



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-2-163-166>
УДК 616.127:616.124.2]-008.6-021.622-092.9

Роль β -адренорецепторов в стресс-индуцированном повреждении сердца у крыс в модели синдрома такотсубо

Б.К. Курбатов, Е.С. Прокудина

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,
634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

Актуальность. На данный момент неясен патофизиологический механизм реализации повреждения сердца при синдроме такотсубо. Остается неясна роль отдельных субтипов адренорецепторов (АР) в реализации стресс-индуцированного повреждения сердца (СИПС).

Цель: оценить роль β -АР в реализации СИПС.

Материал и методы. Исследование было выполнено на 84 крысах-самках линии Вистар. Для моделирования СИПС крысы подвергались 24-часовой иммобилизации в положении на спине. Для определения степени повреждения сердца использовали радиофармпрепарат ^{99m}Tc -пирофосфат.

Результаты. Установлено, что блокада β -АР (-)-пропранололом уменьшает степень повреждения сердца на 38,4%. Показано, что селективные блокаторы β_1 -АР атенолол и небиволол уменьшают степень аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата в сердце в 2 и 2,55 раза соответственно. Блокада β_2 -АР селективным блокатором ICI-118,551 вызывает повышение степени аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата в сердце на 34,6%. Селективный блокатор β_3 -АР L-748337 не оказывает эффекта на аккумуляцию ^{99m}Tc -пирофосфата в сердце.

Выводы. β_1 -АР участвуют в повреждающем действии стресса на сердце при иммобилизации. β_2 -АР обладают кардиопротекторным эффектом при иммобилизации. β_3 -АР не играют существенной роли в стресс-индуцированном повреждении сердца при однократном действии стрессора.

Ключевые слова:	синдром такотсубо, стресс-индуцированное повреждение сердца, иммобилизационный стресс, β -адренорецепторы.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование выполнено при поддержке гранта РНФ 18-75-00001. Эксперименты с L-748337 проводились в рамках гос. задания АААА-А15-115120910024-0.
Соответствие принципам этики:	исследование одобрено этическим комитетом Научно-исследовательского института кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 192 от 18.12.2019 г.).
Для цитирования:	Курбатов Б.К., Прокудина Е.С. Роль β -адренорецепторов в стресс-индуцированном повреждении сердца у крыс в модели синдрома такотсубо. <i>Сибирский медицинский журнал</i> . 2020;35(2):163–166. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-2-163-166 .

The role of β -adrenergic receptors in stress-induced cardiac injury in a rat model of Takotsubo syndrome

Boris K. Kurbatov, Ekaterina S. Prokudina

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

Introduction. The pathophysiological mechanisms of cardiac injury in Takotsubo syndrome are currently poorly understood. The role of adrenergic receptor (AR) subtypes in the development of stress-induced myocardial injury (SIMI) remains unclear.

✉ Курбатов Борис Константинович, bobersanker@gmail.com.

Aim. To assess the role of β -ARs in the development of SIMI.

Material and Methods. The study was performed using female Wistar rats ($n = 84$). Rats were subject to 24-hour immobilization in the supine position to simulate SIMI. ^{99m}Tc -pyrophosphate radiopharmaceutical was used to determine the degree of cardiac injury.

Results. The study showed that β -AR blockade with propranolol reduced the degree of cardiac injury by 38.4%. Selective β_1 -AR antagonists, atenolol and nebivolol, led to 2.00- and 2.55-fold decreases in ^{99m}Tc pyrophosphate accumulation in the heart, respectively. Blockade of β_2 -ARs by a selective antagonist ICI-118.551 caused an increase in the degree of ^{99m}Tc -pyrophosphate accumulation in the heart by 34.6%. A selective β_3 -AR antagonist L-748337 did not affect ^{99m}Tc pyrophosphate accumulation in the heart.

Conclusions. The study showed that β_1 -ARs are involved in the damaging effects of stress on the heart during immobilization stress. β_2 -AR had a cardioprotective effect in immobilization. β_3 -AP did not play a significant role in the stress-induced cardiac injury with a single exposure to the stressor.

Keywords:	Takotsubo syndrome, stress-induced cardiac injury, immobilization stress, β -adrenergic receptors.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	This work was done with the support of the Russian Science Foundation 18-75-00001. The section on L-748337 was performed within the framework of the state task AAAA-A15-115120910024-0.
Adherence to ethical standards:	The study was approved by the Ethics Committee of the Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (protocol No. 192 from 18.12.2019).
For citation:	Kurbatov B.K., Prokudina E.S. The role of β -adrenergic receptors in stress-induced cardiac injury in a rat model of takotsubo syndrome. <i>The Siberian Medical Journal</i> . 2020;35(2):163–166. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-2-163-166 .

Актуальность

Стресс является адаптивной реакцией на раздражитель, однако при чрезмерной силе и длительности воздействия стресс-агентов он теряет свои защитные функции и начинает проявлять себя как патологическая реакция. Еще в 40-х годах XX века было выдвинуто предположение об участии стресса во внезапной сердечной смерти [1, 2]. В 1946 г. A.R. Moritz и N. Zamcheck сообщили о повышении частоты внезапной сердечной смерти у солдат во время Второй мировой войны [1], а W.B. Cannon описывал случаи внезапной сердечной смерти у людей с «мистическим мышлением» при «проклятиях» [2]. Теория возникновения стресс-реакции получила свое развитие в работах Г. Селье [3]. Экспериментальное подтверждение существования стресс-индуцированного повреждения сердца (СИПС) было получено только в 1974 г. G. Johansson и соавт. [4]. Интерес к СИПС возобновился после того, как H. Sato и соавт. обнаружили аналог данного состояния у человека. Это состояние получило название «синдром такотсубо» (СТ) ввиду схожести формы левого желудочка сердца после стресса с японской лопушкой для осьминогов. Данному состоянию свойственна не только дилатация левого желудочка, но и сократительная дисфункция, умеренное повышение содержания в крови маркеров некроза миокарда, подъем или депрессия сегмента ST, инверсия зубца T, удлинение интервала QTc [5–7]. На данный момент одним из главенствующих механизмов развития СИПС считается чрезмерная активация симпатической нервной системы (СНС). В экспериментальных исследованиях получены данные, позволяющие предположить участие катехоламинов в развитии СИПС. Было обнаружено, что антагонисты β -адренорецепторов (β -АР) предупреждают возникновение сократительной дисфункции миокарда, вызванной иммобилизационным стрессом или введением высоких доз адреналина [8, 9]. Вместе с тем в некоторых клинических исследованиях не

выявлена разница по 30-дневной смертности между группами пациентов с СТ, получавшими и не получавшими β -блокаторы [10]. Не удалось обнаружить статистически значимой разницы между пациентами с СТ, получавшими антагонисты β_1 -АР (атенолол, метопролол) и не получавшими β -блокаторы, по уровню маркеров некроза миокарда, фракции выброса левого желудочка, конечному диастолическому давлению в левом желудочке [11]. Таким образом, предположение об участии катехоламинов и АР в формировании повреждения миокарда при стрессе нуждается в дополнительном фактическом обосновании. В сердце представлены следующие субтипы АР: β_1 -, β_2 -, β_3 -, α_1 -, α_2 -АР, при этом β_1 -АР составляют около 80% АР. Однако остается неисследованным, через активацию каких именно субтипов АР реализуется повреждающее действие стресса.

Цель исследования: оценить роль β -АР в реализации стресс-индуцированного повреждения сердца.

Материал и методы

Исследование было выполнено на 84 крысах-самках линии Вистар. В экспериментальных группах животные подвергались иммобилизационному стрессу, в ходе которого крыс фиксировали в течение 24 ч в положении на спине. Количественную оценку СИПС осуществляли по аккумуляции радиофармпрепарата ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ) в миокарде по методу, предложенному D.G. Miller и S. Mallov [12]. Раствор ^{99m}Tc -ПФ готовился непосредственно перед применением из элюата технеция (генератор технеция ТЕКЦИС, Франция) и препарата Пирфотех (ООО Диамед, Россия). ^{99m}Tc -ПФ вводили внутривенно в дозе 100 МБк/кг через 30 мин после прекращения иммобилизации. Препараты вводили внутривенно 2 раза: за 30 мин до иммобилизации и через 12 ч после иммобилизации. Препарат ICI 118,551 вводили 3 раза с интервалом 8 ч. Для блокады β_1 - и β_2 -АР применяли

(-)-пропранолол в дозе 2,5 мг/кг. Селективный антагонист β_1 -АР атенолол использовали в дозе 1 мг/кг [13], селективный антагонист β_1 -АР небиволол – в дозе 1,2 мг/кг [14]. Селективный антагонист β_3 -АР L-748337 вводили в дозе 0,1 мг/кг, антагонист β_2 -АР ICI 118,551 в дозе 0,3 мг/кг. Статистическую обработку данных производили при помощи программного обеспечения STATISTICA 10. Для выявления статистически значимых различий использовали Н-критерий Краскела – Уоллиса с последующим применением апостериорного критерия Данна.

Результаты и обсуждение

Внутрибрюшинное введение β -блокатора (-)-пропранолола вызвало уменьшение степени аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в миокарде животных на 38,4% по сравнению с контрольными крысами (введение 0,9% р-ра NaCl), таблица. Кардиопротекторный эффект (-)-пропранолола может быть связан с тем, что β_1 -АР являются самыми распространенными АР в сердце. Селективная блокада β_1 -АР атенололом и небивололом снизила степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в 2 и 2,55 раза соответственно по сравнению с контрольными животными. Более сильный кардиопротекторный эффект небиволола можно объяснить способностью не только селективно блокировать β_1 -АР, но и активировать индуцибельную NO-синтазу в сердце [15]. Таким образом, β_1 -АР играют важную роль в развитии СИПС. Блокада β_2 -АР с помощью ICI-118,551 повысила степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 34,6% по сравнению со стресс-контролем (см. табл.). Данный эффект может быть связан с тем, что β_2 -АР сопряжены не только с Gs-белками, но и с Gi/o-белками [3], активация которых оказывает антиапоптотическое и кардиопротекторное действие при ишемии/реперфузии [16, 17]. Указанные эффекты стимуляции β_2 -АР могут реализоваться при СИПС. Блокада β_3 -АР препаратом L-748337 не оказала влияния на степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в сердце крыс. Некоторые авторы сообщают об увеличении количества β_3 -АР при многократных стрессорных воздействиях. Они связывают данный эффект с адаптацией, направленной на уменьшение эффектов, опосредованных активацией β_1 -АР [18, 19]. На основании этого можно предположить, что при однократном воздействии стрессора не происходит увеличения количества β_3 -АР в сердце.

Таблица. Влияние антагонистов β -адренорецепторов на аккумуляцию ^{99m}Tc -пирофосфата в миокарде крыс при стрессе

Table. The effects of β -AR antagonists on the accumulation of ^{99m}Tc -pyrophosphate in the rat myocardium under stress

Группы / препараты Groups / pharmacological agents	Удельное включение ^{99m}Tc , CPM/g (% от введенной дозы) Specific incorporation of ^{99m}Tc , CPM/g (% of injected dose) ($M \pm SEM$)
Интактные, $n = 12$ Intact animals, $n = 12$	0,0503 $\pm$ 0,0045
Стресс-контроль 24 ч, $n = 12$ 24h stress control, $n = 12$	0,1253 $\pm$ 0,0163
Стресс 24 ч + β -АР антагонист (-)-пропранолол, $n = 12$ 24h stress + β -AR antagonist propranolol, $n = 12$	0,0772 $\pm$ 0,0006*
Стресс 24 ч + β_1 -АР антагонист небиволол, $n = 12$ 24h stress + β_1 -AR antagonist nebivolol, $n = 12$	0,0491 $\pm$ 0,0008*
Стресс 24 ч + β_1 -АР антагонист атенолол, $n = 12$ 24h stress + β_1 -AR antagonist atenolol, $n = 12$	0,0619 $\pm$ 0,0004*
Стресс 24 ч + β_2 -АР антагонист ICI 118,551, $n = 12$ 24h stress + β_2 -AR antagonist ICI 118.551, $n = 12$	0,1687 $\pm$ 0,0017*
Стресс 24 ч + β_2 -АР антагонист L-748337, $n = 12$ 24h stress + β_3 -AR antagonist L-748337, $n = 12$	0,1269 $\pm$ 0,0019

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой стресс-контроля.

Note: CPM – count per minute. * – $p < 0.05$ as compared with the stress-control group.

Заключение

Таким образом, β -АР играют важную роль в реализации стресс-индуцированного повреждения миокарда, в частности, β_1 -АР участвуют в СИПС при иммобилизации, а стимуляция β_2 -АР эндогенными катехоламинами способствует повышению устойчивости к СИПС. β_3 -АР не участвуют в формировании СИПС.

Литература / References

- Moritz A.R., Zamcheck N. Sudden and unexpected deaths of young soldiers; diseases responsible for such deaths during World War II. *Arch. Pathol. (Chic.)*. 1946;42(5):459–494.
- Cannon W.B. "Voodoo" Death. *Am. Anthropol.* 1942;44(2):169–181. DOI: 10.1525/aa.1942.44.2.02a00010.
- Селье Г. Очерки об адапционном синдроме; пер. с англ. В.И. Кандрора, А.А. Рогова. М.: Медгиз; 1960:254.
- Selye H. Essays on adaptation syndrome; transl. V.I. Kandrora, A.A. Rogova. Moscow: Medgiz; 1960:254 (In Russ.).
- Johansson G., Jonsson L., Lannek N., Blomgren L., Lindberg P., Poupa O. Severe stress-cardiopathy in pigs. *Am. Heart J.* 1974;87(4):451–457. DOI: 10.1016/0002-8703(74)90170-7.
- Sato H., Tateishi H., Uchida T. Takotsubo-like left ventricular dysfunction due to multivessel coronary spasm. In: Clinical aspect of myocardial injury: from ischemia to heart failure. Kodama K., Haze K., Hon M., eds. Tokyo: Kagaku Hyoronsha; 1990:56–64 (In Japan.).
- Santoro F., Stiermaier T., Tarantino N., Guastafierro F., Graf T., Möller C. et al. Impact of persistent ST elevation on outcome in patients with takotsubo syndrome. Results from the German Italian Stress Cardiomyopathy (GEIST) registry. *Int. J. Cardiol.* 2018;255:140–144. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.11.068.
- Rosu D., Askandar S., Khouzam R.N. Why is reverse takotsubo "Reverse". *South. Med. J.* 2017;110(5):381–385. DOI: 10.14423/SMJ.0000000000000652.
- Takano Y., Ueyama T., Ishikura F. Azelnidipine, unique calcium channel blocker could prevent stress-induced cardiac dysfunction like α β blocker. *J. Cardiol.* 2012;60(1):18–22. DOI: 10.1016/j.jjcc.2012.01.017.
- Ishikura F., Takano Y., Ueyama T. Acute effects of beta-blocker with intrinsic sympathomimetic activity on stress-induced cardiac dysfunction in rats. *J. Cardiol.* 2012;60(6):470–474. DOI: 10.1016/j.jjcc.2012.07.004.
- Isogai T., Matsui H., Tanaka H., Fushimi K., Yasunaga H. Early β -blocker use and in-hospital mortality in patients with takotsubo cardiomyopathy. *Heart.* 2016;102(13):1029–1035. DOI: 10.1136/heartjnl-2015-308712.
- Palla A.R., Dande A.S., Petrini J., Wasserman H.S., Warshofsky M.K. Pretreatment with low-dose β -adrenergic antagonist therapy does not affect severity of takotsubo cardiomyopathy. *Clin. Cardiol.* 2012;35(8):478–481. DOI: 10.1002/clc.21983.
- Miller D.G., Mallov S. Quantitative determination of stress-induced myocardial damage in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1977;7(2):139–145. DOI: 10.1016/0091-3057(77)90198-8.
- Mallet R.T., Ryou M.G., Williams A.G., Howard L., Downey H.F. Beta1-adrenergic receptor antagonism abrogates cardioprotective effects of intermittent hypoxia. *Basic Res. Cardiol.* 2006;101(5):436–446. DOI: 10.1007/s00395-006-0599-y.

14. Loots W., De Clerck F. Differential effects of nebivolol on adrenoceptors in the heart and in resistance arterioles in the rat. Quantitative intravital microscopic analysis. *Eur. J. Pharmacol.* 1990;179(1–2):177–186. DOI: 10.1016/0014-2999(90)90416-4.
15. Maffei A., Di Pardo A., Carangi R., Carullo P., Poulet R., Gentile M.T. et al. Nebivolol induces nitric oxide release in the heart through inducible nitric oxide synthase activation. *Hypertension.* 2007;50(4):652–656. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.094458.
16. Chesley A., Lundberg M.S., Asai T., Xiao R.P., Ohtani S., Lakatta E. et al. The β_2 -adrenergic receptor delivers an antiapoptotic signal to cardiac myocytes through G(i)-dependent coupling to phosphatidylinositol 3'-kinase. *Circ. Res.* 2000;87(12):1172–1179. DOI: 10.1161/01.RES.87.12.1172.
17. Communal C., Singh K., Sawyer D.B., Colucci W.S. Opposing effects of β_1 - and β_2 -adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis: Role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation.* 1999;100(22):2210–2212. DOI: 10.1161/01.CIR.100.22.2210.
18. Germack R., Dickenson J.M. Induction of β_3 -adrenergic receptor functional expression following chronic stimulation with noradrenaline in neonatal rat cardiomyocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006;316(1):392–402. DOI: 10.1124/jpet.105.090597.
19. Laukova M., Tillinger A., Novakova M., Krizanova O., Kvetnansky R., Myslivecek J. Repeated immobilization stress increases expression of β_3 -adrenoceptor in the left ventricle and atrium of the rat heart. *Stress Health.* 2014;30(4):301–309. DOI: 10.1002/smi.2515.

Информация о вкладе авторов

Курбатов Б.К. – разработка концепции и дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи, получение, анализ и интерпретация данных.

Прокудина Е.С. – разработка концепции и дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи.

Information on author contributions

Kurbatov B.K. – development of study concept and design, verification of essential intellectual content, generation, analysis, and interpretation of data, and final approval of the manuscript for publication.

Prokudina E.S. – development of study concept and design, verification of essential intellectual content, and final approval of the manuscript for publication.

Сведения об авторах

Курбатов Борис Константинович, младший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9603-822X.

E-mail: bobersanker@gmail.com.

Прокудина Екатерина Сергеевна, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-1991-6516.

E-mail: goddess27@mail.ru.

Information about the authors

Boris K. Kurbatov, Junior Research Scientist, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-9603-822X.

E-mail: bobersanker@gmail.com.

Ekaterina S. Prokudina, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-1991-6516.

E-mail: goddess27@mail.ru.

 **Boris K. Kurbatov**, e-mail: bobersanker@gmail.com.

 **Курбатов Борис Константинович**, e-mail: bobersanker@gmail.com.

Received March 26, 2020

Поступила 26.03.2020