

## Ремоделирование миокарда под влиянием адреналина в эксперименте

Виктор Робертович Вебер, Светлана Викторовна Жмайлова\*,  
Марина Павловна Рубанова, Прасковья Михайловна Губская

Новгородский Государственный университет им. Ярослава Мудрого  
Россия, 173003, Великий Новгород, ул. Большая Санкт-Петербургская, 41

**Цель.** Изучить структурные изменения в миокарде крыс линии Вистар при однократном введении адреналина.

**Материал и методы.** В эксперименте на крысах-самцах линии Вистар были изучены структурные изменения в миокарде левого (ЛЖ) и правого (ПЖ) желудочков после однократного введения адреналина.

**Результаты.** После однократного введения адреналина объемная плотность внеклеточных пространств в миокарде обоих желудочков сначала (через 2 ч) увеличивается, а в последующих контрольных точках снижается ниже контрольных значений. Она остается таковой даже через 1 мес после однократного введения адреналина как в ЛЖ ( $3,95 \pm 0,64$  против  $6,83 \pm 0,30$  об% в контроле;  $p < 0,05$ ), так и в ПЖ ( $4,71 \pm 0,55$  против  $6,09 \pm 0,33$  об% в контроле;  $p < 0,05$ ). Объемная плотность коллагена в обоих желудочках увеличивается во всех контрольных точках, причем более значительно через 2 и 24 ч в ПЖ: через 2 ч объемная плотность коллагена составила в ПЖ  $25,8 \pm 1,39$  об% против  $19,85 \pm 1,50$  об% – в ЛЖ ( $p < 0,05$ ), а через 24 ч – в 1,5 раза выше, чем в ЛЖ ( $30,47 \pm 1,98$  об% и  $18,47 \pm 1,27$  об%, соответственно;  $p < 0,05$ ). Объемная плотность кардиомиоцитов в обоих желудочках под влиянием адреналина значительно уменьшилась, не достигнув значений контрольной серии даже через 1 мес после однократного введения адреналина.

**Заключение.** После однократного введения адреналина в миокарде обоих желудочков крыс развиваются выраженные структурные изменения уже через 2 ч после введения препарата, и сохраняются в течение суток, при этом отмечается асинхронность структурного ремоделирования ЛЖ и ПЖ. Полного регресса морфологических изменений в миокарде как ЛЖ, так и ПЖ не происходит даже через 1 мес после однократного введения адреналина. Высокие значения плотности коллагена, которые наблюдаются в обоих желудочках при моделировании острого адренергического стресса, дают возможность предположить, что введение адреналина запускает механизмы фиброгенеза миокарда, которые продолжают, несмотря на прекращение воздействия препарата.

**Ключевые слова:** миокард, левый желудочек, правый желудочек, адреналин, ремоделирование.

**Для цитирования:** Вебер В.Р., Жмайлова С.В., Рубанова М.П., Губская П.М. Ремоделирование миокарда под влиянием адреналина в эксперименте. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2017;13(3):378-382. DOI: <http://dx.doi.org/10.20996/1819-6446-2017-13-3-378-382>

### Effect of Epinephrine Administration on Myocardial Remodeling in Experimental Study

Victor R. Veber, Svetlana V. Zhmailova\*, Marina P. Rubanova, Praskovya M. Gubskaya  
Yaroslav-the-Wise Novgorod State University. Sankt-Peterburgskaya ul. 41, Velikiy Novgorod, 173000 Russia

**Aim.** To study structural changes in the myocardium of Wistar rats after a single administration of epinephrine.

**Material and methods.** Structural changes in male Wistar rat's left (LV) and right (RV) ventricle myocardium after a single injection of epinephrine were studied.

**Results.** The density of extracellular spaces in both LV and RV myocardium increases first after single epinephrine injection (after 2 hours), and then decreases below reference values in the next control points. It remains so even after 1 month after a single injection of epinephrine in both the LV ( $3.95 \pm 0.64$  vs  $6.83 \pm 0.30$  vol% in the control group;  $p < 0.05$ ) and RV ( $4.71 \pm 0.55$  vs  $6.09 \pm 0.33$  vol% in the control group;  $p < 0.05$ ). The density of collagen fibers in both ventricles increases in all the control points, and more significantly in the RV than in the LV after 2 and 24 hours. After 2 hours the density of collagen fibers in the RV was  $25.8 \pm 1.39$  vs  $19.85 \pm 1.50$  vol% in the LV ( $p < 0.05$ ), and after 24 hours it is 1.5 times higher –  $30.47 \pm 1.98$  vs  $18.47 \pm 1.27$  vol%, respectively, ( $p < 0.05$ ). The cardiomyocytes density in both ventricles decreases considerably without reaching control values even in 1 month after a single injection of epinephrine.

**Conclusion.** Severe structural changes develop after single administration of epinephrine in both ventricles rat's myocardium within 2 hours and persist during the first day. At that structural remodeling of the LV and RV ventricles is asynchronous. Complete regression of morphological changes in the myocardium both LV and RV does not occur even after 1 month after a single injection of epinephrine. The high values of collagen fibers density, that are observed in both ventricles in acute adrenergic stress model, make it possible to assume that single administration of epinephrine triggers myocardial fibrogenesis mechanisms, which are continuing despite the cessation of drug exposure.

**Keywords:** myocardium, left ventricle, right ventricle, epinephrine, myocardial remodeling.

**For citation:** Veber V.R., Zhmailova S.V., Rubanova M.P., Gubskaya P.M. Effect of Epinephrine Administration on Myocardial Remodeling in Experimental Study. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology* 2017;13(3):378-382. (In Russ). DOI: 10.20996/1819-6446-2017-13-3-378-382

\*Corresponding Author (Автор, ответственный за переписку): svetlana.zhmailova@novsu.ru

Received / Поступила: 12.09.2016

Accepted / Принята в печать: 13.09.2016

Катехоламины широко используются в практическом здравоохранении при оказании неотложной помощи. При этом остаются недостаточно изученными вопросы влияния этих препаратов на структурное состояние сердечно-сосудистой системы. В клинике мы, в основном, оцениваем функциональные изменения сердечно-сосудистой системы, косвенно отражающие структурное ремоделирование. Прижизненная оценка структурно-функционального состояния миокарда у человека в клинических условиях чрезвычайно сложна, поэтому многие вопросы, касающиеся изменений сердца при заболеваниях кардиологического профиля, изучаются в экспериментах на животных. В ряде экспериментальных работ показано, что катехоламины могут вызывать развитие гипертрофии левого желудочка (ЛЖ) даже в дозах, не повышающих уровень артериального давления (АД) [1,2]. В культуре миокардиальных клеток также было показано, что норадреналин стимулирует их рост через альфа-адренорецепторы [2]. Вместе с тем снижение уровня норадреналина в плазме крови под влиянием метилдопы способствует уменьшению гипертрофии миокарда ЛЖ независимо от степени снижения АД [3]. Показано [4,5], что краткосрочное введение низких доз адреналина приводит к увеличению интенсивности люминесценции адренергических нервных структур сердца крыс, а при длительном введении отмечено появление участков миокарда с преобладанием дистрофических и даже деструктивных процессов, которые могут влиять на сократимость сердца. При этом в основном изучаются трофические эффекты катехоламинов на ЛЖ, тогда как их влияние на правый желудочек (ПЖ) практически не исследовано, мало изученным остается вопрос о влиянии катехоламинов на ультраструктуру миокарда.

Известно также, что самые ранние проявления ремоделирования миокарда возникают во внеклеточном матриксе [6]. Состав внеклеточного матрикса во многом определяет механические свойства миокарда и в систолу, и в диастолу. Избыточное накопление коллагена во внеклеточном матриксе – ключевой компонент в развитии диастолической дисфункции [7].

Цель исследования – изучить структурные изменения в миокарде крыс линии Вистар при однократном введении адреналина.

## Материал и методы

Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Вистар, сопоставимых по возрасту и массе. Животные содержались в помещении с температурой воздуха 22°C с 12-часовым циклом свет/темнота и имели свободный доступ к воде и пище.

Экспериментальное исследование проводилось в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в эксперименте (директива

86/609/ЕЕС). Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта были составлены в соответствии с принципами биоэтики, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и в приказе МЗиСР от 23.08.2010 №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики».

В первой серии эксперимента 20 крысам-самцам линии Вистар интраперитонеально однократно вводился  $\alpha, \beta$ -адреномиметик адреналин (действующее вещество эпинефрин) из расчета 50 мкг/кг. Доза препарата была максимальной терапевтической для человека в пересчете на кг массы тела. Главным условием было отсутствие при данной дозе препарата некроза кардиомиоцитов. Через 2 ч (5 крыс), 6 ч (5 крыс), 24 ч (5 крыс) после введения препарата под эфирным наркозом проводилась декапитация и забор материала на исследование. Еще 5 крыс после однократного введения адреналина в течение 1 мес содержались в обычных условиях без медикаментозных и стрессовых воздействий, после чего под эфирным наркозом им также проводилась декапитация и забор материала на исследование.

Контрольную серию составили крысы, сопоставимые по возрасту и массе ( $200 \pm 20$  гр). Крысы контрольной серии содержались в отдельном помещении и не подвергались никаким медикаментозным и стрессовым воздействиям.

Кусочки миокарда ЛЖ и миокарда ПЖ фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике с последующим изготовлением срезов ткани толщиной 4 мкм. Парафиновые срезы, окрашенные гематоксилином и эозином по Ван-Гизону, исследовались с использованием светооптического бинокулярного микроскопа AxioscopeA 1 (Carl Zeiss, Германия). С помощью сетки Г.Г. Автандилова [8] проводилась морфометрия в 45 полях зрения в каждом желудочке в каждой серии эксперимента. Оценивалась объемная плотность (в объемных процентах, об%) внеклеточного пространства (ВКП), кардиомиоцитов (КМЦ) и коллагена.

Вариационные ряды данных были подвергнуты предварительной проверке на нормальность распределения с применением теста Колмогорова-Смирнова. В связи с выявлением нормального характера распределения статистическая обработка результатов исследования была проведена с использованием t-критерия Стьюдента.

## Результаты

Под влиянием однократного введения адреналина в миокарде экспериментальных животных были выявлены значительные морфологические изменения как в ЛЖ, так и в ПЖ. В миокарде ЛЖ через 2 ч после

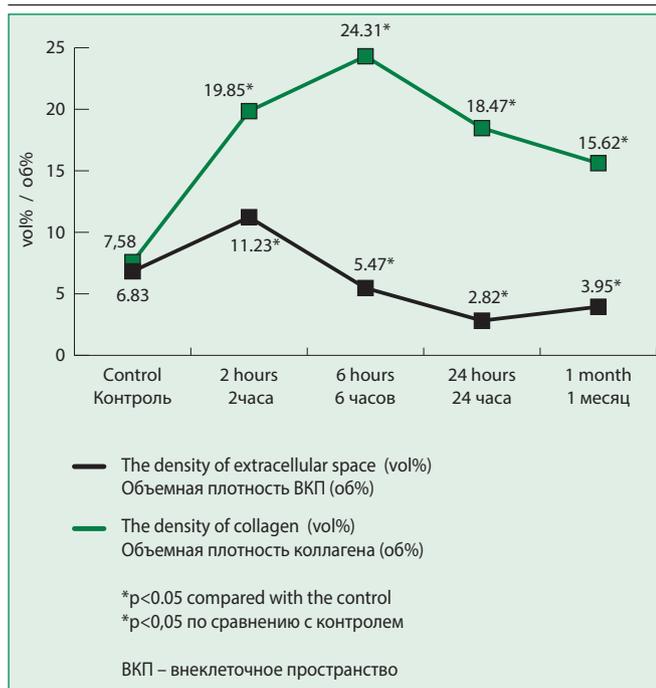


Figure 1. Changes in the density of extracellular space and collagen in the left ventricular myocardium after a single epinephrine injection

Рисунок 1. Изменение объемной плотности внеклеточного пространства и коллагена в миокарде левого желудочка после однократного введения адреналина

введения адреналина в 2 раза увеличилась объемная плотность ВКП (рис. 1) – с  $6,83 \pm 0,30$  об% в контроле до  $11,23 \pm 1,39$  об% ( $t=-3,41$ ;  $p=0,0001$ ). Объемная плотность коллагена (рис. 1) увеличилась с  $7,58 \pm 0,67$  об% в контроле до  $19,85 \pm 1,50$  об% ( $t=-8,351$ ,  $p=0,0001$ ), то есть более, чем в 2 раза. Наряду с этим наблюдались изменения объемной плотности КМЦ (рис.

2) – происходило ее снижение с  $77,87 \pm 1,41$  об% в контроле до  $67,07 \pm 1,87$  об% ( $t=5,7$ ;  $p=0,0001$ ). Выраженные морфологические изменения можно объяснить отеком внеклеточного пространства и коллагена, возникающим через 2 ч после введения адреналина.

Через 6 ч (рис. 1) после однократного введения адреналина структурные изменения нарастали: объемная плотность ВКП значительно уменьшилась по сравнению с контрольной точкой 2 ч и составила  $5,47 \pm 0,29$  об% ( $t=3,03$ ;  $p=0,003$ ), плотность коллагена продолжала нарастать до  $24,31 \pm 1,96$  об% ( $t=-10,41$ ;  $p=0,0001$ ), а плотность КМЦ составила  $65,74 \pm 1,37$  об% ( $t=7,3$ ;  $p=0,0001$ ).

Через 24 ч (рис. 1) после однократного введения адреналина объем ВКП составил  $2,82 \pm 0,47$  об%, что достоверно ниже значений контрольной серии ( $t=10,07$ ;  $p=0,0001$ ). Объемная плотность коллагена (рис. 1) заметно снизилась по сравнению с контрольной точкой 6 ч и достигла  $18,47 \pm 1,27$  об% ( $t=-2,79$ ;  $p=0,007$ ), но оставалась в 2 раза выше значений контрольной серии ( $t=-8,47$ ;  $p=0,0001$ ). Объемная плотность КМЦ (рис. 2) по сравнению с контрольной точкой 6 ч увеличилась до  $71,96 \pm 1,48$  об%, оставаясь значимо ниже значений контрольной серии ( $t=4,82$ ;  $p=0,0001$ ). Значительное уменьшение объемной плотности ВКП можно объяснить активно текущим фибротическим процессом в экстрацеллюлярном матриксе.

Через 1 мес (рис. 1) после однократного введения адреналина объемная плотность ВКП в миокарде ЛЖ оставалась достоверно (в 1,5 раза) ниже исходных значений –  $3,95 \pm 0,64$  об% (против  $6,83 \pm 0,30$  об% в контрольной серии;  $t=6,31$ ;  $p=0,0001$ ). Объемная плотность коллагена значимо превышала контрольные значения (в 2 раза), и составила  $15,62 \pm 1,88$  об%

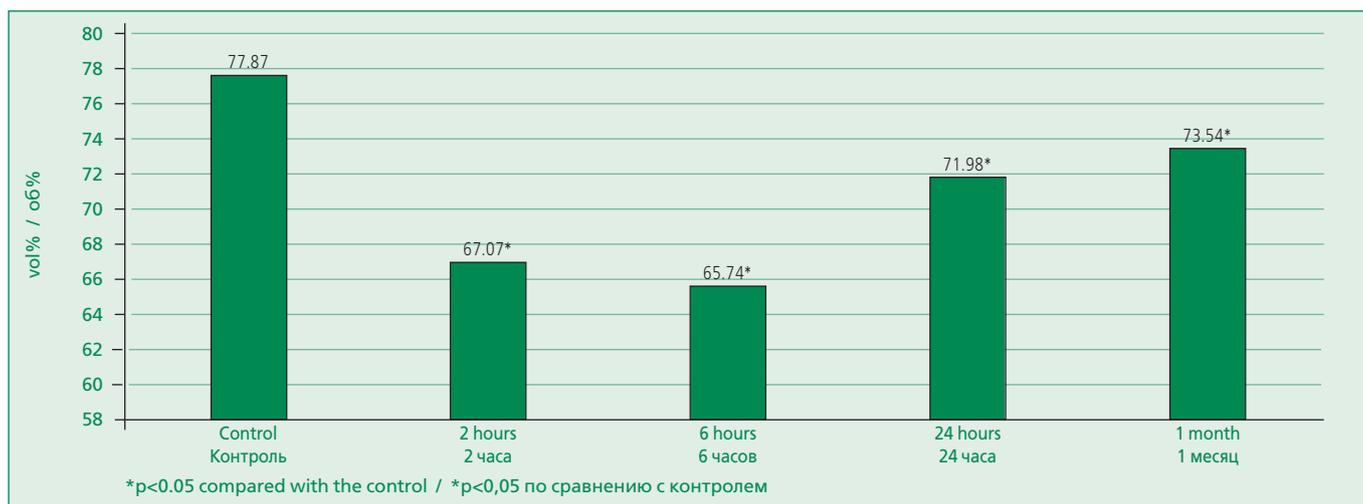


Figure 2. Change in the volume density of cardiomyocytes in the myocardium of the left ventricle at 2, 6, 24 hours and 1 month after a single epinephrine injection

Рисунок 2. Динамика объемной плотности кардиомиоцитов в миокарде левого желудочка через 2, 6, 24 ч и 1 мес после однократного введения адреналина

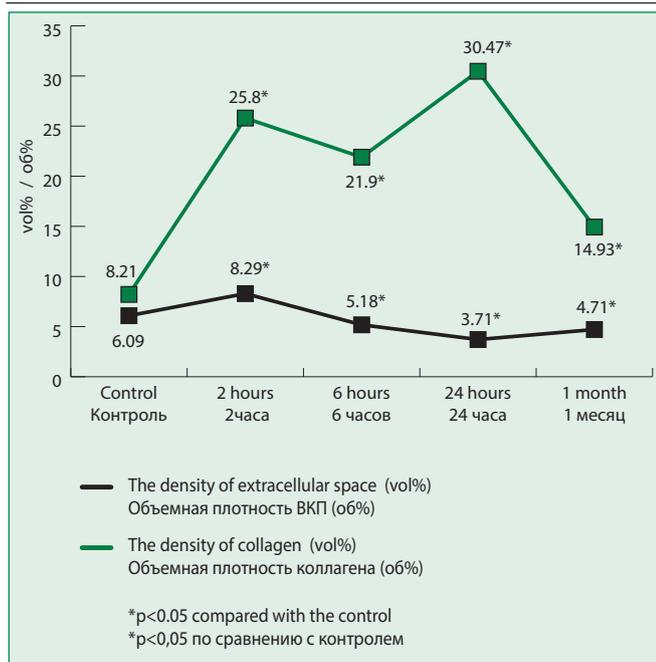


Figure 3. Change in volume density (vol%) of extracellular matrix and collagen in the right ventricular myocardium after a single epinephrine injection  
Рисунок 3. Изменение объемной плотности (об%) ВКП и коллагена в миокарде правого желудочка после однократного введения адреналина

( $t=-5,52$ ;  $p=0,0001$ ), а плотность КМЦ (рис. 2) оставалась значимо ниже значений контрольной серии ( $73,54 \pm 1,83$  об% и  $77,87 \pm 1,41$  об%, соответственно;  $t=2,92$ ;  $p=0,0045$ ).

Выявленные изменения свидетельствуют о том, что даже однократное введение адреналина может вызывать значительные структурные изменения в миокарде ЛЖ, проявляющиеся развитием выраженного фиброза.

В миокарде ПЖ (рис. 3), так же, как и в ЛЖ, уже через 2 ч после однократного введения адреналина выявлено значимое увеличение плотности ВКП с  $6,09 \pm 0,33$  об% до  $8,29 \pm 0,80$  об% ( $t=-2,74$ ;  $p=0,008$ ). Объемная плотность коллагена возрастала в 3 раза с  $8,21 \pm 3,04$  об% в контрольной серии до  $25,8 \pm 1,39$  об% ( $t=-13,14$ ;  $p=0,0001$ ). Наблюдалось также уменьшение объемной плотности КМЦ (рис. 4) с  $80,45 \pm 1,68$  об% в контроле до  $60,78 \pm 1,56$  об% через 2 ч после введения адреналина ( $t=12,08$ ;  $p=0,0001$ ). Настолько значительное уменьшение плотности КМЦ в ПЖ, вероятно, связано с увеличением объемной плотности внеклеточного матрикса в основном за счет отека коллагена.

Структурные изменения в ПЖ были наиболее выражены через 24 ч после введения адреналина (рис. 3,4). Объемная плотность ВКП достигла значений почти в 2 раза ниже контрольной серии –  $3,71 \pm 0,26$  об% ( $t=5,02$ ,  $p=0,0001$ ). При этом объемная плотность коллагена составила  $30,47 \pm 1,98$  об%, и превысила значения контрольной серии почти в 4 раза ( $t=-12,26$ ;  $p=0,0001$ ), а объемная плотность КМЦ достигла своего минимума за весь период эксперимента –  $59,42 \pm 1,44$  об%. Стоит отметить, что объемная плотность коллагена в контрольной точке 24 ч была значимо выше, чем в ЛЖ ( $18,47 \pm 1,27$  об%;  $t=-5,13$ ,  $p=0,0001$ ), а объемная плотность КМЦ в ПЖ – ниже, чем в данной контрольной точке в ЛЖ ( $71,96 \pm 1,48$  об%;  $t=6,73$ ;  $p=0,0001$ ).

Через 1 мес после однократного введения адреналина в миокарде ПЖ, как и в ЛЖ объем ВКП оставался достоверно ниже значений контрольной серии, и составил  $4,71 \pm 0,55$  об% ( $t=2,58$ ,  $p=0,012$ ). Кроме того, в 2 раза выше значений контрольной серии сохранялась объемная плотность коллагена ( $14,93 \pm 0,83$  об%;  $t=-5,92$ ,  $p=0,0001$ ), а объемная плотность КМЦ

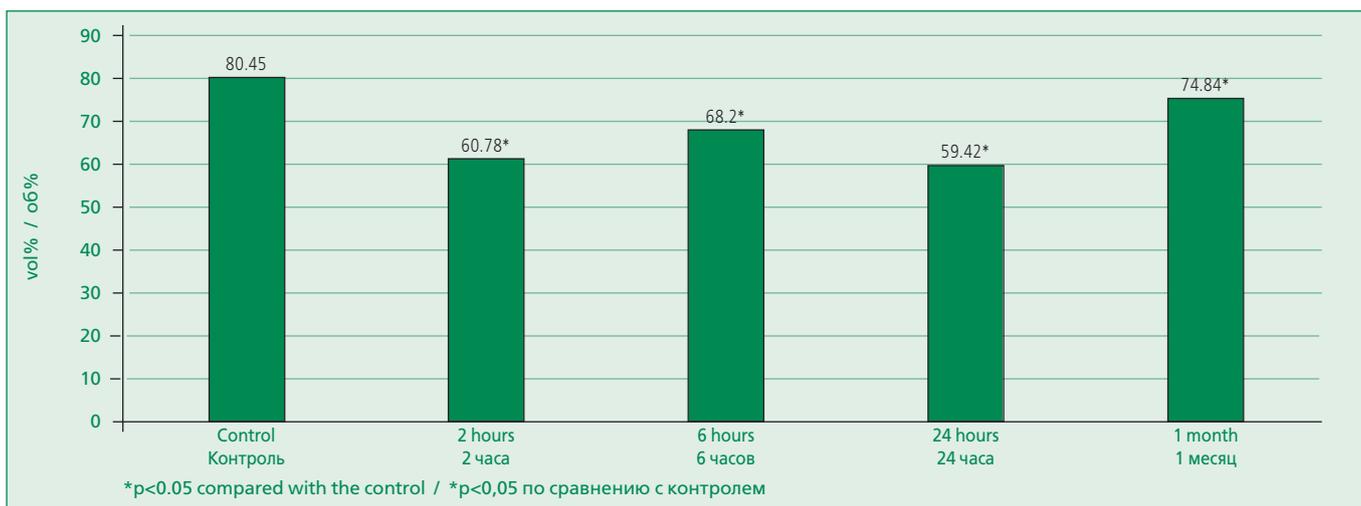


Figure 4. Change in the volume density of cardiomyocytes in the right ventricular myocardium at 2, 6, 24 hours and 1 month after a single epinephrine injection  
Рисунок 4. Динамика объемной плотности кардиомиоцитов в миокарде ПЖ через 2, 6, 24 ч и 1 мес после однократного введения адреналина

была значимо ниже исходных значений, и составила  $74,84 \pm 1,29$  об% ( $t=4,13$ ,  $p=0,0001$ ).

## Обсуждение

Динамика морфологических изменений под влиянием адреналина в левом и правом желудочках, несмотря на однонаправленность, имеет свои особенности. Прежде всего, это касается плотности коллагена. Увеличение плотности коллагена в ПЖ было более выражено, чем в ЛЖ через 2 и 24 ч после введения препарата: в контрольной точке 2 ч объемная плотность коллагена в ПЖ составила  $25,8 \pm 1,39$  об% против  $19,85 \pm 1,50$  об% в ЛЖ ( $t=-2,92$ ;  $p=0,005$ ), а через 24 ч в ПЖ объемная плотность коллагена в ПЖ была в 1,5 раза выше, чем в ЛЖ ( $30,47 \pm 1,98$  об% и  $18,47 \pm 1,27$  об% соответственно;  $t=-5,13$ ;  $p=0,0001$ ). Таким образом, можно говорить об асинхронности развития структурных изменений в ЛЖ и ПЖ после однократного введения адреналина.

Согласно полученным результатам полного регресса морфологических изменений в миокарде как ЛЖ, так и ПЖ, развившихся после введения адреналина, не происходит. Высокие значения плотности коллагена, которые наблюдаются в обоих желудочках через 1 мес после моделирования острого адренергического стресса, дают возможность предположить, что острый стресс запускает ме-

ханизмы фиброгенеза миокарда, которые продолжают-ся, несмотря на прекращение воздействия препарата.

## Заключение

Результаты исследования показали, что однократное введение адреналина вызывает структурное ремоделирование миокарда обоих желудочков. Развитие выраженного фиброза в миокарде крыс под влиянием адреналина позволяет предположить, что и введение адреналина в клинике, видимо, может запускать процесс ремоделирования внеклеточного матрикса, приводящего к выраженному фиброзу миокарда. Неравномерное поражение левого и правого желудочков сердца, вероятно, может привести к асинхронизму в работе правых и левых отделов сердца, и стать, кроме всего прочего (повышение риска развития сердечной недостаточности, ухудшение коронарного кровообращения), причиной развития тяжелых, возможно, фатальных нарушений ритма.

**Конфликт интересов.** Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Disclosures.** All authors have not disclosed potential conflicts of interest regarding the content of this paper.

## References / Литература

1. Laks M.N., Morady F. Norepinephrine the myocardial hypertrophy hormone. *Am Heart J.* 1976;91: 674-5.
2. Simpson P. Norepinephrin – stimulated hypertrophy of cultured rate myocardial cells is an alpha-1 adrenergic response. *J Clin Invest.* 1983;72:732-8.
3. Fouad F.M., Tarazi R.C., Ferrario C.M. et al. Assessment of parasympathetic control of heart rate by a noninvasive method. *Am J Physiol.* 1982;246:838-42.
4. Lai K.B., Sanderson J.E., Yu C.M. The regulatory effect of norepinephrine on connective tissue growth factor (CTGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in cultured cardiac fibroblasts. *Int J Cardiol.* 2013;163(2):183-9.
5. Aranguiz-Urroz P., Canales J., Copaja M., et al. Beta(2)-adrenergic receptor regulates cardiac fibroblast autophagy and collagen degradation. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1812(1):23-31.
6. Ovchinnikov A.G., Baldina O.N., Serbul V.M., Ageev F.T. Aldosterone - one of the main factors stimulating fibrosis. Can you deal with it? *Atmosphere. Kardiologija.* 2005;3:12-9. Russian [Овчинников А.Г., Балдина О.Н., Сербул В.М., Агеев Ф.Т. Альдостерон – один из основных факторов стимуляции фиброза. Можно ли с этим бороться? *Атмосфера. Кардиология* 2005;3:12-9].
7. Weber K.T., Janicki J.S., Shroff S. et al. Contractile mechanics and interaction of the right and left ventricles. *Am J Cardiol.* 1981;47:685.
8. Avtandilov G.G. *Medical morphometry.* Moscow: Medicine; 1990. (In Russ.) [Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия.* Руководство. М.: Медицина; 1990].

### About the Authors:

**Victor R. Veber** - MD, PhD, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Rector of Yaroslavl-the-Wise Novgorod State University

**Svetlana V. Zhmailova** - MD, PhD, Professor, Head of Chair of Additional Vocational Education and Out-Patient Therapy, Yaroslavl-the-Wise Novgorod State University

**Marina P. Rubanova** - MD, PhD, Professor, Chair of Additional Vocational Education and Out-Patient Therapy, Yaroslavl-the-Wise Novgorod State University

**Praskovya M. Gubskaya** - MD, PhD, Doctoral Candidate, Yaroslavl-the-Wise Novgorod State University

### Сведения об авторах:

**Вебер Виктор Робертович** – д.м.н., профессор, академик РАН, ректор Новгородского государственного университета

**Жмайлова Светлана Викторовна** – д.м.н., зав. кафедрой дополнительного профессионального образования и поликлинической терапии Новгородского государственного университета

**Рубанова Марина Павловна** – д.м.н., профессор кафедры дополнительного профессионального образования и поликлинической терапии Новгородского государственного университета

**Губская Прасковья Михайловна** – к.м.н., докторант Новгородского государственного университета