

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-092

Кожевникова Л.М.^{1,2}, Цорин И.Б.¹, Ионова Е.О.¹, Барчуков В.В.¹, Никифорова Т.Д.¹, Шигабудинова Л.К.¹, Столярчук В.Н.¹, Вититнова М.Б.¹, Колик Л.Г.¹, Дурнев А.Д.¹, Крыжановский С.А.¹

Гендерные особенности изменений состояния сердечно-сосудистой системы при алкогольной кардиомиопатии (экспериментальное исследование)

¹ ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д.8;

² ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д.8

Цель исследования – изучение гендерных различий в сердечно-сосудистой системе у крыс с алкогольной кардиомиопатией. **Методика.** Алкогольную кардиомиопатию у крыс воспроизводили, предоставляя им в качестве единственного источника питья 10%-ный водный раствор этилового спирта в течение 24 нед. Для оценки размеров левого желудочка сердца и его инотропной функции использовали эхокардиографию. С помощью полимеразной цепной реакции «в реальном времени» определяли экспрессию ряда рецепторов и регуляторных белков в миокарде левого желудочка и грудной аорте.

Результаты. Сравнительный анализ показал, что у интактных самок по сравнению с самцами размеры левого желудочка сердца значительно меньше, в то время как фракции укорочения и выброса выше. Принудительная алкоголизация в течение 24-х нед как у самцов, так и у самок вызывает развитие алкогольной кардиомиопатии, эхокардиографически проявляющейся увеличением размеров левого желудочка сердца и угнетением его сократительной функции. Однако у самок увеличение размеров левого желудочка выражено в значительно большей степени. В биоптатах левого желудочка сердца животных обоего пола изменения уровня экспрессии мРНК рецепторов эндогенных трансмисмиттеров: катехоламинов (β_1 - и β_2 -AR), ангиотензина II (AT1A-R), эндотелина-1 (ETA-R) и регуляторных белков (Eras1, Eras2 и CaM) при алкогольной кардиомиопатии носит однонаправленный характер. В аорте самок повышается экспрессия мРНК ключевых вазоконстрикторных рецепторов (α_1 -R, ETA-R, VIA-R, AT1A-R), тогда как в аорте самцов, напротив снижается.

Заключение. Таким образом, как у самок, так и у самцов крыс 24-недельное систематическое потребление алкоголя приводит к формированию алкогольной кардиомиопатии, однако у самок выявленные патологические изменения прогностически более неблагоприятны.

Ключевые слова: алкогольная кардиомиопатия; самцы; самки; эхокардиография; ПЦР.

Для цитирования: Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Ионова Е.О., Барчуков В.В., Никифорова Т.Д., Шигабудинова Л.К., Столярчук В.Н., Вититнова М.Б., Колик Л.Г., Дурнев А.Д., Крыжановский С.А. Гендерные особенности изменений состояния сердечно-сосудистой системы при алкогольной кардиомиопатии (экспериментальное исследование). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(4): 23-31.

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.04.23-31

Для корреспонденции: Крыжановский Сергей Александрович, доктор мед. наук, зав. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», e-mail: SAK-538@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 19.07.2019

Kozhevnikova L.M.^{1,2}, Tzorin I.B.¹, Ionova E.O.¹, Barchukov V.V.¹, Nikiforova T.D.¹, Shigabudinova L.K.¹, Stolyaruk V.N.¹, Vititnova M.B.¹, Kolik L.G.¹, Durnev A.D.¹, Kryzhanovskii S.A.¹

Sex-related changes in the cardiovascular system in alcoholic cardiomyopathy. (An experimental study)

¹Zakusov Institute of Pharmacology, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia;

²Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia

Aim. To study sex-related differences of changes in the cardiovascular system in rats with alcoholic cardiomyopathy (ACMP).

Methods. Alcoholic cardiomyopathy was induced in rats by offering them a 10% aqueous solution of ethyl alcohol as the only source of fluid for 24 weeks. Echocardiography was used to assess the size and inotropic function of the left ventricle. Expression

of receptors and regulatory proteins in the left ventricular myocardium and thoracic aorta was determined using real-time polymerase chain reaction.

Results. Comparative analysis showed that the left ventricle was much smaller in intact females than in males whereas shortening and ejection fractions of the female left ventricle were greater. Forced alcoholization for 24 weeks induced ACMP in both males and females, which was evident on echocardiogram as enlargement of the left ventricle and depression of its contractility. However, the increase in left ventricular size was considerably more pronounced in females. In biopsy samples of the left ventricle, the expression of mRNA of genes for endogenous transmitter receptors [catecholamines ($\beta 1$ and $\beta 2$ -AR), angiotensin II (AT1-R), endothelin-1 (ETA-R) and regulatory proteins (Epac1, Epac2 and CaM) changed in the same direction in both males and females. The mRNA expression of key vasoconstrictor receptor genes ($\alpha 1$ -R, VIA-R, ATIA-R) was increased in the female aorta but reduced in the male aorta.

Conclusion. In both female and male rats, the 24-week alcohol consumption on a regular basis resulted in ACMP; however, in females, pathological changes were prognostically more adverse.

Keywords: alcoholic cardiomyopathy; males; females; echocardiography; PCR.

For citation: Kozhevnikova L.M., Tsorin I.B., Ionova E.O., Barchukov V.V., Nikiforova T.D., Shigabudinova L.K., Stolyaruk V.N., Vititnova M.B., Kolik L.G., Durnev A.D., Kryzhanovskii S.A. Sex-related changes in the cardiovascular system in alcoholic cardiomyopathy (An experimental study). *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(4): 23-31. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.04.23-31

For correspondence: *Kryzhanovskii Sergey Alexandrovich*, Doctor of Medical Sciences, Head of Laboratory of pharmacological screening, FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", e-mail: SAK-538@yandex.ru.

Information about authors:

Kozhevnikova L.M., <http://orcid.org/0000-0002-1323-6472>

Tsorin I.B., <http://orcid.org/0000-0002-3988-7724>

Ionova E.O., <http://orcid.org/0000-0003-0154-722X>

Barchukov V.V., <http://orcid.org/0000-0003-4229-3107>

Stolyaruk V.N., <http://orcid.org/0000-0002-4779-427X>

Vititnova M.B., <http://orcid.org/0000-0002-7407-7516>

Kolik L.G., <http://orcid.org/0000-0002-9847-8058>

Durnev A.D., <http://orcid.org/0000-0003-0218-8580>

Kryzhanovskii S.A., <http://orcid.org/0000-0003-2832-4739>

Acknowledgements. The study had not sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 19.07.2019

Введение

В России хронический алкоголизм является одной из ведущих причин избыточной летальности – 26,6 человек на 100 000 населения [1]. Анализ структуры соматической летальности больных хроническим алкоголизмом свидетельствует о том, что её основной причиной является алкогольная кардиомиопатия (АКМП) [2]. Согласно данным центрального НИИ организации и информатизации здравоохранения и Росстата, смертность у мужчин в возрасте старше 20-60 лет с документально подтвержденным хроническим алкоголизмом от АКМП составляет 51,4-64,3 % от всех аутопсий, тогда как летальность от болезней органов пищеварения, включая цирроз печени, не превышает 16,4-28,8 %. У женщин эти показатели составляют соответственно 46,7-59,7% и 26,6-39,9% [3]. За последние годы летальность от АКМП как у мужчин, так и у женщин постоянно растет [4]. В РФ среди лиц трудоспособного возраста смертность от АКМП выше, чем

от инфаркта миокарда: у мужчин – в 1,8 раза, у женщин – в 7 раз [5]. Не меньшую остроту проблеме придает и тот факт, что у пациентов, страдающих АКМП, внезапная сердечная смерть диагностируется в 30-40 % случаев [6, 7]. Относительная частота развития АКМП у обоих полов одинакова, однако у женщин эта патология формируется в более короткие сроки после начала злоупотребления алкоголем и от меньших доз [8]. Злокачественные нарушения ритма сердца у женщин возникают также при употреблении меньших доз алкоголя [9].

Экспериментальные исследования, посвященные изучению гендерных различий при АКМП, немногочисленны, а интерпретация их результатов не всегда корректна. Например, в работе R.L. Fogle и соавт. у включенных в эксперимент животных через 18 нед потребления этанола значения конечно-систолического и конечно-диастолического размеров левого желудоч-

ка сердца и его инотропной функции не отличались от контроля [10], т.е. отсутствовали патогномичные для сформировавшейся АКМП диагностические признаки сердечной недостаточности.

Ранее нами была разработана трансляционная модель АКМП у крыс, воспроизводящая основные клинико-диагностические признаки этого заболевания, формирующаяся через 24 нед алкоголизации [11].

Цель исследования – сравнительная оценка гендерных особенностей состояния сердечно-сосудистой системы у крыс с сформировавшейся АКМП.

Методика

Животные. Опыты проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой 180–200 г, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая». Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Животных содержали с предоставлением брикетированного корма *ad libitum* при регулируемом 12/12 световом режиме в соответствии с приказом Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Животные основных и контрольных групп содержались в индивидуальных клетках стандарта Т/3. Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова, международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/ЕЕС)), а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утвержденными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Животных каждого пола рандомизировали на две группы: 1-я – контрольные крысы, которые получали обычный рацион питания: 1-я подгруппа – самцы ($n=9$) и 2-я подгруппа – самки ($n=12$); 2-я – алкоголизованные крысы: 1-я подгруппа – самцы ($n=20$) и 2-я подгруппа – самки ($n=20$).

Модель АКМП. Все животные 2-й группы в качестве единственного источника жидкости получали 10%-ный водный раствор этанола в течение 24 нед. На протяжении всего исследования еженедельно регистрировали количество потребляемого этанола (г/кг). Все живот-

ные этой группы активно потребляли физиологически значимое количество 10%-ного раствора этанола. В пересчете на чистый этанол среднее потребление алкоголя в течение эксперимента, вне зависимости от пола, варьировало в пределах 5,0–6,5 г/кг в сут.

Эхокардиографические исследования. Наркотизированных животных (кетамин 100 мг/кг, в/б) фиксировали в положении на спине. Измерения производили в условиях закрытой грудной клетки и спонтанного дыхания в одномерном М- и двухмерном В-модальных режимах при положении датчика эхокардиографа в парастернальной позиции по длинной оси сердца. В М-модальном режиме оценивали конечно-систолический и конечно-диастолический размеры (КСР и КДР), затем по методу Teichholz рассчитывали показатели сократительной функции сердца – фракцию выброса (ФВ) и фракцию укорочения (ФУ). Оценку эхокардиографических показателей проводили, как минимум, по 5 последовательным сердечным циклам. Все измерения выполняли в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии [12]. В работе использовали цифровой ультразвуковой эхокардиограф DP-6600 с электронным микроконвексным датчиком 65C15EA (6,5/8,0 МГц). Оценку динамики изменений показателей внутрисердечной гемодинамики проводили через 24 нед алкоголизации.

Молекулярные исследования. На следующий день после эхокардиографического исследования животных наркотизировали 25%-ым раствором уретана (4 мл/кг), декапитировали, извлекали грудной отдел аорты и левый желудочек сердца. Образцы тканей отмывали от крови и очищали от соединительной ткани и жира в физиологическом растворе хлорида натрия при +4 °С, затем помещали в раствор RNAlater (США, Ambion) и хранили при температуре -20 °С.

Образцы, извлеченные из раствора RNAlater, гомогенизировали в жидком азоте. Выделение РНК из тканей проводили с помощью набора GeneJET™ («Thermo Fisher Scientific», США) согласно протоколу производителя. Концентрацию суммарной РНК в образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США). Выделенную суммарную РНК для предотвращения контаминации геномной ДНК обрабатывали ДНКазой I («Thermo Fisher Scientific», США). Синтез кДНК проводили с помощью набора RevertAid™ Minus First Strand cDNA Synthesis Kit («Thermo Fisher Scientific», США). ПЦР-РВ проводили с помощью набора qPCRMix-HS («Евроген», Россия), используя праймеры и флуоресцентные зонды («ДНК-синтез», Россия), согласно протоколам производителей на ам-

плификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). В качестве гена «домашнего хозяйства» был использован ген β-актина.

Анализ результатов ПЦР-РВ. Предварительную обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения, приложенного к прибору. Дальнейшая обработка проводилась в приложении Microsoft Excel с использованием алгоритма 2^{-ΔΔCt}. Расчет уровня матричной РНК (мРНК) проводили с использованием алгоритма delta-delta (ΔΔCt), в основу которого положены относительные изменения пороговых циклов (Ct) исследуемого и референсного гена в опытных и контрольных образцах.

Статистический анализ. Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий проверяли с помощью критерия Левена. Так как распределение данных не отличалось от нормального, а дисперсии выборок были равны, то статистический анализ данных эхокардиографических исследований проводили с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (факторы: пол и потребление алкоголя) с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу. В молекулярных исследованиях статистическую значимость различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Различия считали статистически значимыми при p ≤ 0,05.

Результаты и обсуждение

Эхокардиографические исследования. У всех включенных в исследование животных перед рандомизацией эхокардиографические показатели колебались в пределах физиологической нормы. Через 6 мес на-

блюдения у контрольных крыс обоего пола регистрируемые эхокардиографические показатели практически не изменились, отмечалось лишь незначительное (на 0,2-0,4 мм), связанное с увеличением массы и возраста животных, увеличение конечно-систолического и конечно-диастолического размеров (КСР, КДР). Статистический анализ данных выявил у интактных животных значимые гендерные различия, касающиеся как размеров левого желудочка, так и его инотропной функции. Так, если у самцов КСР и КДР больше чем у самок, то ФВ (показатель состояния инотропной функции) у самцов, напротив, меньше (**табл.**).

Согласно данным эхокардиографических исследований, у животных обоего пола через 24 нед. алкоголизации формируется АКМП. Ранее при разработке трансляционной модели АКМП было показано, что результаты эхокардиографических исследований, свидетельствующие о наличии у алкоголизованных животных значимых признаков патогномичной для этой патологии хронической сердечной недостаточности, напрямую коррелируют с результатами морфометрических (дилатация полостей сердца), гистологических (жировая инфильтрация миокарда, полиморфизм кардиомиоцитов и т.д.) и электрофизиологических (снижение электрической стабильности кардиомиоцитов) исследований [11].

Как следует из полученных данных, через 24 нед. алкоголизации как у самцов, так и у самок происходит сопоставимое снижение инотропной функции: так у самцов ФВ снизилась на 17%, у самок – на 20% (**табл.**). В экстраполяции на человека это соответствует сердечной недостаточности с ФВ ≈ 40%, т.е. пограничному состоянию между среднетяжелой и тяжелой формой заболевания. Если снижение сократительной функции левого желудочка у самцов и самок сопоставимы, то его дилатация значимо больше у самок. Так,

Таблица

Сравнение эхокардиографических показателей самцов и самок крыс с сформировавшейся АКМП

Группы животных	Пол	КСР, мм	КДР, мм	ФУ, %	ФВ, %
Контрольные крысы, 24 нед	Самцы, n=9	2,07±0,06 p=0,0001	4,12±0,12 p=0,0001	49,7±1,1 p=0,0001	84,1±0,9 p=0,0030
	Самки, n=12	1,29±0,05	2,94±0,07	56,1±0,8	90,9±0,5
Алкоголизованные крысы, 24 нед	Самцы, n=20	3,23±0,07 p=0,0001 p ₁ =0,0001	4,80±0,09 p=0,0186 p ₁ =0,0018	35,7±0,8 p=0,0001 p ₁ =0,0001	69,6±1,1 p=0,0001 p ₁ =0,0001
	Самки, n=20	2,51±0,12 p ₁ =0,0001	4,35±0,15 p ₁ =0,0001	42,7±1,0 p ₁ =0,0001	73,6±1,0 p ₁ =0,0001

Примечание. p – по отношению к самкам в каждой группе животных; p₁ – по отношению к интактным крысам того же пола.

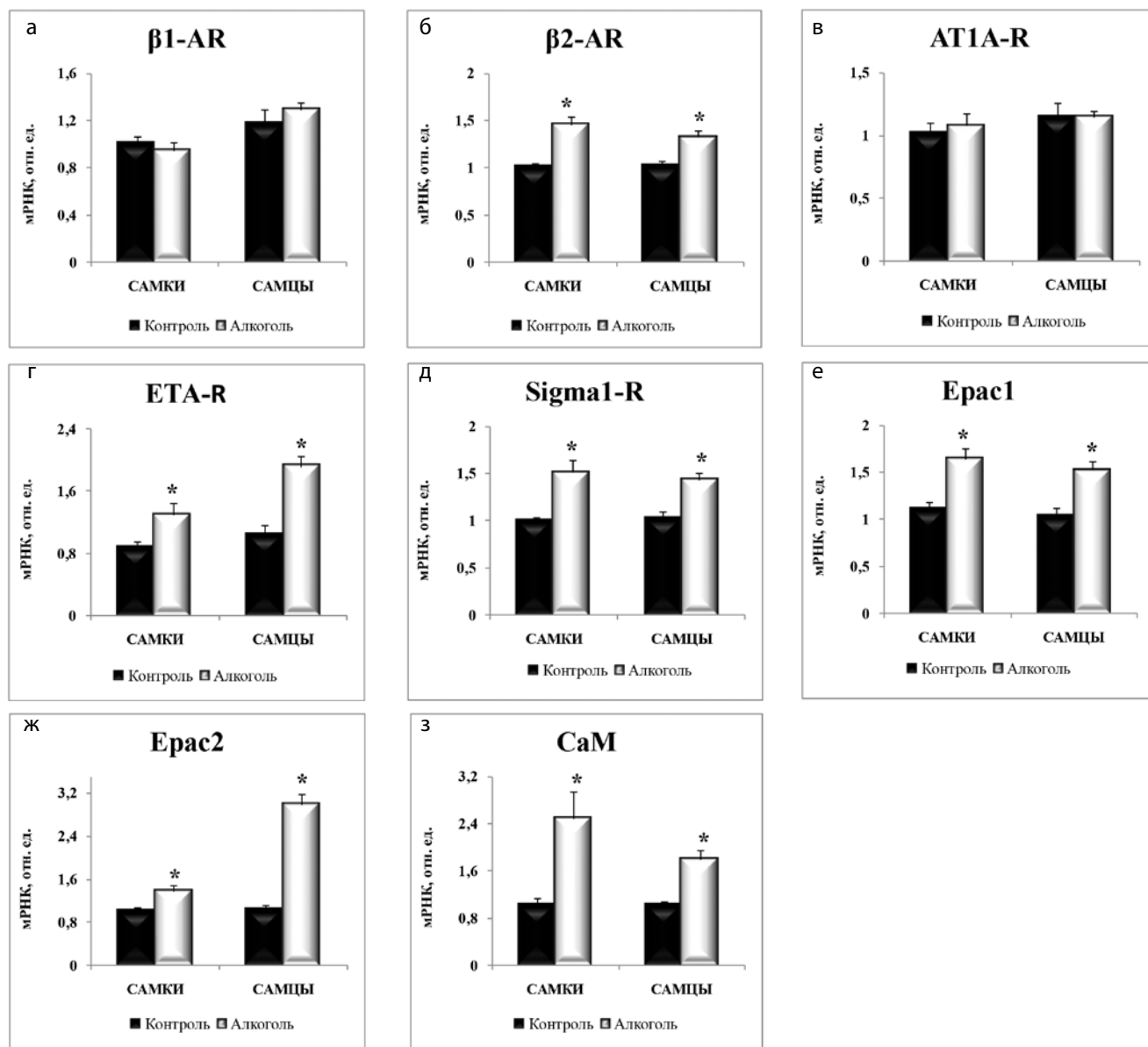


Рис. 1. Изменение уровня мРНК рецепторных и регуляторных белков в левом желудочке сердца самцов и самок крыс при АКМП.

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

например, КСР у алкоголизованных самцов по сравнению с контролем увеличен на 56%, а у самок – на 95% (табл.).

Статистическая обработка с помощью двухфакторного дисперсионного анализа полученных результатов свидетельствует о том, что оба изучаемых фактора (пол и потребление алкоголя) оказывают статистически значимое воздействие на геометрию и сократительную функцию сердца.

Молекулярные исследования. Сердце. В биоптатах левого желудочка сердца оценивали уровень экспрессии генов рецепторов эндогенных трансмисмиттеров [катехоламинов (β_1 - и β_2 -AR), ангиотензина II (AT1A-R), эндотелина-1 (ETA-R)], а также сигма₁-рецепторов (σ_1 -R). Помимо этого был оценен уровень экспрессии генов регуляторных белков Ерас1, Ерас2 и кальмодулина (CaM). Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что в миокарде левого желудочка ал-

коголизованных самцов и самок с АКМП не изменяется уровень мРНК β_1 -AR и AT1A-R (рис. 1, а и 1, в), вместе с тем, у крыс обоего пола отмечается значимое по сравнению с контролем увеличение уровня мРНК для:

1 – β_2 -AR (рис. 1, б). Увеличение экспрессии β_2 -AR, возможно, носит компенсаторный характер, поскольку известно, что в условиях формирующейся хронической сердечной недостаточности (ХСН) происходит десенситизация β_1 -AR, что влечет за собой снижение насосной функции левого желудочка, тогда как активация в этих условиях β_2 -AR инициирует увеличение инотропного ответа на катехоламины [13]. Этот кардиопротективный эффект β_2 -AR опосредуется активацией сопряженных с ними не Gs, а Gi сигнальных белков;

2 – ETA-R (рис. 1, г). Хорошо известно, что эндотелин 1 (ET1) в условиях ХСН посредством активации ETA-R инициирует активацию MAP-киназного каскада, приводящую к патологическому ремоделированию

левого желудочка сердца [14] и индуцирует генерацию активных форм кислорода, оказывающих кардиодепрессивное/кардиотоксическое действие [15];

3 – σ_1 -R (рис. 1, д). Полагают, что σ_1 -R являются своего рода «ремонтными» белками, которые поддерживают протеостаз и защищают клетки от протеотоксического стресса, регулируют процессы, ответственные за поддержание гомеостаза ионов Ca^{2+} и энергообразующей функции митохондрий [16-19]. Увеличение их плотности в кардиомиоцитах в наших экспериментах носит, скорее всего, компенсаторный, но явно недостаточный характер;

4 – белки Eras1 (рис. 1, е). Хорошо известно, что вторичным мессенджером сигнальной трансдукции от β -AR является cAMP, эффекторами которого помимо протеинкиназы A являются и относительно недавно открытые регуляторные белки Eras. В кардиомиоцитах идентифицированы две изоформы этих белков – Eras1 и Eras2. В физиологических условиях белки Eras1 играют важную роль в регуляции инотропной функции

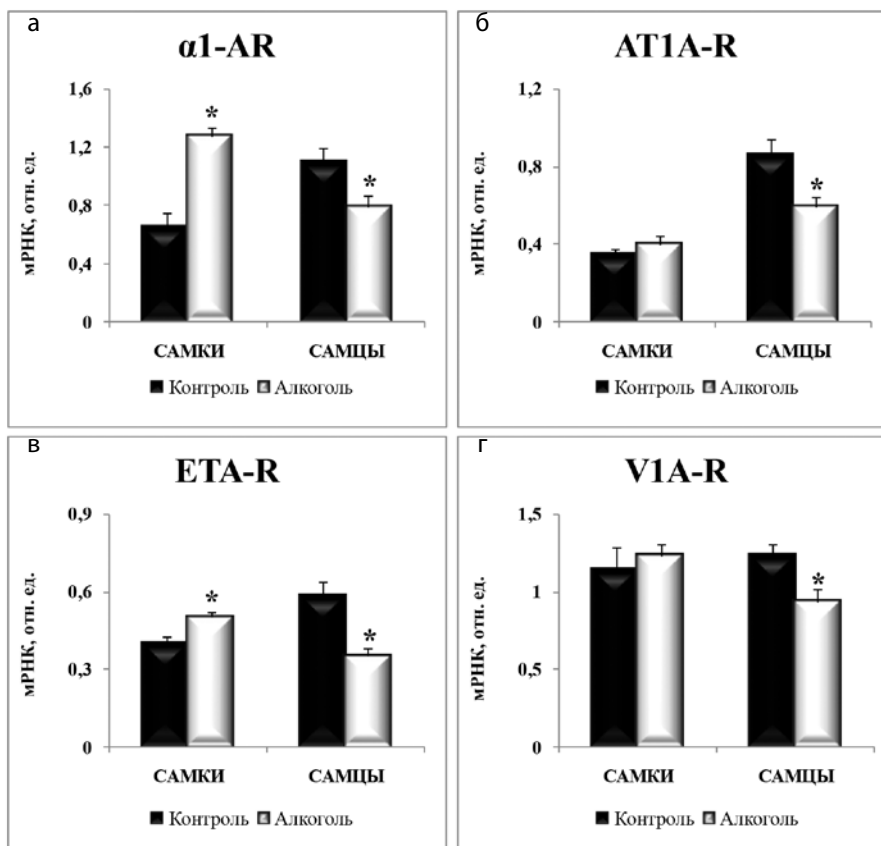


Рис. 2. Изменение уровня мРНК рецепторов эндогенных вазоконстрикторов в аорте самцов и самок крыс при АКМП.

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

сердца, процессов межклеточного сопряжения кардиомиоцитов, апоптоза и т.д. [20-22]. Вместе с тем, показано, что избыточная экспрессия белков Eras1 влечет за собой снижение инотропной функции и фиброз миокарда и, в конечном итоге, инициирует патологическое ремоделирование левого желудочка сердца и развитие ХСН [23-25];

5 – белки Eras2 (рис. 1, ж). Роль белков Eras2 в регуляции физиологических функций кардиомиоцитов окончательно не ясна, однако имеются убедительные данные о том, что увеличение их экспрессии в кардиомиоцитах левого желудочка сердца влечет за собой развитие злокачественных нарушений сердечного ритма, обусловленное диастолической утечкой ионов Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума, аномальным увеличением интенсивности позднего Na^+ тока, избыточной экспрессией коннексонов Sx43 в области щелевых контактов кардиомиоцитов и аномальной активностью трансмембранных потенциалзависимых K^+ каналов [25, 26];

6 – CaM (рис. 1, з). За последние годы накоплен убедительный материал, свидетельствующий о ключевой роли CaM в генезе ремоделирования миокарда и аритмогенеза при ХСН [27, 28, 29]. Нарушение сократительного статуса миокарда обусловлено способностью CaM вызывать перегрузку кардиомиоцитов ионами Ca^{2+} [30], а CaM-обусловленная активация CaMKII, которая фосфорилирует как RyR2, так и IP_3R саркоплазматического ретикулума, инициирует аритмогенез [31].

Таким образом, в миокарде как самцов, так и самок с АКМП протекают однонаправленные патологические процессы, инициирующие ремоделирование миокарда, развитие ХСН и снижение электрической стабильности миокарда.

Сосуды. В биоптатах грудного отдела аорты оценивали уровень экспрессии генов рецепторов эндогенных вазоконстрикторов [катехоламинов (α_1 -AR), ангиотензина II (AT1A-R), вазопрессина (V1A-R) и эндотелина-1 (ETA-R)]. В результате проведенного исследования были выявлены гендерные различия в динамике изменения экспрессии генов вазоконстрикторных рецепторов у крыс с АКМП, которые проявлялись в следующем:

1 – α_1 -AR (рис. 2, а). У самцов с АКМП экспрессия мРНК α_1 -AR, по сравнению с контролем, значимо ($p < 0,05$) снижена, тогда как у самок, напротив, существенно увеличена ($p < 0,0036$);

2 – AT1A-R (рис. 2, б). У самцов с АКМП экспрессия мРНК AT1A-R также значимо ($p < 0,05$) снижена, у самок наблюдается увеличение, хотя и статистически не значимое (на 18%);

3 – ETA-R (рис. 2, в). У самцов с АКМП экспрессия мРНК ETA-R по сравнению с контролем значимо ($p < 0,05$) уменьшается, тогда как у самок, напротив, увеличивается ($p = 0,008$);

4 – V1A-R (рис. 2, г). Экспрессия мРНК V1A-R у самцов с АКМП значимо снижена (\approx на 25%); у самок, хотя и не значимо, увеличена.

Полученные в этой серии экспериментов результаты свидетельствуют о том, что у самцов с АКМП в аорте значимо снижается экспрессия мРНК для α_1 -AR, AT1A-R, ETA-R и V1A-R, активация которых инициирует вазоконстрикцию, что можно рассматривать как компенсаторную, приспособительную реакцию, направленную на снижение постнагрузки на поврежденный токсическим действием алкоголя миокард. У самок наблюдается противоположная картина, поскольку у них значимо увеличена экспрессия мРНК таких ключевых вазоконстрикторных рецепторов как α_1 -AR, ETA-R и наблюдается отчетливая тенденция к увеличению экспрессии V1A-R и AT1A-R. Полученные данные позволяют предположить, что у самок крыс увеличена постнагрузка на миокард, что естественно, способствует усилению тяжести патологического процесса. Нельзя исключить и того, что более интенсивная дилатация полости левого желудочка, выявленная у самок с АКМП при эхокардиографическом исследовании, в той или иной мере связана с увеличением постнагрузки на миокард.

Таким образом, сравнительный анализ особенностей изменения эхокардиографических показателей и экспрессии рецепторных и регуляторных белков в биоптатах тканей миокарда и грудной аорты свидетельствует о том, что у самок с АКМП выявленные патологические изменения прогностически более неблагоприятны, чем у самцов. Полученные результаты экспериментальных исследований согласуются с клиническими наблюдениями, указывающими на то, что у женщин, страдающих хроническим алкоголизмом, патологические изменения со стороны сердечно-сосудистой системы более выражены.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – Крыжановский С.А., Кожевникова Л.М., Колик Л.Г.

Сбор и обработка материала – Кожевникова Л.М., Столярук В.Н., Ионова Е.О., Вититнова М.Б., Барчуков В.В., Никифорова Т.Д., Шигабудинова Л.К.

Статистическая обработка – Цорин И.Б., Кожевникова Л.М.

Написание текста – Крыжановский С.А., Кожевникова Л.М.

Редактирование – Дурнев А.Д.

Литература

1. Бохан Н.А., Мандель А.И., Максименко Н.Н., Михалева Л.Д. Смертельные исходы при алкогольной зависимости. *Наркология*. 2007; (12): 37-40.
2. Никитина С.Ю., Козеева Г.М. Совершенствование статистики смертности от алкоголизма. *Вопросы статистики*. 2006; (11): 21-3.
3. Семенова В.Г., Антонова О.И., Евдокушкина Г.Н. Гаврилова Н.С. Потери населения России в 2000-2008 гг., обусловленные алкоголем: масштабы, структура, тенденции. *Социальные аспекты здоровья населения: электронный научный журнал*. 2010. 01 июля [Электронный ресурс]. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/188/27/>
4. Гервальд В.Я., Спицын П.С., Привалихина А.В. и др. Алкогольная кардиомиопатия по данным аутопсийных исследований. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; (3). <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24561>.
5. Панова Е., Тимонин С. Смертность от болезней системы кровообращения в России и Москве в свете новых мировых тенденций. *Московская медицина*. 2017; 4(19): 57-64.
6. Чазов Е.И. *Внезапная смерть*. 2013. [Электронный ресурс]. <http://www.medicusamicus.com/index.php?action=2x1229x1>
7. Roerecke M., Rehm J. Alcohol use disorders and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Addiction*. 2013; 108(9): 1562-78.
8. Fernandez-Solo J., Estruch R., Nicolas J.-M. et al. Comparison of alcoholic cardiomyopathy in women versus men. *Am. J. Cardiol*. 1997; 80: 481-5.
9. Pfeiffer D., Jurisch D., Neef M., Hagendorff A. Alcohol and arrhythmias. *Herz*. 2016; 41(6): 498-502.
10. Fogle R.L., Hollenbeak C.S., Stanley B.A. et al. Functional proteomic analysis reveals sex-dependent differences in structural and energy-producing myocardial proteins in rat model of alcoholic cardiomyopathy. *Physiol. Genomics*. 2011; 43(7): 346-56.
11. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Колик Л.Г. и др. Трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии. *Молекулярная медицина*. 2015; (3): 40-7.
12. Lang R.M., R.M., Bierig M., Devereux R.B. et al.; Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J. Am. Soc. Echocardiogr*. 2005; 18: 1440-63.
13. Xiao R.P., Zhang S.J., Chakir K. et al. Enhanced G(i) signaling selectively negates beta2-adrenergic receptor (AR) but not beta1-AR-mediated positive inotropic effect in myocytes from failing rat hearts. *Circulation*. 2003; 108(13): 1633-9.
14. Lehmann L.H., Rostovsky J.S., Buss S.J. et al. Essential role of sympathetic endothelin A receptors for adverse cardiac remodeling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014; 111(37): 13499-504.
15. Archer C.R., Robinson E.L., Drawnel F.M., Roderick H.L. Endothelin-1 promotes hypertrophic remodelling of cardiac myocytes by activating sustained signalling and transcription downstream of endothelin type A receptors. *Cell. Signal*. 2017; 36: 240-54.
16. Середин С. Б., Воронин М. В. Нейрорецепторные механизмы действия афабазола. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2009; 72(1): 3-11.
17. Maurice T., Su T.P. The pharmacology of sigma-1 receptors. *Pharmacol. Ther.* 2009; 124(2): 195-206.
18. Tagashira H., Bhuiyan M.S., Fukunaga K. Diverse regulation of IP3 and ryanodine receptors by pentazocine through σ 1-receptor in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2013; 305(8): H1201-12.
19. Abdullah C.S., Alam S., Aishwarya R. et al. Cardiac dysfunction in the Sigma 1 receptor knockout mouse associated with impaired mitochondrial dynamics and bioenergetics. *J. Am. Heart Assoc*. 2018; 7(20): e009775.
20. Oestreich E.A., Wang H., Malik S. et al. Epac-mediated activation of phospholipase C(epsilon) plays a critical role in beta-adrenergic receptor-dependent enhancement of Ca2+ mobilization in cardiac myocytes. *J. Biol. Chem*. 2007; 282(8): 5488-95.
21. Duquesnes N., Derangeon M., Métrich M. et al. Epac stimulation induces rapid increases in connexin43 phosphorylation and function without preconditioning effect. *Pflugers. Arch*. 2010; 460(4): 731-41.
22. Kwak H.J., Park K.M., Choi H.E. et al. PDE4 inhibitor, roflumilast protects cardiomyocytes against NO-induced apoptosis via activation of PKA and Epac dual pathways. *Cell. Signal*. 2008; 20(5): 803-14.
23. Bisserier M., Blondeau J.P., Lezoualc'h F. Epac proteins: specific ligands and role in cardiac remodeling. *Biochem. Soc. Trans*. 2014; 42(2): 257-64.
24. Insel P.A., Murray F., Yokoyama U. et al. cAMP and Epac in the regulation of tissue fibrosis. *Br. J. Pharmacol*. 2012; 166(2): 447-56.
25. Laudette M., Zuo H., Lezoualc'h F., Schmidt M. Epac function and cAMP scaffolds in the heart and lung. *J. Cardiovasc. Dev. Dis*. 2018; 5(1). pii: E9.
26. Hothi S.S., Gurung I.S., Heathcote J.C., Zhang Y. et al. Epac activation, altered calcium homeostasis and ventricular arrhythmogenesis in the murine heart. *Pflugers. Arch*. 2008; 457(2): 253-70.
27. Tham Y.K., Bernardo B.C., Ooi J.Y. et al. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets. *Arch. Toxicol*. 2015; 89(9): 1401-38.
28. Walweel K., Oo Y.W., Laver D.R. The emerging role of calmodulin regulation of RyR2 in controlling heart rhythm, the progression of heart failure and the antiarrhythmic action of dantrolene. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. 2017; 44(1): 135-42.
29. Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Столярук В.Н. и др. Оценка экспрессии генов рецепторных и регуляторных белков в миокарде крыс с хронической сердечной недостаточностью. *Пат. физиол. и эксперим. терапия*. 2018; 62(4): 28-35.
30. Ruiz-Hurtado G., Morel E., Domínguez-Rodríguez A. et al. Epac in cardiac calcium signaling. *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2013; 58: 162-71.
31. Mustroph J., Neef S., Maier L.S. CaMKII as a target for arrhythmia suppression. *Pharmacol. Ther.* 2017; 176: 22-31.

References

1. Bohan N.A., Mandel' A.I., Maksimenko N.N., Mihaleva L.D. Deaths in alcohol dependence. *Narkologiya*. 2007; (12): 37-40. (in Russian)
2. Nikitina S.Yu., Kozeeva G.M. Improving alcohol mortality statistics. *Voprosy statistiki*. 2006; (11): 21-3. (in Russian)
3. Semenova V.G., Antonova O.I., Evdokushkina G.N. GavriloVA N.S. The loss of the population of Russia in 2000-2008, due to alcohol: the scale, structure, trends.. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya: elektronnyj nauchnyj zhurnal*. 2010. 01 iyulya [Electronic resource]. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/188/27/>. (in Russian)
4. Gervald V.Ya., Spicyn P.S., Privalihina A.V. i dr. Alcoholic cardiomyopathy according to autopsy research. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016; (3). <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24561>. (in Russian)

5. Panova E., Timonin S. Mortality from circulatory system diseases in Russia and Moscow in the light of new global trends. *Moskovskaya meditsina*. 2017; 4(19): 57-64. (in Russian)
6. Chazov E.I. *Sudden death*. 2013. [Electronic resource]. <http://www.medicusamicus.com/index.php?action=2x1229x1>. (in Russian)
7. Roerecke M., Rehm J. Alcohol use disorders and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Addiction*. 2013; 108(9): 1562-78.
8. Fernandez-Solo J., Estruch R., Nicolas J.-M. et al. Comparison of alcoholic cardiomyopathy in women versus men. *Am. J. Cardiol*. 1997; 80: 481-485.
9. Pfeiffer D., Jurisch D., Neef M., Hagendorff A. Alcohol and arrhythmias. *Herz*. 2016; 41(6): 498-502.
10. Fogle R.L., Hollenbeak C.S., Stanley B.A. et al. Functional proteomic analysis reveals sex-dependent differences in structural and energy-producing myocardial proteins in rat model of alcoholic cardiomyopathy. *Physiol. Genomics*. 2011; 43(7): 346-56.
11. Kryzhanovskii S.A., Kolik L.G., Tsorin I.B. et al. Translation model of alcoholic cardiomyopathy. *Mol. Med*. 2015; (3): 40-7.
12. Lang R.M., R.M., Bierig M., Devereux R.B. et al.; Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J. Am. Soc. Echocardiogr*. 2005; 18: 1440-63.
13. Xiao R.P., Zhang S.J., Chakir K. et al. Enhanced G(i) signaling selectively negates beta2-adrenergic receptor (AR) but not beta1-AR-mediated positive inotropic effect in myocytes from failing rat hearts. *Circulation*. 2003; 108(13): 1633-9.
14. Lehmann L.H., Rostoks J.S., Buss S.J. et al. Essential role of sympathetic endothelin A receptors for adverse cardiac remodeling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014; 111(37): 13499-504.
15. Archer C.R., Robinson E.L., Drawnel F.M., Roderick H.L. Endothelin-1 promotes hypertrophic remodelling of cardiac myocytes by activating sustained signalling and transcription downstream of endothelin type A receptors. *Cell. Signal*. 2017; 36: 240-54.
16. Seredenin S.B., Voronin M. V. Neuroreceptor mechanisms of the afobazole effect. *Eksp. Klin. Farmakol*. 2009; 72(1): 3-11.
17. Maurice T., Su T.P. The pharmacology of sigma-1 receptors. *Pharmacol. Ther*. 2009; 124(2): 195-206.
18. Tagashira H., Bhuiyan M.S., Fukunaga K. Diverse regulation of IP3 and ryanodine receptors by pentazocine through σ_1 -receptor in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2013; 305(8): H1201-12.
19. Abdullah C.S., Alam S., Aishwarya R. et al. Cardiac dysfunction in the Sigma 1 receptor knockout mouse associated with impaired mitochondrial dynamics and bioenergetics. *J. Am. Heart Assoc*. 2018; 7(20): e009775.
20. Oestreich E.A., Wang H., Malik S. et al. Epac-mediated activation of phospholipase C(epsilon) plays a critical role in beta-adrenergic receptor-dependent enhancement of Ca2+ mobilization in cardiac myocytes. *J. Biol. Chem*. 2007; 282(8): 5488-95.
21. Duquesnes N., Derangeon M., Métrich M. et al. Epac stimulation induces rapid increases in connexin43 phosphorylation and function without preconditioning effect. *Pflugers. Arch*. 2010; 460(4): 731-41.
22. Kwak H.J., Park K.M., Choi H.E. et al. PDE4 inhibitor, roflumilast protects cardiomyocytes against NO-induced apoptosis via activation of PKA and Epac dual pathways. *Cell. Signal*. 2008; 20(5): 803-14.
23. Bissierier M., Blondeau J.P., Lezoualc'h F. Epac proteins: specific ligands and role in cardiac remodeling. *Biochem. Soc. Trans*. 2014; 42(2): 257-64.
24. Insel P.A., Murray F., Yokoyama U. et al. cAMP and Epac in the regulation of tissue fibrosis. *Br. J. Pharmacol*. 2012; 166(2): 447-56.
25. Laudette M., Zuo H., Lezoualc'h F., Schmidt M. Epac function and cAMP scaffolds in the heart and lung. *J. Cardiovasc. Dev. Dis*. 2018; 5(1): pii: E9.
26. Hothi S.S., Gurung I.S., Heathcote J.C., Zhang Y. et al. Epac activation, altered calcium homeostasis and ventricular arrhythmogenesis in the murine heart. *Pflugers. Arch*. 2008; 457(2): 253-70.
27. Tham Y.K., Bernardo B.C., Ooi J.Y. et al. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets. *Arch. Toxicol*. 2015; 89(9): 1401-38.
28. Walweel K., Oo Y.W., Laver D.R. The emerging role of calmodulin regulation of RyR2 in controlling heart rhythm, the progression of heart failure and the antiarrhythmic action of dantrolene. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. 2017; 44(1): 135-42.
29. Kozhevnikova L.M., Tsorin I.B., Stolyaruk V.N. et al. The evaluation of expression of receptor and regulatory proteins genes in the myocardium of rats with chronic heart failure. *Patologicheskaya Fiziologiya I Experimental'naya terapiya*. 2018; 62(4): 28-35. (in Russian)
30. Ruiz-Hurtado G., Morel E., Domínguez-Rodríguez A. et al. Epac in cardiac calcium signaling. *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2013; 58: 162-71.
31. Mustroph J., Neef S., Maier L.S. CaMKII as a target for arrhythmia suppression. *Pharmacol. Ther*. 2017; 176: 22-31.

Сведения об авторах:

Кожевникова Любовь Михайловна, доктор мед. наук, зав. лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ НИИОПП; вед. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Цорин Иосиф Борисович, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Ионова Екатерина Олеговна, мл. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Барчуков Владимир Валерьевич, науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Никифорова Татьяна Дмитриевна, лаборант-исследователь лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Шигабудинова Лиля Константиновна, лаборант-исследователь лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Столярук Валерий Николаевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Виттнова Марина Борисовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Колук Лариса Геннадьевна, доктор биол. наук, проф. РАН, зав. лаб. фармакологической регуляции состояний зависимости ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Дурнев Андрей Дмитриев, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. РАН, зав. лаб. лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Крыжановский Сергей Александрович, доктор мед. наук, зав. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова».