

УДК 615.099.031 : 546.81

ВЛИЯНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА СОКРАТИМОСТЬ МИОКАРДА КРЫСЫ

Б.А. Кацнельсон¹, Ю.Л. Проценко²,
С.В. Клинова¹, О.Н. Лукин², А.А. Балакин²,
Л.В. Никитина², Л.Б. Кацнельсон², О.П. Герцен²,
И.А. Минигалиева¹, Л.И. Привалова¹,
В.Б. Гурвич¹, М.П. Сутункова¹

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

²ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, 620049, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Известно, что хроническая свинцовая интоксикация вызывает артериальную гипертензию как у людей, так и у крыс и, таким образом, является причиной некоторых вторичных нарушений функции сердца. Однако нет никаких неопровержимых доказательств того, что сама интоксикация непосредственно влияет на сократимость миокарда. В наших экспериментах аутобредным крысам-самцам многократно внутрибрюшинно вводили сублетальные дозы ацетата свинца 3 раза в неделю в течение 5 недель. Мы наблюдали явную, хотя и умеренную субхроническую свинцовую интоксикацию. На следующий день после последней инъекции сердце каждого животного было извлечено; трабекулы и папиллярные мышцы из правого желудочка были выделены для моделирования цикла сокращения-расслабления *in vitro* в изометрических режимах; оставшаяся ткань сердца гомогенизировалась для определения изоформ миозина. Было обнаружено, что свинцовая интоксикация приводила к снижению (по сравнению с контрольными крысами) времени и скорости изометрического сжатия препаратов миокарда *in vitro*, в то время как сохранялась его амплитуда и уменьшалось пассивное напряжение трабекул. Показано, что отношение миозина сдвигалось в сторону медленной изоформы. Обсуждаются механические и токсикологические выводы из полученных результатов.

Ключевые слова: свинцовая интоксикация, сократимость миокарда, изоформы миозина.

Введение. Многие эпидемиологические исследования свидетельствуют о вероятной причинно-следственной связи между свинцовой экспозицией и распространенностью гипертонии [1-4], так что эксперты ВОЗ, проанализировав опубликованные данные, признали, что рост систолического артериального давления (АД) является одним из неблагоприятных эффектов наличия даже низких концентраций свинца в крови че-

ловека [5]. Вместе с тем, автор более позднего обзора [6] пришёл к заключению, что влияние свинца, связанное с профессией, на АД остается спорным. Наряду с этим, у людей выявлено также значимое снижение систолической (но не диастолической) активности сердца при росте свинцово-кадмиевой нагрузки на организм, однако выявить, который из этих металлов является ведущим, не было возможным [7].

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, bkaznelson@etel.ru

Проценко Юрий Леонидович (Protsenko Yuri Leonidovich), д.б.н., главный научный сотрудник лаборатории биологической подвижности ФГБУН ИИФ УрО РАН, y.protsenko@iip.uran.ru

Клинова Светлана Владиславовна (Klinova Svetlana Vladislavovna), младший научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, klinovasy@ymrc.ru

Лукин Олег Николаевич (Lookin Oleg Nikolaevich), к.б.н., старший сотрудник лаборатории биологической подвижности ФГБУН ИИФ УрО РАН, o.lookin@iip.uran.ru

Балакин Александр Александрович (Balakin Alexander Aleksandrovich), к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биологической подвижности ФГБУН ИИФ УрО РАН, balakin_a_a@mail.ru

Никитина Лариса Валерьевна (Nikitina Larisa Valerievna), д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биологической подвижности ФГБУН ИИФ УрО РАН, l.nikitina@iip.uran.ru

Кацнельсон Леонид Борисович (Katsnelson Leonid Borisovich), д.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории математической физиологии ФГБУН ИИФ УрО РАН, lbk@efif.uran.ru

Герцен Оксана Павловна (Gerzen Oksana Pavlovna), аспирант ФГБУН ИИФ УрО РАН, o.p.gerzen@gmail.com

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), к.б.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, ilzira-minigalieva@yandex.ru

Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), д.м.н., профессор, заведующий лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, privalova@ymrc.ru

Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), д.м.н., директор ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, gurvich@ymrc.ru

Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), к.м.н., заведующая лабораторией токсикологии среды обитания ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, sutunkova@ymrc.ru

Были проведены и эксперименты на животных, направленные в основном на выяснение возможных механизмов развития свинцовой гипертонии, включая запуск окислительного стресса [8-10], нарушения функции сосудистого эндотелия с уменьшением биодоступности оксида азота и нарушения сигнальных каскадов с его участием [8, 11-13], увеличения адренергической активности с изменением ренин-ангиотензиновой системы [11, 14], развития воспаления, нарушения кальциевой регуляции в гладких мышцах сосудов. Вместе с тем, предполагалось, что неблагоприятное влияние свинца на функцию сердца может быть не только вторичным, связанным с повышением АД [15, 16] или с нефротоксичностью свинца [17], но и одним из первичных токсикодинамических эффектов свинцовой интоксикации. В частности, было показано, что ионы свинца эффективно замещают кальций, опосредуя многие свойства кальмодулина [18], а также блокируют связывание иона кальция с тропонином С (TnC) и активируют миофибриллярную АТФазу, поддерживаемую TnC [19]. По мнению Richardt с соавт. [20], действие ионов свинца не может быть ограничено кальмодулином и TnC и может быть общим свойством всех членов Ca^{2+} -связывающих белков EF-Hand домена. Пикомольные концентрации Pb^{2+} активируют протеинкиназу С [21]. У крыс, подвергнутых хроническому воздействию низких доз свинца, наблюдалось усиление уязвимости миокарда к аритмиям, вызванным катехоламинами [22]. По данным Корр с соавт. [23, 24], хроническое пероральное воздействие свинца вызывает значительное уменьшение сократительной способности миокарда, скорости проведения возбуждения по волокнам Пуркинье, а также уменьшение концентрации аденозинтрифосфата (АТФ), высокоэнергетического фосфата [АТФ + фосфокреатин] и связано с уменьшением фосфорилирования легкой цепи-2 миозина, вносящей вклад в регуляцию сократительной активности миокарда.

Prentice и Корр [25] нашли, что перфузия изолированного сердца раствором, содержащим ацетат свинца, но только в относительно высокой концентрации, тормозит энергетический метаболизм, удлинняет время проводимости атрио-вентрикулярного узла и пучка Гиса, уменьшает коронарный кровоток и частоту сердечных сокращений.

Изучение кардиотоксичности, как эффекта свинцовой интоксикации, проводилось также на многоклеточных препаратах миокарда крысы [26-29]. При остром воздействии свинца на организм одними исследователями было найдено понижение сократимости миокарда в правом желудочке за счет уменьшения поступления кальция через сарколемму и снижения АТФ-азной актив-

ности миозина [26], а другими, наоборот, повышение сократимости миокарда в левом желудочке, связанное, по мнению авторов, с повышением активности натрий-калиевого насоса и АТФ-азной активности миозина [27]. В дальнейшем Fioresi с соавт. [28] показали, что субхроническое воздействие (100 ppm ацетата свинца в питьевой воде, 30 дней) вызывает транс-сарколеммального притока кальция, уменьшение количества желудочковой SERCA-2, поглощения кальция саркоплазматическим ретикулумом, но при этом не изменяет изометрическую силу папиллярных мышц левого желудочка. В другом исследовании подострое воздействие свинца в низких концентрациях не изменило величину изометрической силы изолированных папиллярных мышц левого желудочка крысы, а также экспрессию белков SERCA-2 и фосфоламбана, но снизило инотропный ответ, вызванный увеличением внеклеточной концентрации кальция [29].

Отметим, что в этих исследованиях экспериментальное моделирование влияния свинца на сократительную функцию миокарда ограничивалось изометрическим режимом сокращений, в то время как в стенках камер интактного сердца кардиомиоциты переходят в дальнейшем в режим постоянного изменения длины. Не было учтено и то, что механика миокарда связана не только с активностью кардиомиоцитов, но и с пассивными свойствами миокардиальной ткани, которые определяются как внеклеточным матриксом, так и внутриклеточными белками цитоскелета, титином и др. [30-33]. Оказывает ли свинец воздействие и на этот пассивный компонент сократительной функции миокарда, до сих пор не исследовалось.

Таким образом, опубликованные данные о воздействии свинца на механическую активность миокарда крысы малочисленны, не охватывают все её аспекты и отчасти противоречивы. Существенным недостатком этих работ является и то, что проявления системной свинцовой интоксикации, на фоне которой развились те или иные нарушения сократительной функции миокарда, в них охарактеризованы и измерены, как правило, недостаточно, если вообще приводятся. Между тем, именно такое сопоставление названных нарушений с выраженностью интоксикации на системно-организменном уровне представляется необходимым, если мы хотим оценить реальное значение кардиотоксичности свинца в токсикологической перспективе.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 4 – месячных аутбредных белых крысах-самцах собственного разведения с исходной массой тела около 300 г по 10 животных в каждой группе. Субхроническая интоксикация моделировалась путем повторных внутри-

брюшинных инъекций раствора ацетата свинца 3 раза в неделю (всего 15 введений) при однократной дозе 12,5 мг/кг веса по свинцу (контрольные животные получали тот же объем стерильной дистиллированной воды). Половина крыс в течение периода экспозиции получала препарат кальция и витамина D₃, смешанный с кормом (около 150 мг Са на крысу ежедневно).

Перед эвтаназией путем цервикальной дислокации у всех крыс проводилась регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) с помощью «человеческого» трехканального миниатюрного электрокардиографа ЭК 3Т-01-«Р-Д» (ООО НПП «Монитор») в отведении от лапок, аналогичном стандартному II отведению у человека.

Исследование сократимости изолированных препаратов миокарда

За 15 минут перед эвтаназией крыс животным предварительно вводили гепарин (1000 МЕ – 0.25 мл). Немедленно после эвтаназии извлекали сердце, которое на 15 минут помещали в физиологический раствор с 2,3-бутандион моноксимом (30 мМ). Из правого желудочка иссекали тонкие трабекулы и папиллярные мышцы (диаметром не более 300 мкм). Препараты прикрепляли к двум штокам измерительно-задающей аппаратуры (один конец к датчику силы, другой конец к сервомотору длины) в термостатируемой ванночке с проточным физиологическим раствором следующего состава (в мМ): NaCl 118.5; NaHCO₃ 14.5; KCl 4.2; KH₂PO₄ 1.2; MgSO₄ 1.2; глюкоза 11.1, CaCl₂ 2.5; с фосфатно-карбонатным буфером при аэрации смесью 95% O₂ и 5% CO₂, pH = 7.4 и температуре 30°C. Мышечный препарат стимулировали прямоугольными надпороговыми электрическими стимулами длительностью ~5 мс с частотой 1 Гц, через неполяризующиеся угольные электроды. Регистрацию механической активности папиллярной мышцы и трабекулы из одного сердца в изометрическом режиме выполняли на 2-х канальной установке, с точностью регистрации и задания различных режимов нагрузок по силе ±1 мг и длине ±1 мкм в режиме реального времени. Это реализовано с помощью аналого-цифрового преобразования сигналов датчиков и цифро-аналогового командного сигнала от компьютера через АЦП/ЦАП (PCI-1716S, AdLink Technology Inc., Тайвань). Программно-аппаратное обеспечение позволяло производить сбор информации и управление периферийными устройствами с частотой до 10 кГц.

Последовательно увеличивая длину мышцы, определяли значение, при которой мышца развивала максимальную величину активной компоненты изометрической силы (L_{MAX}). Это значение использовали в качестве реперной точки в ходе эксперимента и для анализа сократимости препаратов с различной исходной длиной. Для со-

поставления параметров механической активности препаратов миокарда разных крыс, имеющих различные геометрические размеры, величину развиваемой силы нормировали на площадь поперечного сечения препарата. Для оценки скорости развития силы и скорости расслабления временной ход изометрического сокращения нормировали на его амплитуду.

Определение содержания α - и β -тяжелых цепей сердечного миозина

Состав изоформ тяжелых цепей миозина из миокарда правого желудочка крыс определяли с помощью денатурирующего гель-электрофореза по методу Reiser & Kline [34]. После электрофореза гели окрашивали кумасси, после промывки водой сканировали с помощью денситометра фирмы «BioRad» (США) и определяли процентное соотношение α - и β -тяжелых цепей миозина в пробе.

Статистическая значимость межгрупповых различий средних значений всех полученных показателей оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента с поправкой на множественные сравнения (ANOVA). Биомеханические данные обрабатывали с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни, различия считались статистически достоверными при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

Показатели системной интоксикации.

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, состояние организма крыс к концу периода субхронической свинцовой экспозиции отличалось от соответствующих контрольных величин. Это касается не только такого интегрального показателя как задержка прироста массы тела, но и многих признаков, которые в той или иной степени специфичны как токсические эффекты именно свинца.

Отметим, в частности, типичные нарушения порфиринового биосинтеза, выявленные по многократному повышению концентрации δ -АЛК и копропорфиринов в моче крыс. Налицо и типичные черты гемолитической «свинцовой анемии», а именно снижение числа эритроцитов (при уменьшении среднего объема эритроцита) и показателя гематокрита, но резкое повышение доли ретикулоцитов. При этом наблюдались и такие реже описываемые в литературе гематотоксические эффекты свинца как выраженный нейтрофильный и лимфоцитарный лейкоцитоз в качестве признака усиления воспалительной реактивности организма [35], а также повышение числа тромбоцитов и показателя тромбокриты (как у Al Momen [36]).

Проявлением гепатотоксичности свинца является не только увеличение массы печени, но и такие маркеры этого эффекта как снижение

Таблица 1

Некоторые показатели состояния организма крыс, подвергшихся субхроническому воздействию свинца и/или протекторного кальциевого препарата ($X \pm s.e.$)

Показатель	Группы крыс, получавшие:			
	Воду (контроль)	Pb	Pb+Ca	Ca
Начальная масса тела, г	295,50±3,91	297,50±3,27	297,50±3,82	293,50±4,54
Конечная масса тела, г	347,00±7,04	316,50±8,10*	316,50±8,79*	328,50±7,89
Прирост массы тела, %	17,46±2,02	6,87±2,60*	6,50±3,03*	11,95±2,21
Масса правой почки, г	1,05 ±0,03	1,42 ±0,05*	1,34 ±0,06*	1,01 ±0,03
Масса левой почки, г	1,04 ±0,03	1,38 ±0,05*	1,38 ±0,06*	1,31 ±0,31
Масса печени, г	9,30±0,42	12,50±0,42 *	11,12±0,40 *	8,08±0,28*
Масса селезенки, г	0,67±0,03	1,08±0,05	1,12±0,08*	0,64±0,04
Масса сердца, г	1,17±0,04	1,17±0,02	1,19±0,05	1,11±0,03
Масса головного мозга, г	1,92±0,08	1,96±0,03	2,04±0,03	1,94±0,08
Масса правой почки, г/100г веса	0,30 ±0,01	0,45 ±0,01*	0,42 ±0,02*	0,31 ±0,01
Масса левой почки, г/100г веса	0,30 ±0,01	0,44 ±0,01*	0,43 ±0,02*	0,40 ±0,10
Масса печени, г/100 г веса	2,67±0,10	3,98±0,21*	2,78±0,48+	2,46±0,05*
Масса селезенки, г/100 г веса	0,19±0,01	0,34±0,02*	0,28±0,05	0,20±0,01
Масса сердца, г/100г веса	0,34±0,01	0,37±0,01*	0,37±0,01*	0,34±0,01
Масса головного мозга, г/100г веса	0,55±0,02	0,62±0,01*	0,64±0,02*	0,59±0,03
СПП, сек.	15,93±1,10	15,39±1,22	12,66±0,93*	13,76±0,82
Число заглядываний в «норки» в течение 3 мин.	2,80±0,65	2,20±0,57	2,22±0,57	4,60±0,69
Количество пересеченных квадратов в течение 3 мин.	7,90±1,15	4,10±0,87*	6,00±1,66	11,50±2,14
ЧСС, уд/мин	459,95±12,81	434,60±11,04	464,69±6,88+	475,84±9,35
Амплитуда комплекса QRS, мВ	0,58±0,04	0,71±0,06	0,78±0,08*	0,57±0,04
Гемоглобин, г/л	142,40±4,03	109,80±3,57*	100,44±4,77*	142,60±5,74
Гематокрит, %	19,15±0,57	14,89±0,30*	13,81±0,65*	18,99±0,89
Эритроциты, 10 ¹² клеток/л	7,30±0,21	6,66±0,15*	6,36±0,27*	7,14±0,38
Средний объем эритроцита, мкм ³	52,44±0,51	44,77±0,70*	44,09±0,63*	53,34±0,60
Ретикулоциты, ‰	17,10±1,15	85,11±5,07*	63,44±6,10**	19,50±2,84
Лейкоциты, 10 ³ /мкл	8,18±0,36	24,88±2,66*	17,64±1,53**	7,94±0,79
Тромбоциты, 10 ³ /мкл	846,00±36,64	1027,20±55,82*	1014,00±88,79	676,80±76,52

Показатель	Группы крыс, получавшие:			
	Воду (контроль)	Pb	Pb+Ca	Ca
Тромбокрит, %	0,22±0,01	0,43±0,03*	0,18±0,02*	0,22±0,01
Лимфоциты, 10 ³ /мкл	5,98±0,35	13,36±1,15*	10,16±0,91*+	6,04±0,64
Лимфоциты, %	71,90±1,81	67,00±1,68	61,44±3,45*	72,80±1,47
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,30±0,15	1,20±0,13	1,11±0,11	1,20±0,13
Сегментоядерные нейтрофилы, %	18,90±1,61	24,80±1,56*	29,56±3,38*	18,80±1,62
Моноциты, %	5,30±0,40	5,50±0,31	5,78±0,40	5,20±0,39
Эозинофилы, %	2,60±0,48	1,50±0,31	2,11±0,39	2,00±0,47
Базофилы, %	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Активность СДГ, число гранул формазана в 50 лимфоцитах	651,80±27,56	593,40±21,22	604,89±33,90	669,40±24,54
Общий белок в сыворотке крови, г/л	72,13±1,43	58,98±1,24*	60,07±1,07*	76,02±1,05*
Альбумины в сыворотке крови, г/л	38,12±0,66	31,68±0,99*	31,99±0,73*	39,30±0,66
Глобулины в сыворотке крови, г/л	34,01±1,28	27,30±0,89*	28,08±0,81*	36,72±0,76
А/Г индекс	1,13±0,05	1,17±0,06	1,15±0,04	1,07±0,03
Активность АСТ в сыворотке крови, Е/л	80,94±6,59	172,31±29,09*	98,61±7,84+	126,62±17,00*
Активность АЛТ в сыворотке крови, Е/л	64,04±4,04	66,80±10,55	40,10±2,83*+	84,27±13,66
Коэффициент де Ритиса	1,28±0,09	2,64±0,32*	2,50±0,17*	1,58±0,13
ЛДГ в сыворотке крови, Е/л	437,56±94,24	714,40±131,71	408,56±114,32	745,80±67,51*
Холестерин в сыворотке крови, ммоль/л	1,93±0,13	2,12±0,11	2,15±0,13	2,02±0,07
Липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови, ммоль/л	0,83±0,06	0,47±0,07*	0,49±0,05*	0,87±0,07
Липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови, ммоль/л	0,42±0,08	0,39±0,06	0,42±0,07	0,39±0,03
Триглицериды в сыворотке крови, ммоль/л	1,12±0,11	2,01±0,21*	2,02±0,36*	1,17±0,13
Концентрация Ca ²⁺ в сыворотке крови, ммоль/л	2,54±0,03	2,46±0,04	2,64±0,03*+	2,67±0,04*
Копропорфирин в моче, нмоль/л	88,32±29,80	1505,91±260,60*	1077,29±73,41*	238,86±120,16
δ-АЛК в моче, мкг/мл	8,18±1,15	659,09±92,84*	508,22±45,53*	73,01±65,38
Концентрация Pb в крови, мг/мл	0,00±0,00	0,09±0,01*	0,08±0,01*	0,01±0,01

Примечание:

индексами обозначено статистически значимое отличие * - от группы «Контроль»; + - от группы «Pb» (P<0,05, ANOVA)

содержания общего белка, альбумина и глобулинов в сыворотке крови (при не изменённом индексе А/Г), а также резкое повышение уровня АСТ в ней (с удвоением коэффициента де Ритиса).

Специфичное для свинца токсическое действие на центральную нервную систему широко известно (например, [37-45]). Это позволяет нам гипотетически трактовать как обусловленные его нейротоксичностью даже такие, не специфичные только для неё сдвиги, как увеличение массы головного мозга (небольшое, но при отнесении к массе тела – статистически значимое), небольшое и статистически не значимое ослабление исследовательского поведения при заметном и статистически значимом снижении общей двигательной активности.

Косвенным признаком наличия умеренной гипертрофии сердца может служить увеличение его массы в расчёте на 100 г массы тела. О начальной стадии развития гипертрофии миокарда в этой группе крыс может говорить также значимое увеличение амплитуды комплекса QRS. Как известно, у человека увеличение амплитуды зубца R в левых грудных отведениях (V5, V6), является ЭКГ-признаком гипертрофии миокарда [46].

Наблюдалось также заметное, хотя и статистически не значимое, повышение уровня общего холестерина, резкое и значимое снижение ЛПВП (при фактически не изменённом уровне ЛПНП) и статистически значимое увеличение (почти удвоение!) уровня триглицеридов. Таким образом, в совокупности можно говорить об атерогенных изменениях липидного зеркала крови – одном из вероятных механизмов гипертензивного действия свинца (вдобавок к тем, которые были названы во Введении).¹ Allouch с соавт. [48] не нашли подобных сдвигов, что скорее всего отражает меньшую выраженность интоксикации в их эксперименте, но в литературе встречаются и данные о влиянии свинца на липиды крови, согласующиеся с нашими (например, [49, 50]).

Большинство описанных выше сдвигов наблюдалось в обеих свинец-экспонированных группах и только в этих двух, что является косвенным, но существенным подтверждением причинно-следственной связи между свинцовой экспозицией и этими сдвигами. При этом, однако, по тем показателям, по которым некоторое количественное различие между действием свинца на фоне приёма кальция и без такого приёма было статистически значимым, его знак указывал на ослабление

токсического эффекта, что согласуется со многими литературными и нашими собственными данными о кальций-свинцовом антагонизме [37, 51-59]. Правда, таких показателей оказалось всего 8 (включая непосредственный маркер кальциевой экспозиции – повышение концентрации Са в сыворотке крови), что позволяет говорить лишь о слабом, хотя и явном, проявлении протекторного действия кальция против выраженного токсического действия свинца.

Результаты гелеэлектрофореза

При электрофоретическом исследовании достоверно установлена более выраженная экспрессия β -тяжелых цепей сердечного миозина (изоформы миозина V3, которая является гомодимером β -МНС) в миокарде сердец крыс после свинцовой экспозиции по сравнению с миокардом сердец крыс Control группы. Так, содержание α -цепей в миокарде животных Control группы составляло $85 \pm 5\%$, β -цепей – $15 \pm 4\%$. При свинцовой интоксикации содержание α -цепей снизилось до $55 \pm 10\%$, β -цепей – увеличилось до $45 \pm 8\%$ ($P < 0,05$).

Замещение значительной части быстрых изоформ сердечного миозина V1 (α - α -гомомеров МНС) более медленными (V3), наряду с морфометрическими и электрокардиографическими данными, указывает на наличие гипертрофии миокарда крыс при субхронической свинцовой интоксикации [60, 61].

Сократимость препаратов миокарда

Параметры сократимости миокарда зависят от степени растяжения саркомеров кардиомиоцитов [62, 63]. Поэтому представляет особый интерес исследовать влияние свинца на зависимость параметров механической активности миокарда от его длины.

Показанные на Рис.1 усреднённые кривые связи «длина – активное напряжение» как для трабекул, так и для папиллярных мышц крыс при свинцовой интоксикации (группа «Pb») расположились в целом ниже таковых для контрольной группы крыс, однако эти различия не были статистически значимыми. В то же время, у трабекул крыс группы «Pb+Ca» показаны достоверно более высокие величины активного напряжения в диапазоне длин $85-95\% L_{MAX}$ по сравнению с препаратами остальных групп (рис. 1А). В препаратах папиллярных мышц не выявлено достоверных различий в величинах активного напряжения между группами животных, независимо от величины длины, хотя кривая связи «длина – активное напряжение» для группы «Ca» легла

¹ Отметим в связи с этим важное заключение, сделанное авторами одного из сравнительно недавних обзоров проблемы свинца и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ): «Предполагаемый про-атерогенный эффект, даже если он будет скромным по сравнению с другими общепринятыми факторами риска, окажет значительное влияние на чувствительные группы населения. В связи с этим становится важным исследовать роль и механизмы влияния свинца на развитие атеросклероза и ССЗ» [47].

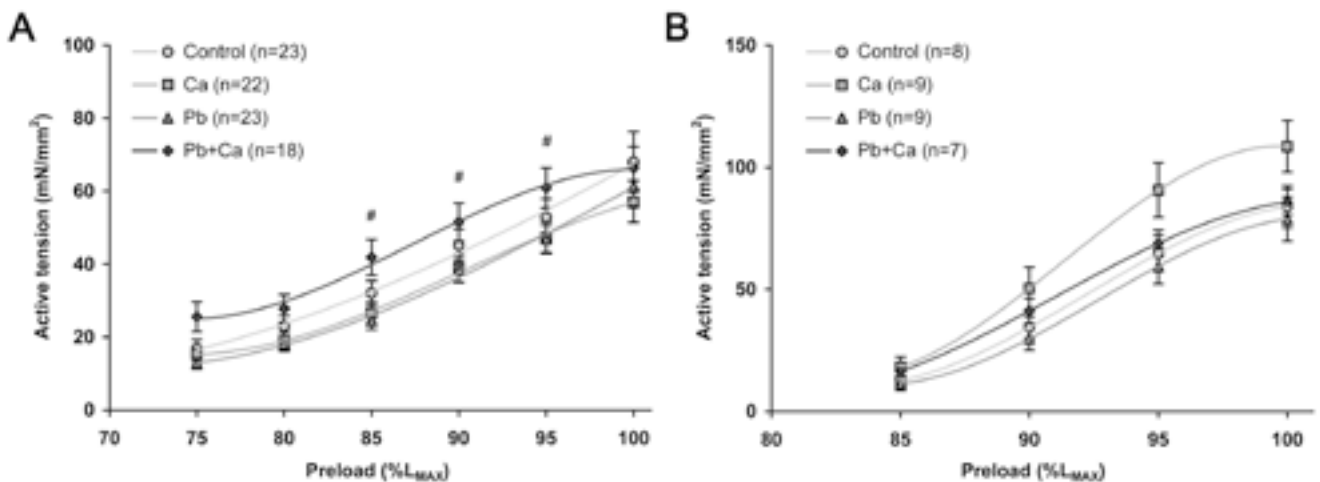


Рис. 1. Усредненные кривые зависимости «длина – активное напряжение», полученные для стационарных изометрических сокращений трабекул (А) и папиллярных мышц (В) правого желудочка самцов крыс Control группы и трех экспериментальных групп (обозначения даны в легенде, в скобках указано число препаратов). Частота стимуляции 1 Гц, температура раствора 30°С. # - различия между группами «Ca» и «Pb+Ca» достоверны при $P < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни).

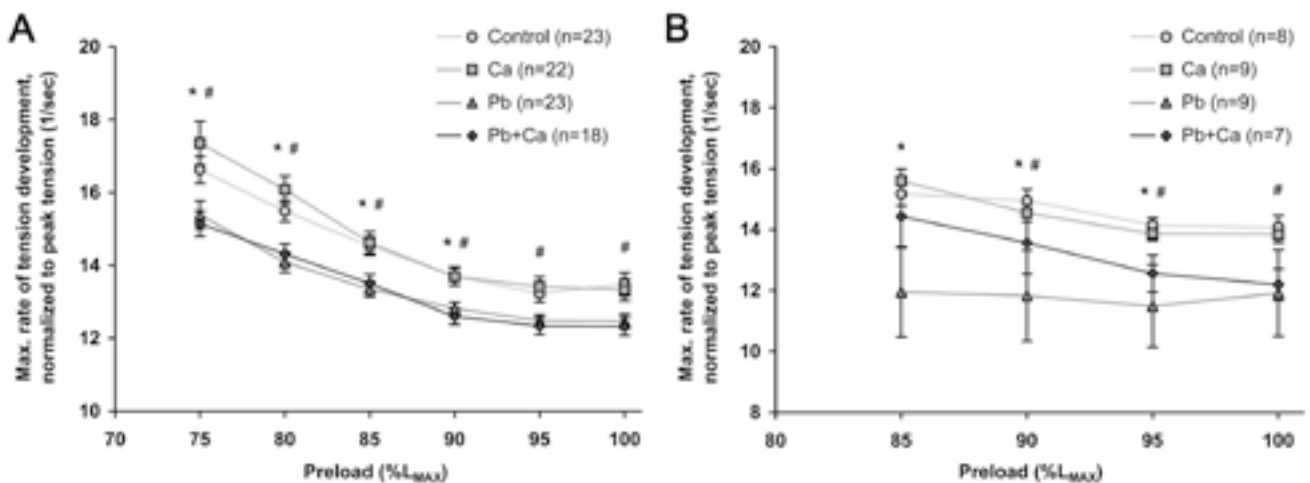


Рис. 2. Усредненные кривые зависимости величины максимальной скорости развития изометрического напряжения, нормированной на амплитуду этого напряжения, от длины, полученные для стационарных изометрических сокращений трабекул (А) и папиллярных мышц (В) правого желудочка самцов крыс Control группы и трех экспериментальных групп (обозначения даны в легенде, в скобках указано число препаратов). Частота стимуляции 1 Гц, температура раствора 30°С. * - различия между группами «Control» и «Pb» достоверны при $P < 0,05$, # - различия между группами «Ca» и «Pb+Ca» достоверны при $P < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни).

заметно выше кривых для остальных групп (рис. 1В).

В целом, можно говорить об отсутствии выраженного инотропного эффекта свинца во всем диапазоне длин препаратов.

Величины максимальной скорости развития $(+dP/dt)_{max}/P_{max}$ и спада $(-dP/dt)_{max}/P_{max}$ изометрического напряжения, нормированные на амплитуду активного компонента напряжения, в препаратах трабекул и папиллярных мышц всех групп животных снижаются с увеличением длины (рис. 2А и 2В). Исключение составляет эта зависимость для препаратов папиллярных

мышц группы крыс со свинцовой интоксикацией («Pb»), для которых величина $(+dP/dt)_{max}/P_{max}$ ниже, чем для папиллярных мышц всех остальных групп, и не зависит от длины (рис. 2В).

Следствием падения величины $(+dP/dt)_{max}/P_{max}$ у препаратов миокарда крыс с субхронической свинцовой интоксикацией является увеличение времени достижения пика изометрического сокращения (ВДМ) (рис. 3). С увеличением длины отмечается рост ВДМ во всех препаратах всех групп крыс, причем менее крутой в препаратах миокарда крыс со свинцовой интоксикацией. При этом независимо от длины, значение ВДМ

в мышечных препаратах (как трабекул, так и папиллярных мышц) у крыс контрольной группы достоверно меньше, чем у крыс со свинцовой экспозицией (будь то на фоне приёма кальция, будь то без него).

Таким образом, несмотря на слабо выраженные инотропные эффекты свинцовой интоксикации в трабекулах и папиллярных мышцах правого желудочка крыс со свинцовой экспозицией обнаружено существенное увеличение ВДМ изометрического сокращения, в сравнении с крысами без воздействия солей свинца.

При увеличении длины миокарда рост развиваемой активной силы в соответствии с за-

коном Франка-Старлинга, сопровождается нелинейным ростом пассивного (т.е. диастолического) напряжения (рис. 4). Неожиданным оказалось падение величины диастолического напряжения у препаратов трабекул группы «Pb» относительно контрольной группы (рис. 4А, $P < 0,05$). Аналогичное по знаку, хотя и статистически недостаточно значимое межгрупповое различие видно и для папиллярных мышц. Такое расположение кривых «длина – диастолическое напряжение» свидетельствует о некотором снижении жесткости препаратов трабекул крыс группы «Pb» по сравнению с препаратами остальных групп (рис. 4А).

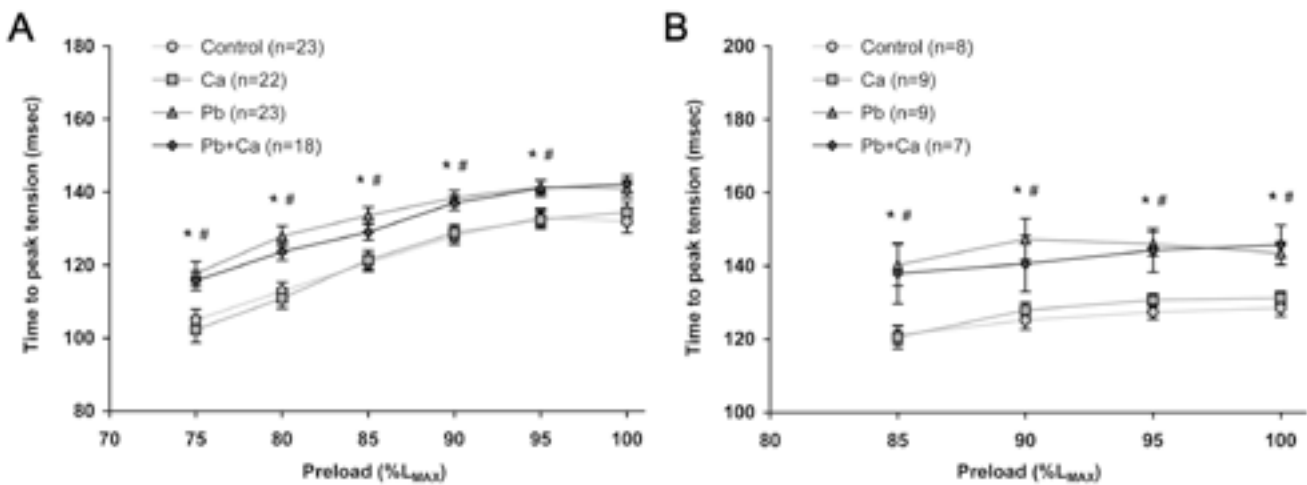


Рис. 3. Усредненные кривые зависимости времени достижения пика изометрического сокращения (ВДМ) от длины, полученные для стационарных изометрических сокращений трабекул (А) и папиллярных мышц (В) правого желудочка самцов крыс Control группы и трех экспериментальных групп (обозначения даны в легенде, в скобках указано число препаратов). Частота стимуляции 1 Гц, температура раствора 30°C. * – различия между группами «Control» и «Pb» достоверны при $P < 0,05$, # – различия между группами «Ca» и «Pb+Ca» достоверны при $P < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни).

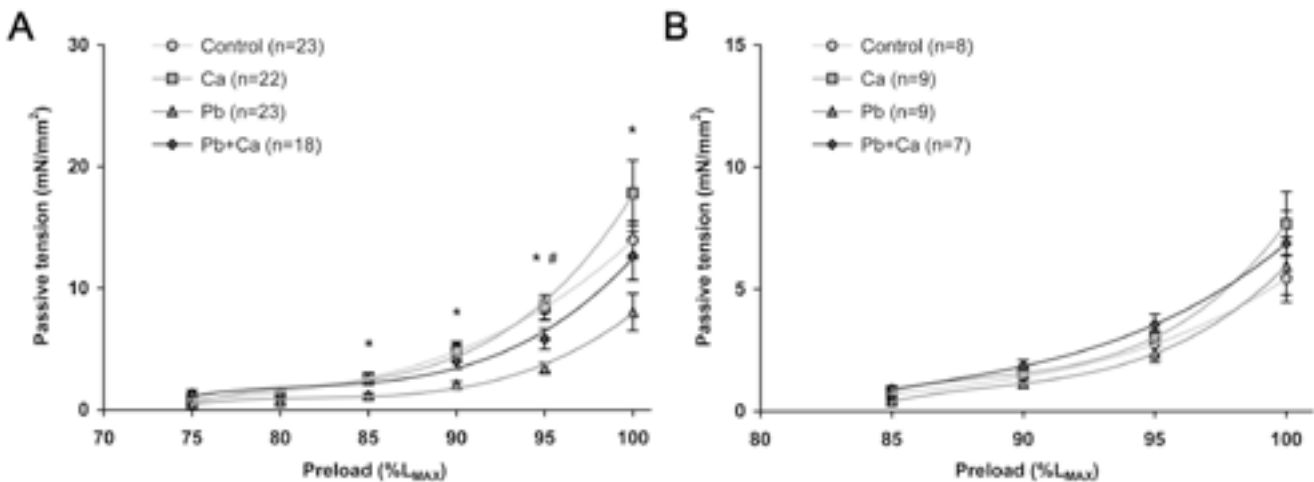


Рис. 4. Усредненные кривые зависимости «длина – пассивное напряжение», полученные для трабекул (А) и папиллярных мышц (В) правого желудочка самцов крыс Control группы и трех экспериментальных групп (обозначения даны в легенде, в скобках указано число препаратов). Частота стимуляции 1 Гц, температура раствора 30°C. * – различия между группами «Control» и «Pb» достоверны при $P < 0,05$, # – различия между группами «Ca» и «Pb+Ca» достоверны при $P < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни).

Таким образом, при уверенно выраженной, но несомненной и при том полисистемной свинцовой интоксикации нами не было обнаружено достоверных изменений силы изометрических сокращений изолированных трабекул и папиллярных мышц правого желудочка. Относительное сохранение угла наклона кривых связи «длина – активное напряжение» во всех группах животных свидетельствует о неизменной чувствительности контрактильных и регуляторных белков к изменению длины кардиомиоцитов.

В наших экспериментах во всех группах препаратов трабекул величина роста $(+dP/dt)_{max}/P_{max}$ и спада $(-dP/dt)_{max}/P_{max}$ изометрического напряжения падала с увеличением длины (рис. 2). В контрольной группе и в группе крыс, получавших только кальций-содержащий препарат, во всем диапазоне длин максимальные значения развития $(+dP/dt)_{max}/P_{max}$ и спада $(-dP/dt)_{max}/P_{max}$ изометрического напряжения были выше, чем в группах крыс, подвергавшихся воздействию свинца. При падении $(+dP/dt)_{max}/P_{max}$ в препаратах трабекул правого желудочка крыс со свинцовой экспозицией, сохранение величины максимальной силы по сравнению с контрольной группой достигается за счет достоверного увеличения ВДМ, особенно на малых длинах (рис. 3). Нами найдено, что значения ВДМ в абсолютных единицах возрастают с увеличением длины препарата во всех группах крыс в отличие от результатов, полученных Fioresi et al. [28].

Известно, что временной ход развития и спада напряжения в изометрическом сокращении определяется двумя основными детерминантами – соотношением изоформ миозинов и скоростями процессов, участвующих в кальциевой регуляции сокращений [64, 65]. Полученные нами данные об изменении соотношения быстрых и медленных изоформ миозинов являются существенным аргументом в пользу развития гипертрофии миокарда в ответ на субхроническую свинцовую интоксикацию организма. В любом случае увеличение количества медленных изоформ миозина хорошо согласуется с обнаруженными нами изменениями скоростных и временных характеристик изометрических сокращений препаратов миокарда крыс и частично объясняет эти изменения. Также стоит отметить, что отсутствие инотропного эффекта свинца в наших экспериментах на мышечных препаратах находится в хорошем соответствии с тем, что изометрические силы, развиваемые изоформами V1 и V3 крысы, не различаются [66].

Таким образом, исходя из наших данных, можно допустить, что сократительные белки были одной из мишеней токсического действия свинца на сердечно-сосудистую систему.

Ранее никем не описанным результатом оказалось уменьшение длинозависимого прироста величины диастолического механического напряжения, развиваемого мышечным препаратом крысы, подвергавшейся воздействию свинца (статистически значимое только для препаратов трабекул, рис.4). Этот эффект не может объясняться возможной гипертрофией, поскольку гипертрофия миокарда сама по себе способствует скорее увеличению жесткости [67]. Следовательно, субхроническое действие свинца должно вовлекать некий дополнительный механизм, который независимо от наличия или отсутствия гипертрофии вызывает уменьшение жесткости.

Показано, что связь пассивной жесткости с титином в трабекулах крыс может модулироваться ионами кальция [68-70]. Установленное рядом автором [26-29] возможное частичное замещение ионов кальция свинцом в кардиомиоцитах при свинцовой интоксикации может приводить к снижению вклада кальция в жесткость титина.

Показано, что при активации адренэргической системы активируется протеинкиназа А, которая фосфорилирует изоформу титина N2B, что приводит к падению жесткости кардиомиоцитов крыс [71].

Некоторое различие в полученных результатах влияния свинца на папиллярные мышцы и трабекулы правого желудочка можно объяснить неодинаковостью нагрузок в сердечном цикле, испытываемых пристеночными трабекулами и папиллярными мышцами, удерживающими трёхстворчатый клапан.

Воздействие ионов свинца на организм, помимо конкурентных отношений с ионами кальция, сопровождается многими эффектами, которые полностью не похожи на эффекты кальция, и поэтому токсикодинамику ионов Pb^{2+} нельзя объяснить исключительно взаимодействием с ионами Ca^{2+} [72].

Интерпретация биомеханических данных, полученных для изолированных изометрически сокращающихся препаратов миокарда, с большой осторожностью возможна лишь в отношении фазы изометрического напряжения одиночного цикла сердца, даже учитывая доказанное подобие параметров сократимости изолированных препаратов миокарда и миокарда целостного сердца [73].

Заключение. В проведенном нами эксперименте достоверно установлено выраженное токсическое действие субхронической экспозиции к свинцу в использованной дозировке, сублетальной на системно-организменном уровне. Наряду с этим, изменения сократительной функции миокарда, оцененной детальнее, чем кем-либо ранее, на изолированных мышечных препаратах как трабекул стенки правого желудочка, так и папилляр-

ных мышц оказались относительно скромными, хотя и не вызывающими сомнения.

Впервые при одновременном исследовании препаратов папиллярных мышц и трабекул правого желудочка из одного и того же сердца было показано, что при свинцовой интоксикации:

- наряду с падением изометрических сокращений стабилизация амплитуды силы обеспечивается за счет увеличения времени достижения максимального значения силы, особенно на малых длинах;

- максимальная величина скорости развития силы препаратов папиллярных мышц группы крыс со свинцовой интоксикацией («Pb») меньше, чем у всех папиллярных мышц крыс остальных групп, и не зависит от длины;

- имеет место падение величины пассивного (диастолического) механического напряжения;

- происходит замещение значительной части быстрых изоформ сердечного миозина V1 (α - α -гомомера МНС) более медленными (V3 – β - β -гомомера МНС);

- показано умеренное кардиопротекторное действие кальций-содержащей добавки к рациону

крыс для трабекул миокарда в физиологическом диапазоне длин мышцы.

Рассматривая полученные нами экспериментальные результаты в совокупности, и учитывая опубликованные экспериментальные и эпидемиологические данные других исследователей, можно предположить, что в актуальных условиях профессиональной и экологически обусловленной свинцовой нагрузки организма человека повышенный риск ССЗ связан не только с повышением артериального давления, но и с нарушениями сократительной активности сердечной мышцы. Однако для того, чтобы судить, в какой мере эти нарушения вторичны (в частности, связаны с гипертрофией миокарда, обусловленной гипертензией) или первичны, как и для обоснования непротиворечивых гипотез о наиболее вероятных механизмах такой первичной кардиотоксичности свинца необходимы дополнительные исследования при его воздействии как *in vivo*, так и *in vitro*.

Работа была частично выполнена в рамках тем ИИФ УрО РАН № ААА-А18-118020590031-8 и № АААА-А18-118020590135

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Glenn B.S., Stewart W.F., Links J.M., Todd A.C., Schwartz B.S. The longitudinal association of lead with blood pressure. *Epidemiol.* 2003; 14: 30-36.
2. Glenn B.S., Bandeen-Roche K., Lee B.K., Weaver V.M., Todd A.C., Schwartz B.S. Changes in systolic blood pressure associated with lead in blood and bone. *Epidemiol.* 2006; 17: 538-544.
3. Navas-Acien A., Guallar E., Silbergeld E.K., Rothenberg S.J. Lead exposure and cardiovascular disease—a systematic review. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115: 472-482.
4. Fiorini J., Ribeiro R.F., Silveira E.A., Padilha A.S., Vescovi M.V., de Jesus H.C. et al. Low-level lead exposure increases systolic arterial pressure and endothelium-derived vasodilator factors in rat aortas. *PLoS One.* 2011; 6(2): e17117.
5. World Health Organization. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Geneva: WHO Food Additives Series; 2011: No. 64.
6. Gidlow D.A. Lead toxicity. *Occup. Med.* 2015; 65(5): 348-356.
7. Yang W.Y., Zhang Z.Y., Thijs L., Cauwenberghs N., Wei F.F., Jacobs L. et al. Left Ventricular Structure and Function in Relation to Environmental Exposure to Lead and Cadmium. *J. Am. Heart Assoc.* 2017; 6(2): pii:e004692.
8. Silveira E.A., Siman F.D., de Oliveira F.T., Vescovi M.V., Furieri L.B., Lizardo J.H. et al. Low-dose chronic lead exposure increases systolic arterial pressure and vascular reactivity of rat aortas. *Free Radic. Biol. Med.* 2014; 67: 366-376.
9. Simões M.R., Ribeiro Júnior R.F., Vescovi M.V., de Jesus H.C., Padilha A.S., Stefanon I. et al. Acute lead exposure increases arterial pressure: role of the renin-angiotensin system. *PLoS One.* 2011; 6: e18730.
10. Vaziri N.D., Norris K. Lipid disorders and their relevance to outcomes in chronic kidney disease. *Blood Purif.* 2011; 31(1-3): 189-196.
11. Carmignani M., Volpe A.R., Boscolo P., Qiao N., Di Giacchino M., Grilli A. et al. Catecholamine and nitric oxide systems as targets of chronic lead exposure in inducing selective functional impairment. *Life Sci.* 2000; 68: 401-415.
12. Khalil-Manesh F., Gonick H.C., Weiler E.W., Prins B., Weber M.A., Purdy R.E. Lead-induced hypertension: possible role of endothelial factors. *Am. J. Hypertens.* 1993; 6: 723-729.
13. Трахтенберг И.М., Лубянова И.П., Альпятина Е.Л. Роль свинца и железа, как техногенных химических загрязнителей, в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. *Therapia.* 2010; 07-08(49): 36-39. / Trakhtenberg I.M., Lubyanova I.P., Apykhina E.L. Lead and iron as man-made chemical pollutants in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Therapia.* 2010; 07-08(49): 36-39 (in Russian).
14. Carmignani M., Boscolo P., Poma A., Volpe A.R. Kininergic system and arterial hypertension following chronic exposure to inorganic lead. *Immunopharmacol.* 1999; 44: 105-110.
15. Staessen J.A., Roels H., Fagard R. Lead exposure and conventional and ambulatory blood pressure: a prospective population study. *Phoe Cad. Investigators. JAMA.* 1996; 275: 1563-1570.
16. Nawrot T.S., Thijs L., Den Hond E.M., Roels H.A., Staessen J.A. An epidemiological re-appraisal of the association between blood pressure and lead: a metaanalysis. *J. Hum. Hypertens.* 2002; 16: 123-131.
17. Staessen J.A., Lauwerys R.R., Buchet J.P., Bulpitt C.J., Rondia D., Vanrenterghem Y. et al. Impairment of renal function with increasing blood lead concentrations in the general population. The Cadmibel Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1992; 327: 151-156.
18. Chao S.H., Suzuki Y., Zysk J.R., Cheung W.Y. Activation of calmodulin by various metal cations as a function of ionic radius. *Mol. Pharmacol.* 1984; 26(1): 75-82.
19. Chao S.H., Bu C.-H., Cheung W.Y. Activation of troponin C by Cd²⁺ and Pb²⁺. *Arch. Toxicol.* 1990; 64: 490-496.
20. Richardt G., Federolf G., Habermann E. Affinity of heavy metal ions to intracellular Ca²⁺-binding proteins. *Biochem. Pharmacol.* 1986; 35(8): 1331-1335.
21. Markovac J., Goldstein G.W. Picomolar concentrations of lead stimulate brain protein kinase C. *Nature.* 1988; 334: 71-73.
22. Williams B.J., Griffith W.H. 3rd, Albrecht C.M., Pirch J.H., Hejtmancik M.R.Jr. Effects of chronic lead treatment on some cardiovascular responses to norepinephrine in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1977; 40: 407-413.
23. Kopp S.J., Barany M., Erlanger M., Perry E.F., Perry H.M. The influence of chronic low-level cadmium and/or lead feeding on myocardial contractility related to phosphorylation of cardiac myofibrillar proteins. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1980; 54: 48-56.
24. Kopp S.J., Perry H.M.Jr., Glonek T., Erlanger M., Perry E.F., Barany M. et al. Cardiac physiologic-metabolic changes after chronic low-level heavy metal feeding. *Am. J. Physiol.* 1980; 239: H22-30.
25. Prentice R.C., Kopp S.J. Cardiotoxicity of lead at various perfusate calcium concentrations: functional and metabolic responses of the perfused rat heart. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1985; 81: 491-501.
26. Vassallo D.V., Lebach E.C., Moreira C.M., Wiggers G.A., Stefanon I. Lead reduces tension development and the myosin ATPase activity of the rat right ventricular myocardium. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2008; 41: 789-795.
27. Fiorese M., Furieri L.B., Simões M.R., Ribeiro R.F.Jr., Meira E.F., Fernandes A.A. et al. Acute exposure to lead increases myocardial contractility independent of hypertension development. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2013; 46: 178-185.
28. Fiorese M., Simões M.R., Furieri L.B., Broseghini-Filho G.B., Vescovi M.V., Stefanon I. et al. Chronic lead exposure increases blood pressure and myocardial contractility in rats. *PLoS One.* 2014; 9(5): e96900.
29. Silva M.A., de Oliveira T.F., Almenara C.C., Broseghini-Filho G.B., Vassallo D.V., Padilha A.S. et al. Exposure to a Low Lead Concentration Impairs Contractile Machinery in Rat Cardiac Muscle. *Biol. Trace Elem. Res.* 2015; 167: 280-287.
30. Linke W.A., Rudy D.E., Centner T., Gautel, M., Witt C., Labeit S. et al. I-band titin in cardiac muscle is a three-element molecular spring and is critical for maintaining thin filament structure. *J. Cell Biol.* 1999; 146: 631-644.
31. Freiburg A., Trombitas K., Hell W., Cazorla O., Fougereousse F., Centner T. et al. Series of exon-skipping events in the elastic spring region of titin as the structural basis for myofibrillar elastic diversity. *Circ Res.* 2000; 86: 1114-1121.
32. Fujita H., Labeit D., Gerull B., Labeit S., Granzier H.L. Titin isoform-dependent effect of calcium on passive myocardial tension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004; 287: H2528-H2534.
33. Sarantis I., Papanastopoulos P., Manousi M., Baikoussis N.G., Apostolakis E. The cytoskeleton of the cardiac muscle cell. *Hellenic J. Cardiol.* 2012; 53(5): 367-79.
34. Reiser P.J., Kline W.O. Electrophoretic separation and quantitation of cardiac myosin heavy chain isoforms in eight mammalian species. *Am. J. Physiol.* 1998; 284 (3 Pt 2): H1048-H1053.
35. Farkhondeh T., Boskabady M.H., Kohi M.K., Sadeghi-Hashjin G., Moïn M. Lead exposure affects inflammatory mediators, total and differential white blood cells in sensitized guinea pigs during and after sensitization. *Drug Chem. Toxicol.* 2014; 37(3): 329-335.
36. Al Momen A. Thrombocytosis secondary to chronic lead poisoning. *Platelets.* 2010; 21(4): 297-299.
37. Rius R.A., Govoni S., Trabucchi M. Regional modification of brain calcium antagonist binding after *in vivo* chronic lead exposure. *Toxicol.* 1986; 40(2): 191-197.
38. Bressler J.P., Goldstein G.W. Mechanisms of lead neurotoxicity. *Biochem. Pharmacol.* 1991; 41: 479-484.
39. Adonaylo V.N., Oteiza P.I. Lead intoxication: antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain. *Toxicol.* 1999; 135(2-3): 77-85.
40. Ma T., Chen H.H., Ho I.K. Effects of chronic lead (Pb) exposure on neurobehavioral function and dopaminergic neurotransmitter receptors in rats. *Toxicol. Lett.* 1999; 105(2): 111-21.
41. Nehru B., Sidhu P. Behavior and neurotoxic consequences of lead on rat brain followed by recovery. *Biol. Trace Elem. Res.* 2001; 84(1-3): 113-121.
42. NourEddine D., Miloud S., Abdelkader A. Effect of lead exposure on dopaminergic transmission in the rat brain. *Toxicol.* 2005; 207(3): 363-368.

43. Deveci E. Ultrastructural effects of lead acetate on brain of rats. *Toxicol. Ind. Health*. 2006; 22(10): 419-22.
44. Sanders T., Liu Yi., Buchner V., Tchounwou P.B. Neurotoxic Effects and Biomarkers of Lead Exposure: A Review. *Rev. Environ. Health*. 2009; 24(1): 15-45.
45. Mason L.H., Harp J.P., Han D.Y. Pb Neurotoxicity: Neuropsychological Effects of Lead Toxicity. *BioMed. Res. Int*. 2014; 2014: 840547, 8 pages.
46. Kusumoto F., Bemath P. ECG interpretation for everyone: an on-the-spot guide. Wiley-Blackwell. 2012; <https://doi.org/10.1002/9781119962168>
47. Sharma P., Purohit P. Lead Exposure Exacerbates Cardiovascular Risk. *Ind. J. Clin. Biochem*. 2014; 29(2): 117-118.
48. Allouche L., Hamadouche M., Touabti A., Khenouf S. Effect of Long-term Exposure to Low or Moderate Lead Concentrations on Growth, Lipid Profile and Liver Function in Albino Rats. *Advan. Biol. Res.* 2011; 5(6): 339-347.
49. Tarugi P., Calandra S., Borella P., Vivoli G.F. Heavy metals and experimental atherosclerosis. Effect of lead intoxication on rabbit plasma lipoproteins. *Atherosclerosis*. 1982; 45(2): 221-234.
50. Skoczyńska A., Smolik R., Jelen M. Lipid abnormalities in rats given small doses of lead. *Arc. Toxicol.* 1993; 67(3): 200-204.
51. Barton J.C., Conrad M.E., Harrison L., Nuby S. Effects of calcium on the absorption and retention of lead. *J. Lab. Clin. Med.* 1978; 91(3): 366-376.
52. Bogden J.D., Gertner S.B., Christakos S., Kemp F.W., Yang Z., Katz S.R. et al. Dietary calcium modifies concentrations of lead and other metals and renal calbindin in rats. *J. Nutr.* 1992; 122(7): 1351-1360.
53. Varnai V.M., Piasek M., Blanusa M., Sarić M.M., Simić D., Kostial K. Calcium supplementation efficiently reduces lead absorption in suckling rats. *Pharmacol. Toxicol.* 2001; 89(6): 326-30.
54. Привалова Л.И. Свинец и его соединения. В кн.: Филлов В.А., Мусийчук Ю.И., Москвин А.В., Ивин Б.А., ред. Вредные вещества в окружающей среде. Элементы I-IV групп периодической системы и их неорганические соединения. СПб.: Профессионал; 2005: 400-27 / Privalova, L.I. Lead and its compounds, in: Philov, V.A., Musiychuk, Yu.I., Moskvina, A.V., Ivin, B.A. (Eds.), Harmful substances in the environment. Elements of groups I-IV of the periodic table and their inorganic compounds. St. Petersburg: Professional; 2005: 400-27 (in Russian).
55. Katsnelson B. A., Makeev O. H., Kochneva N. I., Privalova L. I., Degtyareva T. D., Minin V. V. et al. Testing a set of bioprotectors against the genotoxic effect of a combination of ecotoxins. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2007; 13(3-4): 251-264.
56. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S. V., Malykh O.L., Gurvich V.B., Voronin S.A. et al. Lead and Childhood: Risks and their Management (The Middle Urals Experience). *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2008; 14(3): 3-25.
57. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Soloboyeva J.I. Biological prophylaxis of adverse health effects caused by environmental and occupational impacts - theoretical premises, experimental and field testing, practical realization. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2009; 15(1-2): 35-51.
58. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kireyeva Ye.P., Yerenko O.S., Sutunkova M.P., Valamina I.E. et al. Combined subchronic fluoride-lead intoxication and its attenuation with the help of a complex of bioprotectors. *Med. Lav.* 2012; 103(2): 146-159.
59. Savchenko O.V., Sgrebneva M.N., Kiselev V.I., Khotimchenko Y.S. Lead removal in rats using calcium alginate. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2015; 22(1): 293-304.
60. Gorza L., Mercadier J.J., Schwartz K., Thornell L.E., Sartore S., Schiaffino S. Myosin Types in the Human Heart. An Immunofluorescence Study of Normal and Hypertrophied Atrial and Ventricular Myocardium. *Circ. Res.* 1984; 54: 694-702.
61. Hirzel H.O., Tuchschnid C.R., Schneider J., Krayenbuehl H.P., Schaub M.C. Relationship between myosin isoenzyme composition, hemodynamics, and myocardial structure in various forms of human cardiac hypertrophy. *Circ. Res.* 1985; 57: 729-740.
62. DeTombe P.P., Mateja R.D., Tachampa K., AitMou Y., Farman G.P., Irving T.C. Myofibrillar length dependent activation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2010; 48: 851-858.
63. Allen D.G., Kentish J.C. The cellular basis of the length-tension relation in cardiac muscle. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1985; 17: 821-840.
64. Sugiura S., Kobayakawa N., Fujita H., Yamashita H., Mornomura S., Chaen S. et al. Comparison of unitary displacements and forces between 2 cardiac myosin isoforms by the optical trap technique. Molecular basis for cardiac adaptation. *Circ. Res.* 1998; 82: 1029-1034.
65. Morgan J.P., Chesebro J.H., Pluth J.R., Puga F.J., Schaff H.V. Intracellular calcium transients in human working myocardium as detected with aequorin. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1984; 3: 410-418.
66. Fitzsimons D.P., Patel J.R., Moss R.L. Aging dependent depression in the kinetics of force development in rat skinned myocardium. *Am. J. Physiol.* 1999; 276: 1511-1519.
67. Krüger M., Linke W.A. Titin-based mechanical signalling in normal and failing myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2009; 46: 490-498.
68. Stuyvers B.D., Miura M., Jin J.P., ter Keurs H.E. Ca(2+)-dependence of diastolic properties of cardiac sarcomeres: involvement of titin. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1998; 69: 425-443.
69. Linke W.A. Titin Gene and Protein Functions in Passive and Active Muscle. *Annu. Rev. Physiol.* 2018; 80: 389-411.
70. Linke W.A., Hamdani N. Gigantic Business Titin Properties and Function Through Thick and Thin. *Circ Res.* 2014; 114: 1052-1068.
71. Yamasaki R., Wu Y., McNabb M., Greaser M., Labeit S., Granzier H. Protein Kinase A Phosphorylates Titin's Cardiac-Specific N2B Domain and Reduces Passive Tension in Rat Cardiac Myocytes. *Circ Res.* 2002; 90: 1181-1188.
72. Simons T. Cellular interactions between lead and calcium. *Br. Med. Bull.* 1986; 42: 431-434.
73. Elzinga G., Westerhof N. How to quantify pump function of the heart. The value of variables derived from measurements on isolated muscle. *Circ. Res.* 1979; 44: 303-308.

B.A. Katsnelson¹, Yu.L. Protsenko², S.V. Klinova¹, O.N. Lookin², A.A. Balakin², L.V. Nikitina², L.B. Katsnelson², O.P. Gerzen², I.A. Minigalieva¹, L.I. Privalova¹, V.B. Gurvich¹, M.P. Sutunkova¹

EFFECTS OF SUBCHRONIC LEAD INTOXICATION ON THE MYOCARDIUM CONTRACTILITY OF RATS

¹The Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, 620014, Ekaterinburg, Russian Federation

²Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620049, Ekaterinburg, Russian Federation

While it is known that chronic lead intoxication in humans induces arterial hypertension and thus can lead to some secondary disturbances of heart function, possible effects of this intoxication on myocardium contractility has never been proved. In our experiments outbred male rats were repeatedly injected IP with sub-lethal doses of lead acetate 3 times a week during 5 weeks. They developed an explicit even if moderate lead intoxication characterized by typical hematological and some other features. Next day after the last injection the heart of each animal was excised, and trabecules and papillary muscles from right ventricle were used for modeling *in vitro* isometric regimes of contraction-relaxation cycle. Several well-established parameters of this model proved to be changed as compared with preparations taken from hearts of healthy control rats. Against the background of *in vivo* calcium treatment both systemic and cardiotoxic effects of lead were somewhat attenuated. For the first time we showed that at subchronic intoxication with lead the myocardial preparations in a wide range of lengths react with decrease in their time and speed parameters of isometric contraction while keeping its amplitude, and with decrease in the passive stiffness of the trabecules. Features of the reaction of different structures of the heart and the shifting of isomyosin ratio to the slow isoform were demonstrated. Mechanistic and toxicological inferences from the results obtained are discussed.

Keywords: lead intoxication, myocardial contractility, myosin isoforms.

Материал поступил в редакцию 26.06.2018 г.