

КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОГЕСТИНОВ: ВЛИЯНИЕ ДРОСПИРЕНОНА НА МИОКАРД ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Лискова Ю. В.¹, Столбова М. В.¹, Стадников А. А.¹, Саликова С. П.²

Цель. Оценить влияние синтетического прогестерона — дроспиренона на ремоделирование миокарда левого желудочка (ЛЖ) овариоэктомизированных (ОЭ) крыс-самок в условиях экспериментальной сердечной недостаточности (ЭСН).

Материал и методы. Исследование проведено на 25 крысах-самках линии Wistar массой 260-300 г. 20 животным (через 2 мес. после билатеральной овариоэктомии) моделировали ЭСН путем подкожного введения в течение 14 сут. 0,1 мл 1% раствора мезатона с последующим плаванием до глубокого утомления. 4-х крыс вывели из эксперимента на 14 сут. ЭСН. 16 опытных животных с ЭСН были разделены на 3 группы: 10 крысам вводили в течение 14 сут. подкожно дроспиренон (Sigma-Aldrich, USA) в дозе 2 мг/кг (n=5) и 0,5 мг/кг (n=5), 6 животным подкожно вводили 0,2 мл 0,9% хлорида натрия ежедневно. На 28 сут. опыта животные были выведены из эксперимента. С помощью методов световой микроскопии, иммуноцитохимии, морфометрии исследовали миокард ЛЖ крыс.

Результаты. У ОЭ крыс на 14 сут. ЭСН выявлены отчетливо выраженный гетероморфизм сократительных кардиомиоцитов (КМЦ) с признаками гипертрофии и дистрофии; увеличение объемной плотности (ОП) стромы, реорганизация внеклеточного матрикса (ВМ), экспрессия металлопротеиназ-2,9 (ММП-2,9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (ТИМП-1), КМЦ с явлениями апоптоза. После моделирования ЭСН на 28 сут. в миокарде происходило дальнейшее нарастание количества КМЦ с существенно измененными морфологическими и тинкториальными свойствами, деградация компонентов ВМ миокарда. У крыс, получавших 14 сут. дроспиренон, независимо от дозы, отмечался регресс патологических изменений, происходило уменьшение степени гипертрофии КМЦ и их ядер, снижение числа КМЦ с признаками апоптоза, стабилизация компонентов ВМ миокарда.

Заключение. Обсуждаются кардиопротективные эффекты дроспиренона, способствующего даже в минимальных терапевтических концентрациях,

структурно-функциональной реабилитации миокарда в условиях дефицита половых гормонов и ЭСН.

Российский кардиологический журнал 2017, 6 (146): 152–157
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-152-157>

Ключевые слова: прогестерон, миокард, сердечная недостаточность, внеклеточный матрикс, альдостерон, дроспиренон.

¹ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург; ²ФГБ ВОУ ВО "Военно-медицинская Академия имени С. М. Кирова" Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия.

Лискова Ю. В.* — к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии им. Р.Г. Межебовского, Столбова М. В. — к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии им. Р.Г. Межебовского, Стадников А. А. — з.д.н. РФ, д.б.н., профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, Саликова С. П. — д.м.н., доцент 2-й кафедры (терапии усовершенствования врачей).

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): liskovaj@bk.ru

ВМ — внеклеточный матрикс, ИКМЦ — иммунопозитивные кардиомиоциты, КМЦ — кардиомиоциты, ЛЖ — левый желудочек, ММП — матриксные металлопротеиназы, ОП — объемная плотность, ОЭ — овариоэктомизированные, ТИМП — тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ, ЭСН — экспериментальная сердечная недостаточность, Cas-3 — каспаза-3.

Рукопись получена 28.09.2016

Рецензия получена 18.10.2016

Принята к публикации 25.10.2016

CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF PROGESTINES: INFLUENCE OF DROSPIRENONE ON MYOCARD IN EXPERIMENTAL HEART FAILURE

Liskova Yu. V.¹, Stolbova M. V.¹, Stadnikov A. A.¹, Salikova S. P.²

Aim. To assess the influence of synthetic progesterone — drospirenone, on remodeling of the left ventricle myocardium (LV) in ovariectomized (OE) female rats under circumstances of experimental heart failure (EHF).

Material and methods. The study was done on 25 female Wistar rats, mass 260-300 g. Twenty animals (in 2 months after bilateral ovariectomy) underwent modeling of EHF by subcutaneous load of 0,1% mesaton solution for 14 days with following swimming to profound exhaustion. Four rats were removed on 14th day of EHF. Sixteen experimental animals with EHF were selected to 3 groups: 10 underwent 14 days subcutaneous load of drospirenone (Sigma-Aldrich, USA), dose 2 mg/kg (n=5) and 0,5 mg/kg (n=5), 6 were being loaded saline 0,2 mL daily. On 28th day the animals were removed from the experiment. With light microscopy method, immune cytochemistry, morphometry the LV myocardium was investigated.

Results. In OE rodents on the 14th day of EHF there was clear and significant heteromorphism of contractile cardiomyocytes (CMC) with the signs of hypertrophy and dystrophy; increase of the volume density (VD) of stroma, reorganized extracellular matrix (EM), expression of metalloproteinases-2,9 (MMP-2,9) and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1), CMC with apoptosis. After remodeling of EHF at 28th day in myocardium there was further increase of

CMC number with significantly changed morphology and tinctorial properties, degradation of EM components. In rats receiving 14 days drospirenone, regardless of dosage, there was regression of pathological changes, decrease of CMC hypertrophy grade, as the nuclei, decrease of CMC with the signs of apoptosis, and stabilized EM components.

Conclusion. The cardioprotective properties of drospirenone are discussed, that even in minimal therapeutic concentrations facilitates structural and functional rehabilitation of myocardium under conditions of gonade hormones deficiency and EHF.

Russ J Cardiol 2017, 6 (146): 152–157

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-6-152-157>

Key words: progesterone, myocardium, heart failure, extracellular matrix, aldosterone, drospirenone.

¹OrSMU of the Ministry of Health, Orenburg; ²S. M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defence, Saint-Petersburg, Russia.

Известно, что менопауза способствует у женщин развитию и прогрессированию сердечно-сосудистых заболеваний, что может быть связано с дефицитом женских половых гормонов [1], хотя эта гипотеза до настоящего времени — предмет дискуссий [2].

Клинические и экспериментальные работы, посвященные данной проблеме, были в основном направлены на определение роли гипоэстрогении в инициации сердечно-сосудистой патологии [3]. Значение прогестероновой недостаточности при этом остается малоизученным, несмотря на имеющиеся доказательства кардиопротективного влияния прогестерона [4].

В настоящее время имеются данные о том, что прогестерон снижает артериальное давление, ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток коронарных артерий, имеет натрийуретический эффект и мощный сосудорасширяющий эффект за счет увеличения оксида азота [5]. Прогестерон оказывает воздействие на сердце и сосуды через “геномные” и “негеномные” механизмы [6]. Morrissy S, et al. показали, что прогестерон активирует антиоксидантные и антиапоптотические гены, ингибируя экспрессию каспазы-3 в кардиомиоцитах (КМЦ) [7]. Сердечные фибробласты, как и КМЦ экспрессируют прогестероновые рецепторы различных типов, что доказывает участие ПГ в ремоделировании также внеклеточного матрикса (ВМ) миокарда [6].

Многие клинические исследования с использованием различных синтетических прогестинов свидетельствуют об их неоднозначном воздействии на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы [4]. Было показано, что спектр фармакологической активности синтетических гестагенов определяется не только величиной собственного гестагенного влияния, но и наличием или отсутствием частичной андрогенной, антиминералокортикоидной и глюкокортикоидной активности [8]. В связи с этим, в последние годы активно изучается дроспиренон, являющийся производным 17 α -спиронолактона и обладающий фармакодинамическими свойствами натурального прогестерона [9].

В ряде экспериментальных работ исследовалось связывание дроспиренона с различными стероидными рецепторами [9]. Однако отдельные аспекты молекулярных механизмов реализации гормональной активности дроспиренона остаются недостаточно изученными. В частности, не до конца установлены геномные и негеномные механизмы действия дроспиренона на миокард.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния синтетического прогестерона — дроспиренона на ремоделирование миокарда левого желудочка (ЛЖ) овариоэктомированных (ОЭ) крыс-самок в условиях экспериментальной сердечной недостаточности (ЭСН).

Материал и методы

Исследование проведено на 25 крысах-самках линии Wistar 6 мес. возраста массой 260-300 г. 20 животным (через 2 мес. после билатеральной овариоэктомии) моделировали ЭСН путем подкожного введения в течение 14 сут. 0,1 мл 1% раствора мезатона с последующим плаванием до глубокого утомления [10]. Четырех крыс вывели из эксперимента на 14 сут. ЭСН. Шестнадцать опытных животных с ЭСН были разделены на 3 группы: 10 крысам вводили в течение 14 сут. подкожно дроспиренон (Sigma-Aldrich, USA) в дозе 2 мг/кг (n=5) и 0,5 мг/кг (n=5) чистого вещества, разведенного в смеси: 0,2 мл 0,9% хлорида натрия в 98% этаноле (9:1 объем/объем), 6 животным подкожно вводили 0,2 мл 0,9% хлорида натрия ежедневно. На 28 сут. опыта животные были выведены из эксперимента. Содержание крыс в виварии и проведение экспериментов соответствовали “Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных”, утвержденных приказами МЗ СССР № 1045 от 6.04.73г, № 1179 от 10.10.83г. Миокард ЛЖ экспериментальных крыс был подвергнут стандартной однотипной обработке и изучен с помощью методов световой микроскопии (на микроскопе ОПТИКА В-350 Digital Camera DCM 500), иммуноцитохимии (оценка экспрессии синтеза белков металлопротеиназы-2 (ММП-2), металлопротеиназы-9 (ММП-9), тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (ТИМП-1), Caspase-3 (Cas-3) с использованием моноклональных антител и набора реактивов “Spring Bioscience” и “BIOCARE MEDICAL”, USA), морфометрии. Оценку локализации и интенсивности иммунной реакции проводили полуколичественным методом +/-+++ в случайно выбранных 20 полях зрения (100%): (-) нет иммунопозитивных кардиомиоцитов (ИКМЦ); (+) легкая, один ИКМЦ; (++) умеренная, более 5 ИКМЦ; (+++) высокая иммунореактивность, почти все кардиомиоциты иммунопозитивны. Для идентификации клеток с признаками апоптоза определяли индекс апоптоза, как число окрашенных телец, деленное на 1000 клеток в случайно выбранных 20 полях зрения. Морфометрию осуществляли в соответствии со сложившимися принципами системного количественного анализа [11]. Цитологический анализ структурно-функциональной реорганизации мышечной и стромальной частей миокарда проводили в условных полях зрения микроскопа ОПТИКА В-350 (Италия), микрофотографии получали с использованием цифровой фотокамеры ScopeTek DCM 500 (Италия) и программы ScopePhoto с указанной окулярной вставкой при исследовании 20 полей зрения гистологических срезов (об. 40, ок. 20). Для определения объемной плотности (ОП) КМЦ, их ядер и стромы миокарда нами применено наложение квадратной сетки (Pt=225) на микрофотографии гистологических срезов миокарда при стандартном увеличении. Статистическую обработку

Таблица 1

Морфометрические показатели КМЦ ЛЖ крыс в группах (M±m)

Показатель	Контроль	Экспериментальные группы				
		2 мес. после овариоэктомии	14 сут. ЭСН	14 сут. ЭСН + 14 сут. NaCl	14 сут. ЭСН + 14 сут. дроспиренон 2 мг/кг	14 сут. ЭСН + 14 сут. дроспиренон 0,5 мг/кг
d КМЦ, мкм	12,16±1,31	15,41±2,18	16,63±3,55*	17,83±2,15*	13,41±3,05	13,09±2,45
d ядра КМЦ, мкм	3,04±0,28	3,97±0,83	5,33±0,58	4,57±0,64	3,37±0,78	3,28±0,69
ОП КМЦ, об. %	85,3±4,2	70,47±5,3	64,6±4,13**	67,28±5,4**	79,1±4,74	80,6±5,63
ОП Стромы, об. %	14,7±2,8	31,5±3,82	38,7±3,15**	40,53±2,05**	22,16±3,21	19,84±2,32
МСО, у.е.	5,8±1,03	2,23±1,54^	1,66±1,09**	1,65±0,87**	3,56±1,53	4,06±1,05

Примечание: * — p<0,05 при сравнении с контролем, ^ — p<0,05 при сравнении с группой дроспиренона 0,5 мг/кг.

Сокращения: ЛЖ — левый желудочек, МСО — мышечно-стромальное отношение, ОП КМЦ — объемная плотность КМЦ, ОП стромы — объемная плотность сосудов и соединительной ткани.

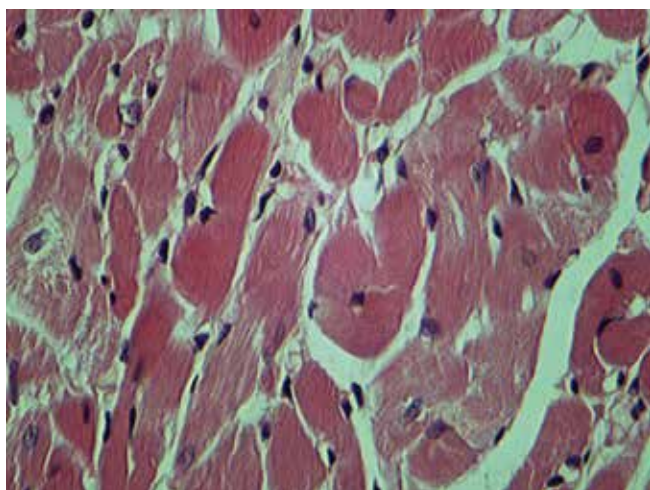


Рис. 1. Фрагмент миокарда ЛЖ крысы на 28 сут. моделирования ЭСН. Окраска: гематоксилин Майера и эозин. Ув. об. 40, ок. 10. КМЦ с разряженной саркоплазмой и околядерным опустошением.

скими и тинкториальными свойствами, гипертрофии эндотелия сосудов, значительных нарушениях микроциркуляторного русла, а также реактивных изменениях стромы (табл. 1).

Вышеописанные структурные нарушения сохранялись у экспериментальных животных и в последующем (через 14 сут. после окончания моделирования сердечной недостаточности, на фоне ежедневного введения изотонического раствора хлорида натрия) и характеризовались разной степенью выраженности литических и контрактурных повреждений саркоплазмы КМЦ с явлениями околядерного “опустошения” (эозинофилия мышечных сегментов) (рис. 1). Нарушения гемодинамики выражались полнокровием сосудов всех калибров, дилатацией венул, лимфостазом, сладжированием эритроцитов. В результате отека интерстициального пространства происходило разволокнение миокарда (рис. 2), встречались очаги кардиосклероза, представленные атрофирующимися и некробиотически измененными КМЦ, окруженными мононуклеарными клетками. Объемная плотность КМЦ данной группы животных уменьшилась на 20,7% по сравнению с контролем. Одновременно происходило увеличение стромального компонента миокарда, возрастал объем микроциркуляторного русла, фибробластоподобных клеток, коллагеновых волокон и основного аморфного вещества соединительной ткани. Соотношение КМЦ и стромальных компонентов составило 1,66 у.е., что практически в 3,5 раза меньше, чем у интактных животных (табл. 1).

В миокарде крыс с введением дроспиренона в суточной дозе 2 мг/кг и 0,5 мг/кг отмечалась модификация морфологической картины: преобладали КМЦ с сохраненной структурной организацией, имеющие умеренно окрашенные гематоксилином овально-вытянутые ядра на фоне эозинофильной цитоплазмы с хорошо видимой поперечной исчерченностью. Участки с неоднородным окрашиванием мышечных сегментов, гипертрофированные КМЦ встречались значительно реже, по сравнению с предыдущими экспериментальными группами. Наблю-

количественных данных производили на ПЭВМ Pentium IV с использованием пакета программ “Statistica 6,0 for Windows” и программного пакета “MS Excel 2007”. При статистическом анализе для оценки различий при нормальном распределении использовался Т-тест для связанной или независимой выборки. Нормальность распределения проверялась с помощью теста Колмогорова-Смирнова, кроме этого, оценивалось равенство дисперсий. В случае, если характер распределения отличался от нормального, использовались непараметрические критерии: для независимых групп — критерий Манна-Уитни, для зависимых групп — критерий знаков. Различия считались статистически достоверными при p<0,05.

Результаты

В миокарде ЛЖ ОЭ крыс и крыс с развившейся на 14 сут. ЭСН наблюдались значительные структурно-функциональные изменения, уже ранее описанные нами [12], заключающиеся в преобладании КМЦ с существенно измененными морфологиче-

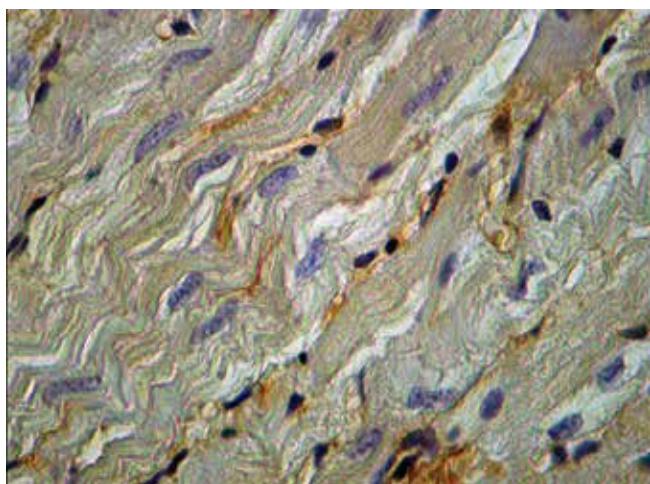


Рис. 2. Фрагмент миокарда ЛЖ крысы на 28 сут. после моделирования ЭСН. Окраска: иммуноцитохимическая пероксидазная реакция для выявления ТИМП-1. Ув. об. 40, ок. 10. Участки повреждения и пересокращения сердечных мышечных волокон.

Сокращение: ТИМП-1 — положительные кардиомиоциты.

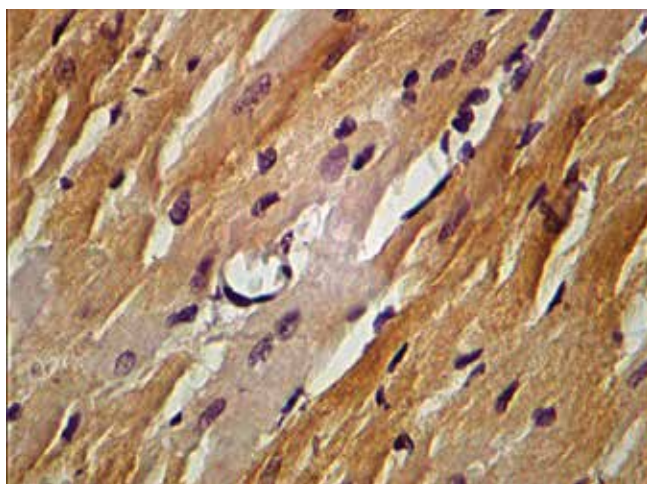


Рис. 3. Фрагмент миокарда ЛЖ крысы на 14 сут. после моделирования ЭСН. Окраска: иммуноцитохимическая пероксидазная реакция для выявления ММП-2. Ув. об. 40, ок. 10.

Сокращение: ММП-2 — положительные кардиомиоциты.

Таблица 2

Экспрессия сигнальных белков (ММП-2, ММП-9, ТИМП-1 и Caspase-3) в миокарде ЛЖ у intactных крыс и различных экспериментальных групп

Группы животных	ММП-2	ММП-9	ТИМП-1	ИА, % Caspase-3
Intactные животные (контроль)	+ / ++ (40/50%)	+ / ++ (60/40%)	+ / ++ (55/45%)	1 ± 0,3
2 мес. после овариоэктомии	+ / ++ (15/85%)	+ / ++ (50/50%)	+ / ++ (30/70%)	6 ± 0,8
14 сут. ЭСН	++ / +++ (40/60%)	++ / +++ (70/30%)	+ / ++ (80/20%)	9 ± 0,5*
14 сут. ЭСН + 14 сут. NaCl	+ / ++ (80/20%)	+ / ++ (40/60%)	++ / +++ (40/60%)	12 ± 1,2**
14 сут. ЭСН + 14 сут. дроспиренон 2 мг/кг	+ / ++ (40/60%)	+ / ++ (70/30%)	+ / ++ / +++ (60/30/10%)	3 ± 0,5
14 сут. ЭСН + 14 сут. дроспиренон 0,5 мг/кг	+ / ++ (60/40%)	+ / ++ (55/35%)	+ / ++ (50/50%)	2 ± 0,8

Примечание: ЭСН — экспериментальная сердечная недостаточность, ЛЖ — левый желудочек, ММП-2 — матриксная металлопротеиназа 2, ММП-9 — матриксная металлопротеиназа 9, ТИМП-1 — тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы 1, ИА — индекс апоптоза (количество Cas-3-иммунопозитивных КМЦ).

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контролем, ^ — $p < 0,05$ при сравнении с группой дроспиренона 2 мг/кг и 0,5 мг/кг.

далось улучшение структурно-функционального состояния сосудов микроциркуляторного русла: реже обнаруживались зоны периваскулярного отека, стаза форменных элементов крови в капиллярах. Интрамуральные артерии среднего и мелкого калибра были умеренно кровенаполнены. Выстилающий их эндотелий несколько уплощен, его цитоплазма слабо базофильна, ядра вытянутые. Артериолы извитые, с небольшим количеством эритроцитов; вены и венулы умеренно извитые, полнокровны. Строма органа содержала немногочисленные фибробласты, расположенные между мышечными волокнами. Оценка данных морфометрии миокарда в этой группе показала недостоверное уменьшение диаметра КМЦ и их ядер, ОП КМЦ достоверно не уменьшалась, отмечалось снижение ОП соединительной ткани по сравнению с группой животных, получавших 14 дней хлорид натрия (табл. 1).

При иммуногистохимическом исследовании миокарда ЛЖ у крыс всех групп были обнаружены КМЦ с различной степенью активности ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1 (по критериям оценки экспрессии ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1). У животных контрольной группы больше встречалось КМЦ с легкой и умеренной степенью активности ММП-2, легкой степенью экспрессии ММП-9, легкой и умеренной степенью экспрессии ТИМП-1. В миокарде на 14 сут. ЭСН в равном количестве преобладали поля с умеренной и высокой степенью экспрессии ММП-2 (рис. 3) и умеренной степенью экспрессии ММП-9. Более значимое снижение активности ММП-2 и ММП-9 до умеренной и легкой степени наблюдалось в миокарде подопытных групп с введением дроспиренона в суточной дозе 2 мг/кг и 0,5 мг/кг (табл. 2). Значимое увеличение ТИМП-1-позитивных КМЦ отмечалось в опытной группе животных с введением хлорида

натрия по сравнению с контролем и опытными группами. Преобладание умеренной степени экспрессии ТИМП-1 наблюдалось в группах с введением дроспиренона (табл. 2).

При иммуногистохимическом исследовании миокарда ЛЖ крыс всех групп регистрировались КМЦ с явлениями апоптоза (по критериям оценки экспрессии Cas-3). В миокарде ЛЖ контрольной группы встречались единичные иммунопозитивные миоциты. Наблюдалось достоверное увеличение количества Cas-3-позитивных КМЦ в миокарде ОЭ крыс на 14 сут. моделирования ЭСН, как по отношению к контролю, так и при сравнении с другими опытными группами (табл. 2). В миокарде ЛЖ опытных групп с введением дроспиренона в суточной дозе 2 мг/кг и 0,5 мг/кг отмечалось снижение КМЦ с признаками апоптоза.

Обсуждение

В настоящее время ведущей парадигмой развития хронической сердечной недостаточности является избыточная активация нейрогормональных систем, прежде всего ренин-ангиотензин-альдостероновой (РААС) и симпатoadреналовой [13]. Известно, что ангиотензин II, ренин и альдостерон напрямую или через каскад сигнальных посредников играют важную роль в патогенезе фиброза и апоптоза клеток миокарда [14]. В исследованиях последних десятилетий продемонстрировано, что у женщин с наступлением менопаузы отмечается более высокая концентрация альдостерона по сравнению с мужчинами, что подтверждает концепцию о развитии гиперальдостеронизма в постменопаузальный период [15]. Мнения о генезе подобных гуморальных сдвигов в постменопаузе противоречивы. Высказывается предположение о том, что, возможно, это связано с дефицитом прогестерона, обладающего антиминералкортикоидными свойствами. В пользу этого свидетельствуют и отрицательные корреляции между концентрацией альдостерона и концентрациями эстрадиола и 17-гидроксипрогестерона в ряде исследований [15]. Однако более вероятен многофакторный генез гиперальдостеронизма, включающий как прямую активацию всей РААС, так и уменьшение ингибиторных влияний прогестерона на фоне гормонального дисбаланса в период менопаузы.

В настоящем исследовании были подтверждены результаты наших предыдущих работ об отрицательном влиянии дефицита половых гормонов на миокард ЛЖ крыс [12], сопровождающемся смещением соотношения факторов регуляции выживания/гибели КМЦ в сторону увеличения количества проапоптотических белков (экспрессия белков Cas-3) на фоне реорганизации ВМ миокарда (экспрессия белков ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1). Показано, что у ОЭ крыс-самок отмечался значительный рост ОП

стромы миокарда и КМЦ с признаками апоптоза, который прогрессировал при моделировании ЭСН. Параллельно отмечалась высокая степень экспрессии ММП-2 и ММП-9, что свидетельствует о процессах дегградации компонентов ВМ миокарда. ММП активно участвуют в процессах реорганизации ВМ, разрушая такие его компоненты, как коллаген, эластин, фибронектин, гликозаминогликаны, что позволило считать эти ферменты эффекторами ремоделирования [16]. В отличие от других металлопротеиназ, ММП-2 и ММП-9 относятся к одному подсемейству ферментов — желатиназ, которые обладают сходной субстратной специфичностью. Тем не менее, они выполняют разные функции. Известно, что активация ММП-2 внутри клеток играет существенную роль в дегградации внутриклеточных белков при острых поражениях миокарда, тогда как экспрессия ММП-2 и других ММП, а также репрессия ТИМП разрушают структуры ВМ [16].

Высокая степень экспрессии ММП-2 (рис. 3) и ММП-9 на 14 сут. ЭСН в миокарде в нашем исследовании свидетельствует об активных процессах дегградации коллагена в ответ на фиброзирование миокарда, что нами рассматривается как компенсаторная активация ММП. Обращает на себя внимание при этом умеренная степень экспрессии ТИМП-1 на 14 сут. моделирования ЭСН. При этом в группе животных с введением хлорида натрия на 14 сут. после ЭСН отмечалась другая иммуногистохимическая картина: активность ММП-2 снижалась, ММП-9 оставалась высокой и отмечалось увеличение экспрессии ТИМП-1, что свидетельствует о процессах воспаления и накопления коллагена в интерстициальной ткани миокарда. В настоящее время ММП-9 относят к маркеру системного воспаления, она вырабатывается клетками воспаления и экспрессируется в поврежденных артериях [16]. Участки с высокой экспрессией ММП-9 в миокарде крыс на 14 сут. ЭСН характеризовались значительными микроциркуляторными нарушениями и диффузной инфильтрацией стромы миокарда мононуклеарами.

Высокая степень экспрессии ММП-2 и 9 в группах крыс на 14 сут. ЭСН и с введением хлорида натрия 14 сут. после ЭСН сопровождалась и увеличением КМЦ с признаками апоптоза (экспрессия белков Cas-3). Spinale FG объясняет данный факт тем, что при наличии прогрессирующего репаративного фиброза возникает своеобразный порочный круг во взаимоотношениях между КМЦ и коллагеновой сетью [17]. Неизбежное образование (вследствие нарушения микроциркуляции из-за сдавления капиллярной сети миокарда) коллагеновых фибрилл может быть фактором, провоцирующим гибель новых КМЦ. Подобное предположение высказали и Schulz, et al. которые считают, что возросшая упругость ВМ повышает нагрузку на КМЦ, которые в силу разных при-

чин не способны к адекватной гипертрофии [18]. Все это позволяет предполагать, что нарушение обновления белков КМЦ в условиях ишемии и их гибель вновь стимулируют заместительный фиброз.

Наше исследование продемонстрировало, что под действием дроспиренона в суточной дозе 2 мг/кг и 0,5 мг/кг выявлялись существенные положительные изменения как в структуре КМЦ, так и в строении миокарда при сравнении с другими экспериментальными группами; увеличение ОП стромы было незначимо по сравнению с контрольной группой. В группах дроспиренона сохранялась умеренная активность ММП-2 и ММП-9, близкая к группе интактных крыс, что способствовало стабилизации ВМ и уменьшению в 4 раза КМЦ с признаками апоптоза по уровню экспрессии cas-3 по сравнению с группой ОЭ крыс с ЭСН и введением хлорида натрия. Механизм подобной цитопротекции, на наш взгляд, связан с благоприятным прогестероновым влиянием дроспиренона на миокард и строму, а также с антиальдостероновой активностью препарата.

В настоящее время роль альдостерона в патологическом ремоделировании миокарда и развитии хронической сердечной недостаточности не вызывает сомнений. Известно, что альдостерон синтезируется не только в коре надпочечников, но и в миокарде, эндотелии сосудов, ткани головного мозга и оказывает свое действие непосредственно в месте синтеза [14]. Путем активации собственных рецепторов, экспрессированных на КМЦ, эндотелиальных клетках,

фибробластах, и, возможно, с помощью других, пока гипотетических механизмов, альдостерон увеличивает синтез коллагена и вызывает пролиферацию фибробластов. В опытах на крысах доказано, что миокардиальный фиброз, особенно вокруг венечных артерий, обусловлен усиленной продукцией коллагена I и III типов, стимулируемой сочетанным действием альдостерона и ангиотензина II. В культуре взрослых фибробластов сердца альдостерон через минералокортикоидные рецепторы 1-го типа стимулирует синтез коллагена. Кроме того, альдостерон индуцирует процессы локального воспаления в эндотелии средних и мелких венечных сосудов и периваскулярных зонах миокарда [14].

Заключение

Настоящее исследование показало, что в условиях овариоэктомии и гиперальдостеронизма перегрузка давлением и ишемическое повреждение миокарда в эксперименте вносят существенный вклад в быстрое прогрессирование сердечной недостаточности. Установлено, что реализация кардиопротективного действия дроспиренона, даже в минимальных терапевтических концентрациях 0,5 мг/кг, сопровождается репрессией Cas-3-положительных КМЦ, стабилизацией комплекса ММП-2,-9/ТИМП-1, создавая необходимые предпосылки для адекватной активации компенсаторных механизмов, способствующих структурно-функциональной реабилитации миокарда в условиях дефицита половых гормонов и ЭСН.

Литература

- Mahmoodzadeh S, Fliegner D, Dworatzek E. Sex differences in animal models for cardiovascular diseases and the role of estrogen. *Handb Exp Pharmacol.* 2012; 214: 23-48.
- Piro M, Bona RD, Abbate A, et al. Sex-Related Differences in Myocardial Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 55: 1057-65.
- Harvey RE, Coffman KE, Miller VM. Women-specific factors to consider in risk, diagnosis and treatment of cardiovascular disease. *Womens Health (Lond).* 2015; 11 (2): 239-57.
- Bernstein P, Pohost G. Progesterone, progestins, and the heart. *Rev Cardiovasc Med.* 2010; 11 (3): 141-9.
- Kalász J, Tóth EP, Bódi B, et al. Single acute stress-induced progesterone and ovariectomy alter cardiomyocyte contractile function in female rats. *Croat Med J.* 2014; 55: 239-49.
- Thomas P, Pang Y. Protective actions of progesterone in the cardiovascular system: Potential role of membrane progesterone receptors (mPRs) in mediating rapid effects. *Steroids.* 2013; 78: 583-8.
- Morrissy S, Xu B, Aguilar D, et al. Inhibition of apoptosis by progesterone in cardiomyocytes. *Aging Cell.* 2010; 9: 799-809.
- Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R, et al. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 2008; 61: 1-2: 171-80.
- Arias-Loza PA, Hu K, Schafer A, et al. Medroxyprogesterone Acetate But Not Drospirenone Ablates the Protective Function of 17-Estradiol in Aldosterone Salt-Treated Rats. *Hypertension.* 2006; 48: 994-1001.
- Liskova YUV, Salikova SP, Stadnikov AA. Experimental models of heart failure: a condition and results of their own research. *Morphological statements.* 2014, 1: 46-53. (Лискова Ю. В., Саликова С. П., Стадников А. А. Экспериментальные модели сердечной недостаточности: состояние вопроса и результаты собственного исследования. *Морфологические ведомости.* 2014, 1: 46-53).
- Avtandilov GG. *Meditsinskaya morfometriya.* M.: Meditsina, 1990. s 384. Russian (Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990. с 384).
- Liskova YuV, Salikova SP, Stadnikov AA. About structural reorganization of the myocardium in ovariectomized rats with the experimental heart failure at melatonin introduction. *Morphology.* 2013, 144 (5): 25-9. (Лискова Ю. В., Саликова С. П., Стадников А. А. Структурная реорганизация миокарда овариоэктомизированных крыс с экспериментальной сердечной недостаточностью при введении мелатонина. *Морфология.* 2013, 144 (5): 25-9).
- Ezekowitz JA, McAlister FA. Aldosterone blockade and left ventricular dysfunction: a systematic review of randomized clinical trials. *European Heart Journal.* 2009; 30: 469-77.
- Shen JZ, Young MJ. Corticosteroids, Heart Failure, and Hypertension: A Role for Immune Cells? *Endocrinology.* 2012; 153 (12): 5692-700.
- Podzolkov VI, Bragina AE, Rodionova YuN, Panferova EK. Gender features of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive patients. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology.* 2010, 6 (3): 306-10. Russian (Подзолков В. И., Брагина А. Е., Родионова Ю. Н., Панферова Е. К. Гендерные особенности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы у пациентов с артериальной гипертензией. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии.* 2010, 6 (3): 306-10).
- Fan D, Takawale A, Lee J, et al. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis & Tissue Repair.* 2012; 5: 1-15.
- Spinale FG. Myocardial Matrix Remodeling and the Matrix Metalloproteinases: Influence on Cardiac Form and Function. *Physiological Reviews.* 2007; 87 no. 4: 1285-342.
- Schulz R. Intracellular Targets of Matrix Metalloproteinase-2 in Cardiac Disease: Rationale and Therapeutic Approaches. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2007; 47: 211-42.