. The experimental model of the disease similar to clinical pathology was developed using pharmacological stimulation of β 2-adrenergic receptors. Corresponding criteria for of the experimental model have been improved. The model we developed can contribute into studying pathophysiological mechanisms of Takotsubo syndrome.