

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕРДЦА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ У КРЫС

© 2019 г. Е. С. Прокудина¹, А. С. Горбунов¹, В. А. Казаков², В. В. Саушкин¹,
Н. Ма³, Л. Н. Маслов^{1, *}

¹Томский национальный исследовательский медицинский центр, Томск, Россия

²Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушино, Московская область, Россия

³Хейбейский медицинский университет, Шиджиажуан, Китай

*E-mail: maslov@cardio-tomsk.ru

Поступила в редакцию 11.12.2018 г.

После доработки 07.02.2019 г.

Принята к публикации 07.02.2019 г.

Исследование было проведено на крысах, которых подвергали иммобилизационному стрессу (24 ч). Установлено, что стресс приводит к гипертрофии надпочечников, инволюции тимуса, селезенки, появлению язв желудка, увеличению уровня кортизола и кортикостерона в сыворотке крови. Одновременно в 12 раз возрастает аккумуляция ^{99m}Tc-пирофосфата в сердце. В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце крыс было показано, что стресс приводит к уменьшению давления, развиваемого левым желудочком, и увеличению конечного диастолического давления, но не влияет на коронарный проток. Морфологическое исследование показало, что стресс вызывает появление сегментарной контрактуры, интерстициального отека, кариопикноза. Стресс не влиял на уровень креатинфосфокиназы (КФК) в перфузате, оттекающем от сердца, уровень КФК в сыворотке крови и показатели ЭКГ.

Ключевые слова: сердце, стресс, кардиомиопатия, синдром тако-тсубо

DOI: 10.1134/S0869813919020110

В 1977 г. было показано, что стресс, вызванный с помощью электростимуляции конечностей (food-shock stress), может вызывать у крыс поражения сердца, сходные с кардиомиопатией [1]. В 1990 г. стресс-индуцированная кардиомиопатия была описана у человека [2]. Авторы назвали такую патологию “синдромом тако-тсубо” (СТ), поскольку левый желудочек сердца пациентов с СТ во время систолы принимал форму ловушки для осьминогов, которую называют в Японии “tako-tsubo” [2]. Позднее было показано, что для стрессовой кардиомиопатии характерна сократительная дисфункция, повышение в крови уровня маркеров некроза миокарда, подъем или депрессия сегмента ST, инверсия зубца T и удлинение интервала QTc [3–7]. Отмечаются ли подобные изменения при стресс-индуцированной кардиомиопатии у животных, оставалось неясным.

Благодаря улучшению методов диагностики, выявляемость случаев СТ за последние годы возросла. Так, согласно данным R. Khera и соавт. [8] с 2007 по 2012 гг. заболеваемость СТ в США возросла в 3 раза (с 53 до 178 случаев на 1 млн госпитализированных пациентов). Летальность при СТ в течение 28 дней после госпитализации сопоставима с таковой у пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ) и

подъемом сегмента ST (5.5% против 5.7%), а количество умерших больных ST в течение 1 года составляет 12.5% [9]. По другим данным внутригоспитальная летальность при ST достигает 3.5–4.4% [6, 10]. Такой высокий процент летальных исходов при ST объясняется ограниченностью наших знаний о патогенезе стрессорной кардиомиопатии и, соответственно, отсутствием эффективной патогенетически обоснованной терапии этого заболевания. Так, например, неизвестно, какие процессы (некроз, некроптоз, апоптоз, аутофагия) лежат в основе патогенеза стрессорной кардиомиопатии. По нашему мнению, исследования на животных могут помочь пониманию механизмов возникновения ST, а, следовательно, помогут разработать способы лечения этой патологии.

Полагают [11], что иммобилизационный стресс способствует возникновению состояния, подобного ST. Ранее мы показали, что 24-часовой иммобилизационный стресс (ИС) вызывает аккумуляцию в миокарде крыс радиоактивного ^{99m}Tc -пирофосфата [12], что говорит о диффузном повреждении сердца [1]. Вместе с тем, было неизвестно, может ли подобное воздействие вызвать сократительную дисфункцию сердца, как это имеет место при ST.

Цель работы: исследовать морфофункциональные аспекты повреждения сердца при иммобилизационном стрессе у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было выполнено на 117 крысах-самцах линии Вистар массой 300–330 г. Линия крыс была получена из НИИ цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Крыс декапитировали для определения уровня креатинфосфокиназы, гормонов в крови и оценки морфологических изменений сердца. Стресс моделировали путем иммобилизации (24 ч) крыс на спине с помощью стандартных хомутов (АО “ДКС” Тверь, Россия). При подобной фиксации не происходило нарушение кровотока в иммобилизованных конечностях. Крысы голодали в течение 16 ч до стресса, но имели свободный доступ к воде. В группу контроля вошли интактные животные. Животных умерщвляли с помощью цервикальной дислокации для изоляции сердца. Крыс умерщвляли в 11 ч 30 мин утра. Исследование было одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

После стернотомии сердца быстро иссекали и помещали в бикарбонатный буфер Кребса–Хензелята (4°) до остановки. Аорту канюлировали для ретроградной перфузии буфером Кребса–Хензелята при 37°C (в mM): 120 NaCl, 4.8 KCl, 2.0 CaCl₂, 1.2 MgSO₄, 1.2 KН₂PO₄, 20.0 NaHCO₃, 10.0 глюкозы. После насыщения буфера смесью газов 95% O₂ – 5% CO₂ его pH был доведен до 7.4. Каждое сердце перфузировали при постоянном давлении в 52 мм рт. ст. Систолическое и диастолическое давление в левом желудочке регистрировали с помощью датчика давления SS13L (Biorac System Inc., Goleta, Калифорния, США), сопряженного с внутрижелудочковым баллончиком. В ходе опыта регистрировали ЧСС (уд/мин) и давление, развиваемое левым желудочком (ДРЛЖ, мм рт. ст.). Последнее вычисляли как разницу между систолическим и диастолическим давлением. В динамике эксперимента измеряли также конечное диастолическое давление (КДД, мм рт. ст.). Кроме того, определяли максимальную скорость увеличения давления в ЛЖ (+dP/dt, мм рт. ст./с) и максимальную скорость снижения давления в ЛЖ (-dP/dt, мм рт. ст./с). Креатинфосфокиназу определяли энзиматическими наборами компании “Analyticon Biotechnologies AG” (Lichtenfels, Германия). Выброс КФК использовали как индикатор некроза кардиомиоцитов. Оценку уровня КФК проводили на планшетном спектрофотометре Infinite M200 Pro (Tecan, Salzburg, Австрия). В это исследование было включено 24 животных.

Морфологические исследования были выполнены на 46 крысах. Изготовление гистологических препаратов осуществлялось следующим способом: образцы миокарда фиксировали в 10%-ном растворе забуференного формалина (ООО “БиоВитрум”, Санкт-Петербург) в течение 24 ч, промывали в проточной воде и обезвоживали в растворе для гистологической обработки на основе абсолютизированного изопропилового спирта Изопреп (ООО “БиоВитрум”, Санкт-Петербург). После обезвоживания образцы миокарда заливались в гомогенизированную парафиновую среду для заливки BioPlast (“BioOptica”, Италия). Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм, полученные при помощи ротационного механического микротомы НМ 325 (Thermo Scientific, США), окрашивали гематоксилином и эозином, а также ГОФП-методом (гематоксин–основной фуксин–пикриновая кислота) по L. Li и соавт. [13], используя красители ООО “БиоВитрум” (Санкт-Петербург). Окрашенные препараты заключали в синтетическую монтирующую среду BioMount (“BioOptica”, Италия). Гистологические препараты изучались с помощью световой микроскопии на микроскопе Axio Lab.A1 (“Carl Zeiss”, Германия). Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью фотокамеры AxioCam 105 color (“Carl Zeiss”, Германия).

В сыворотке крови определяли уровень КФК, кортизола и кортикостерона. Для этого использовали стандартные коммерческие наборы: для определения КФК – наборы компании “Analyticon Biotechnologies AG” (Lichtenfels, Германия); для кортизола – “Cortisol RIA KIT” IM1841 (Beckman Coulter, Immunotech, Прага); для кортикостерона – “Corticosterone (Human, Rat, Mouse) ELISA” RE52211 (IBL International GmbH, Гамбург, Германия). Для определения уровня кортизола использовали радиометр многоканальный РИГ-12 “Прогресс-РИА” (Россия, Санкт-Петербург). Оценку уровня КФК и кортикостерона проводили на планшетном спектрофотометре Infinete M200 Pro (Tecan, Salzburg, Австрия). Определение уровня КФК, кортизола и кортикостерона производили у 27 крыс.

Количественную оценку стрессорного повреждения сердца осуществляли по аккумуляции радиофармпрепарата ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ) в миокарде по методу, предложенному D.G. Miller и S. Mallov [1]. Радиофармпрепарат, полученный с помощью генератора технеция ТЕКСИС (Франция), вводили внутривенно в дозе 150 МБк/кг через 30 мин после прекращения иммобилизации [1]. Через 100 мин после инъекции животных декапитировали под эфирным наркозом. После извлечения из грудной клетки сердце отмывали от крови, перфузируя его холодным (10°C) физиологическим раствором (10 мл) через аорту. Регистрацию радиоактивности осуществляли с помощью гамма-камеры “Philips Forte” (Philips, Нидерланды). Включение ^{99m}Tc -ПФ в ткань миокарда рассчитывали в процентах от введенной дозы на 1 г ткани. Это исследование было выполнено на 27 крысах. Запись ЭКГ выполняли на аппарате для электрофизиологических исследований MP35 (Biopac System Inc., Goleta, США). Количественную обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения INSTBSL-W компании Biopac System Inc., (Goleta, США). Расчет интервала QT, скорректированного на ЧСС, осуществляли согласно рекомендациям A. Van de Water и соавт. [14]. Это исследование было выполнено на 20 крысах.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов программы “Statistica 6.0”. Достоверность полученных результатов оценивали по критерию Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$. Результаты всех экспериментов были представлены в виде среднего арифметического (M) \pm стандартной ошибки среднего (SEM). Непараметрический критерий χ^2 использовали для оценки данных морфологического исследования сердца.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Имобилизационный стресс в наших экспериментах вызывал формирование классической “триады Селье”: инволюция лимфоидной системы (тимус, селезенка), гипертрофия надпочечников (рис. 1А), язвы слизистой желудка. Так, например, масса надпочечников увеличивалась на 20%; масса тимуса, напротив, уменьшалась на 28%; количество язв желудка увеличилось в 6 раз по сравнению с интактными животными. Количество язв желудка на 1 крысу в контроле было равно 0.4 ± 0.4 ($n = 13$), в группе стресса 6.0 ± 1.6 ($n = 14$, $p = 0.003$). Одновременно наблюдалось увеличение уровня кортизола в сыворотке крови на 60% и содержания кортикостерона на 61% (рис. 1Б). Эти факты говорят о том, что при иммобилизации развивается классический общий адаптационный синдром. Если синдром тако-тсубо и стрессовое повреждение сердца у крыс имеют одну и ту же патогенетическую природу, то мы в своих экспериментах должны были бы наблюдать характерные для СТ изменения ЭКГ: смещение сегмента ST, инверсия зубца T и удлинение интервала QTc [3]. Однако нам не удалось выявить различий по характеру ЭКГ-картины между интактными особями и стрессированными крысами (данные не представлены на рисунке). Это говорит о том, что патогенез СТ у человека и стрессорной кардиомиопатии у крыс может различаться. Вместе с тем следует отметить, что подъем сегмента ST удается обнаружить только у 13–14% больных СТ [5, 15], у 46% пациентов с СТ не удается обнаружить удлинение интервала QTc [16]. Следовательно, изменение показателей ЭКГ не является обязательным условием для стрессорного повреждения сердца.

Американские физиологи, обнаружившие и количественно оценившие стрессовое повреждение сердца у крыс [1], моделировали его с помощью 12-часового электроболевого стресса. Повреждение миокарда они оценивали по аккумуляции в миокарде ^{99m}Tc -ПФ. В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце крысы эти авторы показали, что электроболевой стресс приводит к увеличению в перфузате, оттекающем от сердца, уровня лактатдегидрогеназы (маркер некроза сердца) в 1.5 раза по сравнению с сердцем интактного животного. Как показано на рис. 2, иммобилизационный стресс в наших опытах не повлиял на уровень КФК в перфузате, оттекающем от сердца. Этот факт позволяет говорить о том, что выbranное нами воздействие является более щадящим, в отличие от “жесткого” стресса, использованного D.G. Miller и S. Mallov [1], не вызывает некроза клеток сердца. Кроме того, вполне вероятно, что ИС не идентичен СТ, для которого характерно повышение уровня маркеров некроза в крови пациентов. Нам не удалось обнаружить и увеличения уровня КФК в сыворотке крови иммобилизованных особей: у интактных животных уровень КФК (Ед/л) составлял 1481 ± 401 ($n = 13$), а у стрессированных крыс – 1636 ± 203 ($n = 14$, $p > 0.05$). Следует отметить, что при СТ подъем маркеров некроза носит умеренный характер, так, уровень тропонина T у пациентов с СТ в 6 раз меньше, чем у пациентов с острым инфарктом миокарда [17]. Некоторые авторы не смогли обнаружить подъем уровня маркеров некроза у пациентов с СТ [18]. В то же время, эксперименты показали, что иммобилизация вызывает увеличение в миокарде аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в 12 раз по сравнению с интактными животными. Удельное включение ^{99m}Tc -ПФ в миокард у контрольных животных составляло 2.16 ± 0.66 МБк/кг, а у стрессированных особей – 25.37 ± 4.33 МБк/кг. Эти факты говорят о том, что при иммобилизации имеет место выраженное повреждение сердца, но без некроза.

Как было отмечено выше, характерной особенностью синдрома тако-тсубо является сократительная дисфункция сердца [2, 3]. Согласно результатам клинических наблюдений [19] у пациентов с СТ отмечается увеличение конечного диасто-

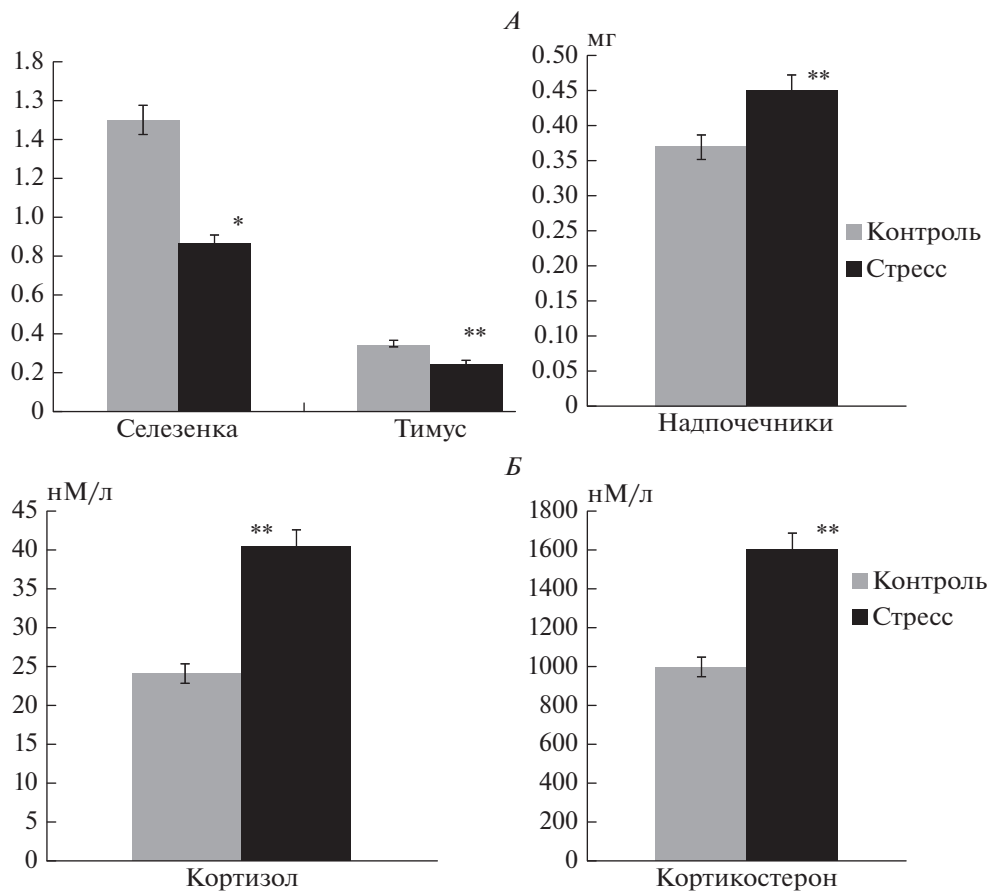


Рис. 1. Влияние стресса на массу органов (А) и уровень гормонов в сыворотке крови (Б).

* – достоверность относительно аналогичных значений в контроле $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$. В группе контроля $n = 15$, в группе стресса $n = 12$ крыс.

лического давления левого желудочка (КДД ЛЖ) и усиление диастолической жесткости миокарда. По данным контрастной эхокардиографии [20], у больных при синдроме тако-тсубо удается выявить микроциркуляторную дисфункцию, которая, как полагают, вызвана вазоспазмом мелких коронарных сосудов [3]. Исходя из сказанного, в экспериментах на изолированном перфузируемом сердце мы ожидали обнаружить увеличение КДД ЛЖ, уменьшение ДРЛЖ и снижение коронарного протока. Действительно, ДРЛЖ в наших экспериментах уменьшалось в среднем на 20%, а КДД увеличивалось до максимальных значений (+29%) на 30-минуте перфузии (табл. 1). Максимальная скорость сокращения и расслабления ЛЖ снижалась соответственно на 15% и на 26% на 15-минуте перфузии (табл. 1). Эти данные совпадают с распространенным мнением о развитии систолической и диастолической дисфункции сердца у пациентов с СТ [12, 19]. Однако нам не удалось обнаружить снижения коронарного протока, тогда как у пациентов с СТ имеет место коронарный вазоспазм [3, 20]. Этот факт может говорить о том, что природа стресс-

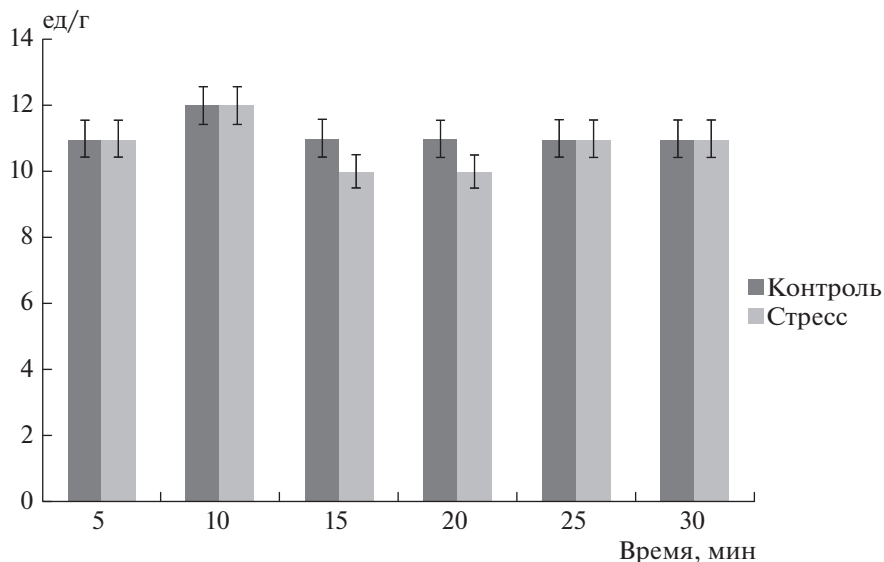


Рис. 2. Влияние стресса на уровень КФК (Ед/г) в перфузате, оттекающем от сердца. В группе контроля $n = 12$, в группе стресса $n = 12$ крыс.

сорной кардиомиопатии у человека и крыс может различаться. Вместе с тем, хотелось бы обратить внимание на то, что мы оценивали коронарный проток в опытах *in vitro*. Следовательно, в нашем случае речь идет о денервированном органе, на который не влияют циркулирующие в крови гуморальные факторы. Представляется вполне вероятным, что коронарospазм у пациентов с СТ имеет нейрогенную природу или является следствием воздействия на коронарные артерии циркулирующих в крови гуморальных факторов.

В табл. 2 показано, что сегментарные контрактуры миофибрилл были обнаружены у 16 из 23 стрессированных крыс, что достоверно выше, чем в контроле. Эти

Таблица 1. Влияние стресса на параметры сократимости сердца и коронарный проток

	Давление, развиваемое левым желудочком (мм рт.ст.)		Частота сердечных сокращений (уд/мин)		Конечное диастолическое давление (мм рт.ст.)		Максимальная скорость сокращения (мм рт.ст./с)		Максимальная скорость Расслабления (мм рт.ст./с)		Коронарный проток (мл/мин)	
	контроль $n = 12$	стресс $n = 12$	контроль $n = 12$	стресс $n = 12$	контроль $n = 12$	стресс $n = 12$	контроль $n = 12$	стресс $n = 12$	контроль $n = 12$	стресс $n = 12$	контроль $n = 12$	стресс $n = 12$
10-я мин	73.7 ± 3.5	56.7 ± 3.1**	197.3 ± 2.3	200 ± 5	15.2 ± 0.3	15.7 ± 0.49	1532 ± 61	1336 ± 69**	-1201 ± 38	-1098 ± 52**	13.2 ± 0.4	12.2 ± 0.4
20-я мин	73.6 ± 1.2	57.9 ± 3.2**	208.3 ± 3.4	194.8 ± 9.1	13.5 ± 0.22	16.5 ± 0.5**	1642 ± 31	1399 ± 66**	-1222 ± 29	-904 ± 41**	11.7 ± 0.5	10.7 ± 0.7
30-я мин	75.1 ± 0.9	60.8 ± 2.9**	214.6 ± 2.2	195.3 ± 9	13 ± 0.25	16.8 ± 0.6**	1668 ± 32	1444 ± 84**	-1253 ± 28	-876 ± 64**	10.6 ± 0.2	9.9 ± 0.5

* – достоверность относительно аналогичных значений в контроле $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$.

Таблица 2. Обобщенные данные патоморфологических изменений миокарда, выявленные у контрольных животных, лишенных корма в течение 24 ч, и животных, перенесших иммобилизационный стресс в течение 24 ч

Описание изменений		Количество животных с изменением		Достоверность к контролю
		контроль (n = 23)	иммобилизационный стресс (n = 23)	
Интерстициальный отек	умеренный	2	12	$p < 0.01$
	выраженный	1	2	$p > 0.05$
Сегментарная контрактура миофибрилл		2	16	$p < 0.01$
Волнообразная деформация миофибрилл		18	15	$p > 0.05$
Истончение и разволокнение миофибрилл		1	1	$p > 0.05$
Внутриклеточный отек кардиомиоцитов		1	6	$p > 0.05$
Кариопикноз		2	11	$p < 0.01$
Кариорексис, кариолизис		0	2	$p > 0.05$
Плазматическое пропитывание цитоплазмы (очаг острого некроза)		0	2	$p > 0.05$
Локальный очаг макрофагальной инфильтрации		1	2	$p > 0.05$

данные соответствуют результатам наших экспериментов на изолированном сердце, в ходе которых было показано, что иммобилизационный стресс вызывает контрактуру миокарда (рис. 3). Картина умеренного интерстициального отека была отмечена в гистологических препаратах 12-ти из 23-х крыс, подвергнутых иммобилизации. Внутриклеточный отек обнаружен у 6-ти крыс из 23-х. Эти данные согласуются с магнитно-резонансной картиной миокардиального отека у пациентов с синдромом тако-тсубо [22]. Очаги плазматического пропитывания цитоплазмы при гистологическом исследовании нам удалось обнаружить только у двух стрессированных крыс основной группы из 23-х. Это свидетельствует о том, что у 92% иммобилизованных особей не развился некроз миокарда. После иммобилизационного стресса у 48% из числа стрессированных животных формировался кариопикноз (рис. 3), который принято рассматривать, как характерный признак апоптоза [23]. Исходя из этого, есть основания предполагать, что именно апоптоз является основной причиной гибели кардиомиоцитов при иммобилизационном стрессе.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что стрессовое повреждение сердца у крыс характеризуется нарушением систолической и диастолической функции и умеренным интерстициальным отеком, то есть такими изменениями миокарда, которые сходны с признаками синдрома тако-тсубо у человека. В то же время, у стрессированных крыс не отмечается смещения сегмента ST, инверсии зубца T, удлинения интервала QTc, снижения коронарного протока и признаков некроза кардиомиоцитов, то есть тех изменений, которые характерны для

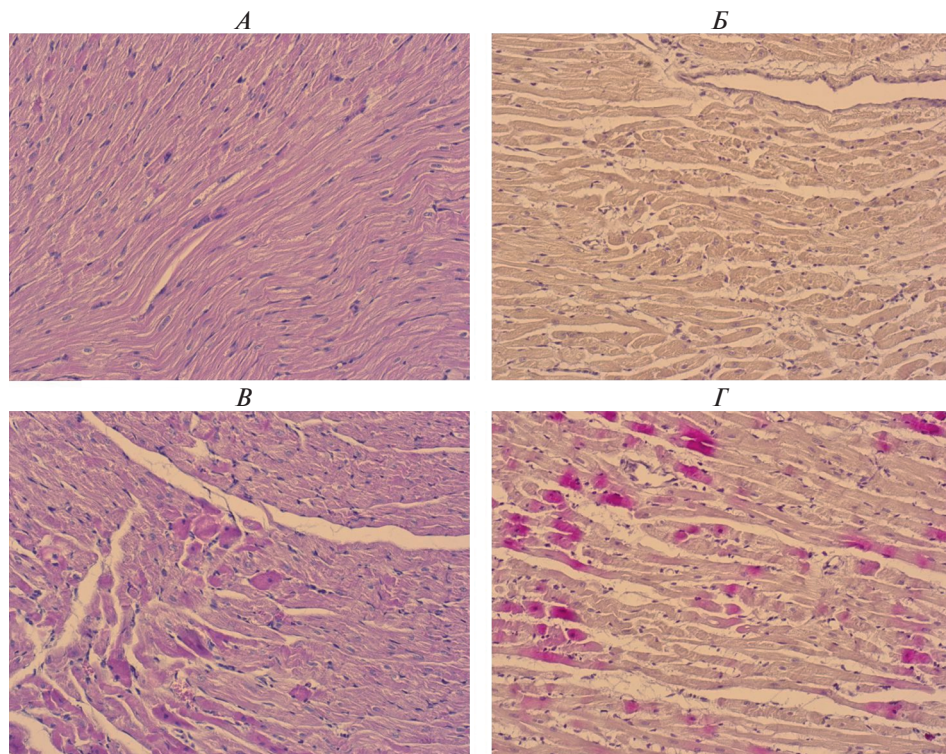


Рис. 3. Морфологическая картина стресс-индуцированного повреждения сердца.
А и Б – Интактный миокард левого желудочка животного из контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином (*А*) и ГОФП (*Б*). *В* – Миокард левого желудочка животного, перенесшего иммобилизационный стресс в течение 24 ч: отдельные кардиомиоциты с пикнотичными ядрами и эозинофильной цитоплазмой, что соответствует светооптическим признакам апоптоза. Окраска гематоксилином и эозином. *Г* – Миокард левого желудочка животного, перенесшего иммобилизационный стресс в течение 24 ч: фуксифильный субстрат в цитоплазме кардиомиоцитов с контрактурными повреждениями миофибрилл. Окраска ГОФП. Увеличение 100×.

стрессовой кардиомиопатии у человека. Основной причиной гибели кардиомиоцитов при иммобилизационном стрессе, по всей видимости, является апоптоз кардиомиоцитов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность д.м.н. А.В. Врублевскому за обсуждение представленных в статье данных.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда грант 18-75-00001. Эксперименты по определению КФК проводились при поддержке гос. задания АААА-А15-115120910024-0.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Miller D.G., Mallov S. Quantitative determination of stress-induced myocardial damage in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 7(2): 139–145. 1977.
2. Sato H., Tateishi H., Uchida T., Dote K., Ishirara M. Tako-tsubo-like left ventricular dysfunction due to multivessel coronary spasm. In: *Clinical aspect of myocardial injury: from ischemia to heart failure.* Kodama K., Haze K., Hon M. (eds). Tokyo. Kagakuyourousha, 56–64. 1990.
3. Said S.M., Saygili E., Rana O.R., Genz C., Hahn J., Bali R., Varshney S., Albouaini K., Pron-dzinsky R., Braun-Dullaes R.C. Tako-tsubo cardiomyopathy: What we have learned in the last 25 years? A comparative literature review. *Curr. Cardiol. Rev.* 12(4): 297–303. 2016.
4. Scally C., Rudd A., Mezincescu A., Wilson H., Srivanasan J., Horgan G., Broadhurst P., Newby D.E., Henning A., Dawson D.K. Persistent long-term structural, functional, and metabolic changes after stress-induced (takotsubo) cardiomyopathy. *Circulation.* 137(10): 1039–1048. 2018.
5. Rosu D., Askandar S., Khouzam R.N. Why is reverse takotsubo “Reverse”? *South Med. J.* 110(5): 381–385. 2017.
6. Yerasi C., Koifman E., Weissman G., Wang Z., Torguson R., Gai J., Lindsay J., Satler L.F., Pichard A.D., Waksman R., Ben-Dor I. Impact of triggering event in outcomes of stress-induced (Takotsubo) cardiomyopathy. *Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care.* 6(3): 280–286. 2017.
7. Budnik M., Kochanowski J., Piatkowski R., Wojtera K., Peller M., Gaska M., Glowacka P., Karolczak P., Ochjiewicz Z., Opolski G. Simple markers can distinguish Takotsubo cardiomyopathy from ST segment elevation myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 219: 417–420. 2016.
8. Khera R., Light-McGroary K., Zahr F., Horwitz P.A., Girotra S. Trends in hospitalization for takotsubo cardiomyopathy in the United States. *Am. Heart J.* 172: 53–63. 2016.
9. Stiermaier T., Moeller C., Oehler K., Desch S., Graf T., Eitel C., Vonthein R., Schuler G., Thiele H., Eitel I. Long-term excess mortality in takotsubo cardiomyopathy: predictors, causes and clinical consequences. *Eur. J. Heart Fail.* 18(6): 650–656. 2016.
10. Sobue Y., Watanabe E., Ichikawa T., Koshikawa M., Yamamoto M., Harada M., Ozaki Y. Physically triggered Takotsubo cardiomyopathy has a higher in-hospital mortality rate. *Int. J. Cardiol.* 235: 87–93. 2017.
11. Ueyama T., Kasamatsu K., Hano T., Yamamoto K., Tsuruo Y., Nishio I. Emotional stress induces transient left ventricular hypocontraction in the rat via activation of cardiac adrenoceptors: a possible animal model of ‘tako-tsubo’ cardiomyopathy. *Circ. J.* 66(7): 712–713. 2002.
12. Lishmanov Y.B., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V. Cardioprotective effects of stimulation of peripheral μ -opiate receptors and the role of opiate mechanisms in the pathogenesis of stress-induced heart damage. *Bull. Exp. Biol. Med.* 123(3): 239–241. 1997.
13. Li L., Su Q., Wang Y., Dai R., Lu Y., Su B., Zhao Y. Effect of atorvastatin (Lipitor) on myocardial apoptosis and caspase-8 activation following coronary microembolization. *Cell. Biochem. Biophys.* 61(2): 399–406. 2011.
14. Van de Water A., Verheyen J., Xhonneux R., Reneman R.S. An improved method to correct the QT interval of the electrocardiogram for changes in heart rate. *J. Pharmacol. Methods.* 22(3): 207–217. 1989.
15. Giza D.E., Lopez-Mattei J., Vejpongsa P., Munoz E., Iliescu G., Kitkungvan D., Hassan S.A., Kim P., Ewer M.S., Iliescu C. Stress-induced cardiomyopathy in cancer patients. *Am. J. Cardiol.* 120(12): 2284–2288. 2017.
16. Imran T.F., Rahman I., Dikdan S., Shah R., Niazi O.T., Thirunahari N., Alhaj E., Klapholz M., Gaziano J.M., Djousse L. QT prolongation and clinical outcomes in patients with takotsubo cardiomyopathy. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 39(6): 607–611. 2016.
17. Sharkey S.W., Lesser J.R., Menon M., Parpart M., Maron M.S., Maron B.J. Spectrum and significance of electrocardiographic patterns, troponin levels, and thrombolysis in myocardial infarction frame count in patients with stress (tako-tsubo) cardiomyopathy and comparison to those in patients with ST-elevation anterior wall myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 101(12): 1723–1728. 2008.
18. Akashi Y.J., Musha H., Kida K., Itoh K., Inoue K., Kawasaki K., Hashimoto N., Miyake F. Reversible ventricular dysfunction takotsubo cardiomyopathy. *Eur. J. Heart Fail.* 7(7): 1171–1176. 2005.
19. Medeiros K., O’Connor M.J., Baicu C.F., Fitzgibbons T.P., Shaw P., Tighe D.A., Zile M.R., Aurigemma G.P. Systolic and diastolic mechanics in stress cardiomyopathy. *Circulation.* 129(16): 1659–1667. 2014.
20. Jain M., Upadaya S., Zarich S.W. Serial evaluation of microcirculatory dysfunction in patients with Takotsubo cardiomyopathy by myocardial contrast echocardiography. *Clin. Cardiol.* 36(9): 531–534. 2013.
21. Sharkey S.W., Maron B.J. Epidemiology and clinical profile of Takotsubo cardiomyopathy. *Circ. J.* 78(9): 2119–2128. 2014.
22. Iacucci I., Carbone I., Cannavale G., Conti B., Iampieri I., Rosati R., Sardella G., Frustaci A., Fedele F., Catalano C., Francone M. Myocardial oedema as the sole marker of acute injury in Ta-

- kotsubo cardiomyopathy: a cardiovascular magnetic resonance (CMR) study. *Radiol. Med.* 118(8): 1309–1323. 2013.
23. *Ly F.H., Yin H.L., He Y.Q., Wu H.M., Kong J., Chai X.Y., Zhang S.R.* Effects of curcumin on the apoptosis of cardiomyocytes and the expression of NF- κ B, PPAR- γ and Bcl-2 in rats with myocardial infarction injury. *Exp. Ther. Med.* 12(6): 3877–3884. 2016.

Morpho-Functional Aspects of the Heart Damage during Immobilization Stress in Rats

**E. S. Prokudina^a, A. S. Gorbunov^a, V. A. Kazakov^b, V. V. Saushkin^a,
H. Ma^c, L. N. Maslov^{a,*}**

^a*Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Tomsk, Russia*

^b*Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Pushchino, Moscow region, Russia*

^c*Hebei Medical University, Shijiazhuang, China*

**e-mail: maslov@cardio-tomsk.ru*

Abstract—The study was performed on rats, which were subjected to immobilization stress (24 h). It was found that stress leads to hypertrophy of the adrenal glands, the involution of the thymus, spleen, the appearance of gastric ulcers, increased levels of cortisol and corticosterone in the blood serum. Also, an increase in 12-fold of ^{99m}Tc-pyrophosphate accumulation in the heart was found. Experiments on the isolated perfused rat heart have been shown that stress reduces the left ventricular systolic pressure and increases the diastolic pressure, but does not affect the coronary flow. The morphological study showed that stress causes segmental contractions, interstitial edema, karyopyknosis. Stress did not affect the levels of creatine kinase in the coronary flow and the blood serum. Stress did not change the ECG properties.

Keywords: heart, stress, cardiomyopathy, Tako-tsubo cardiomyopathy