

Экспериментальные статьи

БАРАНОВА Е. И.¹, БОЛЬШАКОВА О. О.²,
БАГРОВ А. Я.³, НУТФУЛЛИНА Г. М.¹,
КУЗНЕЦОВА И. А.¹, МИНАСЯН С. М.²,
ЮСИПОВА Т. Х.¹

Влияние дроспиренона на процессы ремоделирования сердечно-сосудистой системы в условиях искусственной менопаузы в эксперименте

¹ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. акад. В. А. Алмазова

³ Национальный институт старения, Балтимор, США

e-mail: d.nutfullina@mail.ru

Реферат

Представлены данные о морфологических особенностях ремоделирования сердечно-сосудистой системы в условиях искусственной менопаузы и влияния на них дроспиренона — синтетического прогестерона, обладающего антиминералокортикоидным эффектом. У большинства нормотензивных крыс после овариоэктомии зарегистрирована гипертрофия левого желудочка по эксцентрическому типу на фоне нормальных показателей артериального давления. При морфологическом анализе миокарда левого желудочка обращает на себя внимание выраженный периваскулярный фиброз. Терапия дроспиреноном способствует обратному развитию гипертрофии и предупреждает фиброзные изменения в миокарде, но полученные показатели не достигают исходных.

Ключевые слова: менопауза, морфология, ремоделирование, периваскулярный фиброз.

Baranova E. I.¹, Bolshakova O. O.², Bagrov A. Y.³,
Nutfullina G. M.¹, Kuznetzova I. A.¹, Minasyan S. M.²,
Yusipova T. H.¹

Effects of drospirenone on the cardiovascular remodeling in experimental menopause

¹ The Saint Petersburg State Pavlov Medical University

² V. A. Almasov Federal Heart, Blood and Endocrinology Center, Saint Petersburg

³ National Institute on aging, Baltimore, USA

e-mail: d.nutfullina@mail.ru

Abstract

The article is devoted to the morphological characteristics of the cardiovascular remodeling in experimental menopause and effects of drospirenone on it. Drospirenone is a synthetic progesterone with antimineralocorticoids activity. Most of the normotensive ovariectomized rats have developed eccentric left ventricular hypertrophy without arterial hypertension. Marked perivascular fibrosis was observed in myocardium as well. Drospirenone attenuates left ventricular hypertrophy and prevents process of the fibrosis, but these findings don't reach the control ones.

Keywords: menopause, morphology, remodeling, perivascular fibrosis.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение

Частота сердечно-сосудистой патологии у женщин значительно возрастает с наступлением менопаузального периода [9] — происходит ряд необратимых изменений в сердце и сосудах, способствующих нарушению функции желудочков и их структурной перестройке. В условиях эстрогенной и прогестероновой недостаточности отмечена тенденция к развитию концентрической гипертрофии левого желудочка — увеличение массы миокарда [5], толщины задней стенки и МЖП [5, 8]. Одной из особенностей, характерных для ремоделирования сердца в менопаузе, является нарушение диастолической функции левого и правого желудочка по ригидному типу [1, 5]. Причем данные изменения не связаны с наличием артериальной гипертензии и встречаются у исходно здоровых женщин [5, 8].

В экспериментальных работах продемонстрированы морфологические и функциональные изменения сердца в условиях овариоэктомии, более выраженные при наличии сопутствующих факторов риска сердечно-сосудистой патологии [3, 7, 14]. Исследователи указывают на развитие гипертрофии миокарда, тенденции к дилатации полостей сердца, фиброзные изменения за счет интерстициального и периваскулярного компонентов, прогрессирование диастолической дисфункции левого желудочка (ЛЖ) [3, 7, 14].

Патогенетические механизмы, лежащие в основе данных изменений, комплексны и до конца не изучены. Важная роль принадлежит снижению кардиопротективных свойств женских половых гормонов на фоне постепенного угасания функции яичников. Доказательством этого является улучшение морфофункциональных параметров сердечно-сосудистой системы на фоне заместительной гормональной терапии. По данным Сеидовой Г. Б. и др. у пациенток с климактерическими расстройствами, получающих заместительную гормональную терапию в сочетании с небольшой дозой бета-блокаторов, отмечено улучшение функционального состояния левого желудочка в виде увеличения фракции выброса, улучшения диастолической функции и уменьшения индекса массы миокарда [1].

Одним из звеньев патогенеза сердечно-сосудистой патологии в менопаузе является наличие дисфункции эндотелия, в основе которой лежат дефицит женских половых гормонов, нарушение углеводного обмена, прибавка в весе, повышение активности симпатической нервной системы и другие факторы. Нарушение функции эндотелия способствует развитию ишемических, дистрофических изменений миокарда и изменению структуры и функции желудочков [2].

На фоне гормональной перестройки происходит сдвиг соотношения женских половых гормонов к мужским в сторону тестостерона, активация симпатической нервной системы, ренин-ангиотензиновой системы с повышенной продукцией альдостерона корковым веществом надпочечников. Феномен относительного гиперальдостеронизма в менопаузальном периоде играет роль в патогенезе ремоделирования: воздействуя на неэпителиальные минералокортико-

идные рецепторы, расположенные на кардиомиоцитах, гладкомышечных и эпителиальных клетках сосудов, фибробластах, альдостерон стимулирует фиброзные процессы в тканях и участвует в развитии эндотелиальной дисфункции [11]. В клинических и экспериментальных исследованиях доказано благоприятное воздействие препаратов, обладающих антиминералокортикоидным эффектом, в виде снижения смертности от сердечно-сосудистой патологии, уменьшения гипертрофии левого желудочка и улучшения его диастолической функции [4, 6, 12].

Дроспиренон — новый синтетический прогестерон, производное спиронолактона, обладает выраженной антиминералокортикоидной и умеренной антиандрогенной активностью, по фармакологическому профилю максимально приближен к естественному прогестерону. В экспериментальных работах показано антигипертензивное воздействие дроспиренона у крыс линии SHR, в комбинации с 17-βэстрадиолом — гипотензивный эффект, уменьшение массы сердца, фиброза миокарда и снижение веса животных в условиях гиперальдостеронизма и искусственной постменопаузы [3].

Поскольку дроспиренон применяется только в комбинации с эстрадиолом для заместительной гормональной терапии, целью нашей работы было изучить морфологические особенности сердца крыс в условиях искусственной менопаузы и оценить влияние на них дроспиренона.

Материал и методы исследования

Эксперимент выполнен на нормотензивных (линии Wistar, n=30) 12-недельных самках крыс. Все животные были взяты из одного питомника и содержались в стандартных условиях, включая 12-часовой световой день, со свободным доступом к пище и воде. Исследование было начато после недельного карантина. Крысы были разделены на 3 группы — ложнопериовариованные животные, контрольная группа (линия Wistar n=8), овариоэктомизированные (линии Wistar n=8) и овариоэктомизированные с последующим введением дроспиренона (линии Wistar n=8) в дозе 0,6 мг/кг веса крыс в течение 25 дней (около 0,15 мг/крыса с последующей индивидуальной коррекцией дозы в связи с колебаниями веса). Билатеральная овариоэктомия выполнена с помощью забрюшинного доступа.

Через 28 дней после операции начато подкожное введение дроспиренона. За время эксперимента производилось взвешивание крыс и измерение артериального давления и ЧСС прямым способом (в сонной артерии). Все животные были выведены из эксперимента на 9-й неделе. Сердца крыс забирали в 10 %-м забуференный формалин. После фиксации вырезали два кусочка из миокарда: один кусочек (поперечный) в 0,2 мм от фиброзного кольца, так, чтобы срез проходил на уровне правого, левого желудочков и межжелудочковой перегородки; другой кусочек был представлен продольным срезом стенки левого желудочка. Полученный материал ткани миокарда проводили по стандартной методике, заключающейся

в обезвоживании в спиртах возрастающей крепости от 70 до 96 %, образцы заливали в парафин, а из парафиновых блоков на микротоме изготавливались срезы. Для гистологического и морфометрического анализа срезы тканей миокарда окрашивали гематоксилин-эозином и по Сириусу.

Полученные препараты оценивали по стандартным гистологическим критериям с подробным описанием особенностей миокарда каждого животного. Затем гистологические срезы фотографировали с помощью микроскопа Axioskop 40 и цифровой фотокамеры Pixsera.

Морфометрический анализ осуществлялся в программе «Видео-тест – Морфология 5,2». С каждого препарата путем последовательного сканирования делали от 8 до 11 фотографий при увеличении 630, затем «сшивали» фотографии для создания изображения поперечного разреза целого сердца.

В программе «Видео-тест – Морфология 5,2» с помощью ручных измерений определялась толщина стенки левого, правого желудочков и межжелудочковой перегородки. Измерения производились в поперечных срезах сердца с шагом для измерения 15–20 мк. Определение площади мышечного компонента и полостей левого и правого желудочков сердца производилось в режиме автоматизированного анализа (методика — определение площадей). Полученные результаты измерений заносились в таблицы, из которых формировалась база данных.

Средние величины морфометрических данных по каждому исследованию обрабатывали статистически в программе SPSS 19,0 for Windows. Сравнение данных производилось для двух независимых выборок по критерию Манна–Уитни. При этом учитывались только достоверные отличия в группах ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

1. *Масса тела.* В эксперимент были отобраны нормотензивные крысы весом 180–190 г. Вес ложнооперированных крыс через месяц незначительно увеличился и составил 226 ± 14 г, что, возможно, связано с изменением режима питания животных после забора из питомника, в дальнейшем значимых колебаний в весе контрольных животных не отмечено. Наблюдалась выраженная прибавка массы тела у крыс после операции овариоэктоми: к окончанию эксперимента вес животных достиг $339,5 \pm 14$ г. У группы крыс, получавших дроспиренон, отмечено снижение массы тела до 292 ± 14 г. Все полученные данные достоверны ($p \leq 0,05$).

2. *ЧСС.* Достоверно значимых изменений ЧСС в группах животных не наблюдалось. Измерение ЧСС производилось прямым методом (в сонной артерии) по окончании эксперимента. У ложнооперированных крыс ЧСС составила 393 ± 24 уд./мин, у группы животных, подвергшихся овариоэктоми, — 425 ± 24 уд./мин, в группе с дроспиреноном — 389 ± 24 уд./мин.

3. *Артериальное давление.* У нормотензивных крыс операция овариоэктоми не привела к повышению артериального давления (121 ± 6 мм рт. ст. vs контрольная группа 106 ± 6 мм рт. ст.), у группы крыс, получавших дроспиренон, цифры артериаль-

ного давления также были в пределах нормы (106 ± 6 мм рт. ст.).

4. *Гистологический анализ миокарда левого желудочка.* Контрольная группа (ложнооперированные): сохранена гистоархитектоника ткани — поперечная исчерченность и правильный ход мышечных волокон. Ядра большинства кардиомиоцитов расположены в центре мышечных волокон, овальной формы или приближаются к палочковидной форме с равномерным распределением хроматина. Фиброз не выражен. Эндотелий сохранной гистологической структуры.

Группа, подвергшаяся овариоэктоми: кардиомиоциты вытянутые, различной величины, поперечная исчерченность в них сохранена, увеличена как толщина самих кардиомиоцитов, так и их ядер, большинство ядер вытянутой формы, с равномерным распределением хроматина. Определяется интерстициальный и периваскулярный склероз, при этом фиброз вокруг стенок сосудов выражен больше, чем межмышечный. Эндотелиоциты вытянутой формы.

Группа животных, получавшая дроспиренон: гистоархитектоника ткани сохранена, кардиомиоциты вытянутой формы, обращает на себя внимание многообразие форм ядер (в основном округлой и вытянутой формы), наличие отдельных уменьшенных ядер с неравномерным распределением хроматина, в большинстве — распределение хроматина равномерное. Фиброзные изменения вокруг сосудов менее выражены, чем в группе с овариоэктомией.

Во всех группах исследования определяются изменения, типичные для механизма острой сердечной смерти.

5. *Морфометрия.* У нормотензивных крыс в условиях дефицита женских половых гормонов выявлено достоверное увеличение площади мышечного компонента левого желудочка, площади полости левого желудочка, толщины стенки левого желудочка и толщины межжелудочковой перегородки. Анализ всех параметров в совокупности у каждой крысы линии Wistar показал морфологические признаки гипертрофии миокарда у 62,5 % животных. Терапия дроспиреноном способствовала уменьшению всех данных параметров, но полученные данные не достигали исходных значений

Выводы

1. В условиях экспериментальной менопаузы происходит выраженная прибавка массы тела крыс, терапия дроспиреноном достоверно снижает вес животных.

2. У нормотензивных животных овариоэктомия не приводит к развитию артериальной гипертензии.

3. На фоне дефицита женских половых гормонов происходит ремоделирование сердечно-сосудистой системы, не связанное с цифрами артериального давления; дроспиренон способствует обратному развитию патологического процесса. У 62,5 % экспериментальных крыс после овариоэктомии появляются морфологические признаки гипертрофии миокарда.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

4. Гормональная перестройка, связанная с овариоэктомией, способствует развитию периваскулярного и интестициального склероза.

Нами получены достоверные данные о характере ремоделирования сердечно-сосудистой системы в условиях овариоэктомии и влияния на эти показатели дроспиренона. Несмотря на отсутствие артериальной гипертензии, в условиях дефицита женских половых гормонов у 62,5 % самок крыс развивалась гипертрофия левого желудочка по эксцентрическому типу, включающая в себя увеличение толщины стенок ЛЖ, площади миокарда с тенденцией к дилатации полости ЛЖ. При морфологическом анализе обращают на себя внимание выраженные фиброзные изменения в миокарде — за счет межклеточного и периваскулярного компонентов, с преобладанием фиброза вокруг сосудов, также происходит процесс замещения части поврежденных кардиомиоцитов соединительной тканью. Интересно отметить, что на фоне терапии дроспиреноном в средних дозах отмечается уменьшение гипертрофии ЛЖ и фиброзных изменений, но полученные данные не достигают контрольных значений.

Проведенные ранее экспериментальные работы продемонстрировали развитие и прогрессирование гипертрофии миокарда и диастолической дисфункции ЛЖ в модели искусственной менопаузы при наличии сопутствующих факторов риска сердечно-сосудистой патологии — артериальная гипертензия, перегрузка объемом (в условиях констрикции аорты), солечувствительность с высокосолевой диетой [3, 7, 14, 15]. Однако значительно меньше работ посвящено изменениям миокарда в условиях эстрогенной недостаточности у исходно здоровых крыс. У нормотензивных животных после операции наблюдаются менее выраженные изменения в миокарде, которые представлены в основном разрастанием соединитель-

ной ткани вокруг сосудов. На фоне долговременного введения эстрогенов доказано обратное развитие ремоделирования сердечно-сосудистой системы вплоть до полного блокирования фиброзного процесса [3]. При комбинации с различными видами синтетических прогестинов этот эффект может сохраняться, нивелироваться, а в некоторых случаях (в комбинации с медроксипрогестерон ацетатом) усугубляются фиброзные изменения миокарда и нарастает выраженность гипертрофии ЛЖ. Дроспиренон в сочетании с 17 β -эстрадиолом предотвращает развитие гипертрофии ЛЖ и фиброзную трансформацию миокарда [3].

В нашей работе выявлено положительное влияние дроспиренона на миокард левого желудочка в виде уменьшения количества периваскулярного и интерстициального фиброза, уменьшения толщины гипертрофированных стенок ЛЖ и площади миокарда ЛЖ. Данный эффект может опосредоваться путем блокады рецепторов к альдостерону с последующим предотвращением фиброзного процесса, что подтверждает уменьшение выраженности периваскулярного фиброза у крыс, получающих препарат.

Также дроспиренон, подобно естественному прогестерону, участвует в увеличении синтеза оксида азота путем активации сигнальных путей и непосредственного воздействия на ядро эндотелиоцитов с повышением экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота [13]. Важно отметить, что дроспиренон не обладает эстрогенной, глюкокортикоидной и агонистической андрогенной активностью.

Таким образом, в нашей работе показано, что в условиях экспериментальной менопаузы у большей части самок крыс наблюдалась гипертрофия левого желудочка без повышения артериального давления, терапия дроспиреноном способствовала обратному развитию ремоделирования левого желудочка.

Литература

1. Сеидова Г.Б., Беляков Н.А., Дорофеев В.И. Сосудистые и метаболические нарушения в развитии ишемической болезни сердца у женщин в климактерическом периоде / Сеидова Г.Б., Беляков Н.А., Дорофеев В.И. Регионарное кровообращение и микроциркуляция, 2004. Т. 3. № 1. С. 37-43.
2. Сеидова Г.Б. Дисфункция эндотелия и развитие ИБС у женщин в пре- и постменопаузе / Сеидова. Регионарное кровообращение и микроциркуляция, 2005. Т. 4. № 4. С. 13-19.
3. Paula Anahi Arias-Loza, Kai Hu, Andreas Schafer, Johann Bauersachs, Thomas Quaschnig, Jan Galle et al. Medroxyprogesterone Acetate But Not Drospirenone Ablates The Protective Function of 17 β -Estradiol in Aldosterone Salt-treated rats / Paula Anahi Arias-Loza. Hypertension 2006; 48:994-1001
4. Baldo MP, Zaniqueli D, Forechi L, Machado RC, Rodrigues SL, Mill JG. Effects of spironolactone in spontaneously hypertensive adult rats subjected to high salt intake / Baldo. Clinics (Sao Paulo): 2011;66(3):477-82
5. Mehmet Akif Düzenli, MD; Kurtulus Ozdemir, MD; Abdullah Sokmen, MD*; Ahmet Soylu, MD; Nazif Aygul, MD; Kazim Gezginc, MD*; Mehmet Tokac, MD. Effects of Menopause on the Myocardial Velocities and Myocardial Performance Index / Mehmet Akif Düzenli. Circ J 2007; 71: 1728–1733
6. Ezekowitz JA, McAlister FA. A dosterone blockade and left ventricular dysfunction: a systematic review of randomized clinical trials / Ezekowitz. Eur Heart J 2009 Feb;30(4):469-77. Epub 2008 Dec 9.
7. Groban L, Yamaleyeva LM, Westwood BM, et al. Progressive diastolic dysfunction in the female mRen(2). Lewis rat: influence of salt and ovarian hormones / Groban. J Gerontol A Bio Sci Med Sci. 2008; 63: 3-11
8. Hinderliter AL, Sherwood A, Blumenthal JA, Light KC, Girdler SS, McFetridge J, et al. Changes in hemodynamics and left ventricular structure after menopause / Hinderliter. Am J Cardiol 2002; 89: 830–833
9. Imke Janssen; Lynda H. Powell; Sybil Crawford et al. Menopause and metabolic syndrome. The study of Women's

Health Across the Nation / Imke Janssen. Arch Intern Med. 2008; 168(14):1568-1575

10. Nasip Fasil Kishali. *Exercise Effects on Menopause-Induced Changes in Heart of Ovariectomized Rats / Nasip Fasil Kishali. Journal of Animal and Veterinary Advances Year: 2011. Vol: 10, Issue: 8, Pp No.: 1073-1079*

11. Jane A. Leopold, et al. *Aldosterone, Mineralocorticoid Receptor Activation, and Cardiovascular Remodeling / Jane A. Leopold. Circulation. 2011;124:e466-e468.*

12. Roongsritong C, Sutthiwan P, Bradley J, Simoni J, Power S, Meyerrose GE. *Spironolactone improves diastolic function in the elderly / Roongsritong. Clin Cardiol 2005 Oct;28(10):484-7.*

13. T. Simoncini, X-D. Fu, A. Caruso, S. Garibaldi,

C. Baldacci, M.S. Giretti, P. Mannella, M.I. Flamini, A.M. Sanchez and A.R. Genazzani *Drospirenone increases endothelial nitric oxide synthesis via a combined action on progesterone and mineralocorticoid receptors / T. Simoncini. Human Reproduction Vol.22, No.8 pp. 2325–2334, 2007*

14. Vardo Jose Dias da Silva, Rodrigo Miranda et al. *Heart rate and arterial pressure variability and baroreflex sensitivity in ovariectomized SHR / Vardo Jose Dias da Silva. Life Sciences 84(2009) 719-724*

15. Takahiro Mori1, Hisashi Kai1, Hidemi Kajimoto2 et al. *Enhanced cardiac inflammation and fibrosis in ovariectomized hypertensive rats: a possible mechanism of diastolic dysfunction in postmenopausal women / Takahiro Mori. Hypertension Research (2011) 34, 496–502*