

На правах рукописи



Герцен Оксана Павловна

АКТИН-МИОЗИНОВОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В МИОКАРДЕ
В НОРМЕ И ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ КРЫС
СОЛЯМИ СВИНЦА И КАДМИЯ

03.03.01 «Физиология»

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2021

Работа выполнена на базе лаборатории биологической подвижности Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (г. Екатеринбург).

Научный руководитель: **Никитина Лариса Валерьевна**
доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологической подвижности Института иммунологии физиологии УрО РАН

Научный консультант: **Кацнельсон Борис Александрович**
Доктор медицинских наук, профессор, ЗДНРФ, научный консультант ЕМНЦ ПОЗРПП

Официальные оппоненты: **Шенкман Борис Стивович**
Доктор биологических наук, заведующий лабораторией миологии ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН

Вихлянцеv Иван Милентьевич
Доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории структуры и функций мышечных белков, и.о. директора ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации (г.Москва).

Защита диссертации состоится «24» ноября 2021 года в 13 часов 00 минут на заседании диссертационного совета КФУ.03.06 при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420015, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 76, ауд. 208 (актовый зал).

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 35.

Сведения о защите, автореферат и диссертация размещены на официальных сайтах ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (<https://vak.minobrnauki.gov.ru>) и ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (<http://kpfu.ru>).

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета КФУ.03.06
д.б.н., профессор



Т.А. Аникина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Сердечно-сосудистые заболевания – основная причина смертности в мире (*GBD Compare / IHME Viz Hub*, n.d.), поэтому изучение структуры и функции сердца в норме и при патологии в настоящее время актуально. Все камеры сердца имеют отличия в структуре и функции, в том числе на уровне сократительных белков (Nollet et al., 2020; Shchepkin et al., 2017), поэтому для понимания полной картины функционирования сердца должен изучаться каждый отдел. В настоящее время существует множество работ, посвящённых различным отделам сердца (Ho & Sánchez-Quintana, 2009; Lahm et al., 2018), но на молекулярном уровне исследований значительно меньше, в частности, известны исследования левого желудочка (Abdelwahab et al., 2019; Woodward et al., 2015), реже встречаются работы, посвященные правому желудочку (Bogaard et al., 2009) и немногочисленные исследования, касающиеся различий между желудочками сердца (Belin et al., 2011; Cai et al., 2010) или связанные с предсердиями (Carnes et al., 2004; Danzi et al., 2008). Актин-миозиновое взаимодействие в нормальном миокарде несмотря на существующие исследования (Gordon et al., 2001; Корулова et al., 2016; Nikitina et al., 2015) остается недостаточно изученным, а работ, посвященных особенностям актин-миозинового взаимодействия разных отделов сердца в норме мало. При этом точное понимание структуры сердца является обязательным условием для понимания его функции не только в норме, но и при различных патологиях (Mori et al., 2015).

На структуру и функцию сердца могут влиять различные факторы, включая тяжелые металлы, которые способствуют возникновению и обострению патологий сердечно-сосудистой системы (Landrigan et al., 2018). Воздействию тяжёлых металлов подвергаются значительные человеческие субпопуляции – работники промышленных предприятий и люди, проживающие в зоне их техногенного влияния (Kim et al., 2016; Landrigan et al., 2018). Свинец и кадмий являются наиболее распространенными ксенобиотиками в среде обитания человека. Эти металлы присутствуют в воздухе, домашней пыли, почве, воде, продуктах питания и многих потребительских продуктах, а их накопление в среде характеризуются стойкостью и создаёт условия для токсического воздействия на население через много лет после прекращения промышленной эмиссии. Свинец и кадмий накапливаются в организме человека и животных, например, в костях, из которых период их полувыведения составляет десятилетия. Безопасный уровень содержания свинца и кадмия в крови не известен, и токсическое действие присутствует на уровнях, намного меньших, чем предполагалось ранее

(Afridi et al., 2010; Landrigan et al., 2018; Mirzaei R., 2018; Vainio H., Heseltine E., Partensky C., 1993; WHO. *Lead Poisoning and Health*, 2019; Мухачева, 2017).

В литературе имеются данные о токсическом влиянии свинца и кадмия на все системы организма, включая сердечно-сосудистую (Alissa & Ferns, 2011; Chowdhury et al., 2018; Kopp et al., 1980; Lamas et al., 2016; Nawrot et al., 2002; Sevim et al., 2020; Solenkova et al., 2014). Однако известные данные о воздействии свинца и кадмия на механическую активность миокарда малочисленны, не охватывают все её аспекты и отчасти противоречивы, а проявления системной свинцовой интоксикации, на фоне которой развились те или иные нарушения сократительной функции миокарда, охарактеризованы и измерены недостаточно. Исследования кардиотоксического действия свинца и кадмия на уровне изолированных белков не проводились несмотря на то, что есть предположения о влиянии тяжелых металлов непосредственно на сократительные белки.

Цель работы – изучение характеристик актин-миозинового взаимодействия в нормальном сердце и при воздействии изолированной и комбинированной хронической интоксикации крыс солями свинца и кадмия.

Задачи:

1. Исследовать актин-миозиновое взаимодействие и его кальциевую регуляцию в норме в различных отделах сердца – правом желудочке, левом желудочке и предсердиях.

2. Изучить влияние хронической свинцовой интоксикации на функциональные характеристики миозина и экспрессию его изоформ в разных отделах сердца.

3. Изучить влияние хронической кадмиевой интоксикации на функциональные характеристики миозина и экспрессию его изоформ в разных отделах сердца.

4. Исследовать влияние комбинированной хронической интоксикации солями свинца и кадмия на функциональные характеристики миозина и экспрессию его изоформ в разных отделах сердца.

5. Исследовать влияние комбинированной хронической интоксикации солями свинца и кадмия на функциональные характеристики миозина и экспрессию его изоформ в разных отделах сердца на фоне воздействия биопротекторного комплекса.

Научная новизна. В данном исследовании впервые экспериментально показано, что нативный тонкий филамент предсердий

имеет более низкую скорость, чем тонкий филамент желудочков. Впервые было изучено проявление влияния хронической интоксикации солями свинца и кадмия на сердечную мышцу на уровне сократительных белков, а также проведено сравнение изолированных и комбинированных эффектов свинца и кадмия на актин-миозиновое взаимодействие и его кальциевую регуляцию в миокарде. Данное исследование проведено вместе с оценкой системной токсичности этих металлов. Впервые проведено сравнение кардиотоксического влияния свинца и кадмия (изолированного и комбинированного) на характеристики актин-миозинового взаимодействия и его регуляцию в различных отделах сердца крыс, подвергшихся хронической интоксикации. Впервые проведена оценка изменения экспрессии изоформ тяжелых цепей миозина в разных отделах сердца в ответ на интоксикацию солями свинца и кадмия. Впервые исследовано проявление токсического влияния этих металлов на сердечную мышцу на уровне сократительных белков на фоне воздействия на крыс биопротекторного комплекса.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Представленные в работе данные расширяют представления об особенностях актин-миозинового взаимодействия и его кальциевой регуляции в разных отделах сердца и о механизмах влияния тяжелых металлов на функциональные характеристики и изоформный состав миозина. Помимо выявления новых фактов и знаний о механизмах токсичности свинца и кадмия, наше исследование может служить фундаментом для дальнейших практических исследований, связанных с мониторингом, диагностикой и профилактикой токсичности свинца и кадмия.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Характеристики актин-миозинового взаимодействия в норме отличаются в зависимости от отдела сердца и зависят как от изоформного состава миозина, так и от особенностей тонкого филамента этих отделов.

2. Изолированные интоксикации солями свинца и кадмия влияют на актин-миозиновое взаимодействие во всех отделах сердца. Их комбинация оказывает влияние на актин-миозиновое взаимодействие, но не является суммой двух изолированных интоксикаций.

3. Влияние хронической комбинированной свинцово-кадмиевой интоксикации на актин-миозиновое взаимодействие нивелируется в разных отделах сердца с разной степенью при поступлении в организм биопротекторного комплекса.

Степень достоверности полученных результатов. Достоверность представленных данных и выводов, приведенных в диссертационной

работе, определяется использованием большого количества экспериментальных данных и современных методов исследования белков и статистической обработки данных.

Апробация работы и публикации. Результаты работы были представлены на VI и VII Международной молодежной научной конференции «Физика. Технологии. Инновации» (Екатеринбург, 2019 и 2020), 55-м конгрессе Европейского общества токсикологии (Хельсинки, 2019), III молодежной школе-конференции «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций» (Москва, 2019), Российском национальном конгрессе кардиологов (Екатеринбург, 2019), Всероссийской научно-практической конференции «Научное сопровождение деятельности учреждений Роспотребнадзора» (Екатеринбург, 2019) и Международной научной конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (Екатеринбург, 2020).

По материалам диссертационной работы опубликовано 19 работ, в том числе 8 статей (из них 5 в журналах, индексируемых в WoS и SCOPUS и 3 в журналах из списка ВАК РФ) и тезисы 11 докладов на отечественных и международных конференциях. Был получен один патент, опубликована научно-популярная статья на английском языке и сделан один научно-популярный доклад.

Личный вклад автора заключается в экстрагировании белков для экспериментов – миозина и нативного филамента, планировании и проведении экспериментов в *in vitro* motility assay и электрофоретического разделения белков, а также определении уровня фосфорилирования белков, анализе и интерпретации полученных данных, а также в подготовке научных публикаций.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа включает в себя следующие главы и разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, выводы и список использованной литературы, который включает 201 источник. Работа представляет собой 137 страниц печатного текста, содержит 13 рисунков и 16 таблиц.

Благодарности. Автор благодарен Клиновой С.В. за подготовку и моделирование хронической интоксикации крыс всех групп, Набиеву С.Р. за консультации, обсуждение результатов, сотрудничество и помощь в проведении экспериментов в *in vitro* motility assay.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы

В обзоре литературы рассматриваются известные в настоящее время факты о структуре миозина, различиях функциональных характеристик отделов сердца, влиянии свинца и кадмия на сердечно-сосудистую систему и способах коррекции этого влияния.

Материалы и методы исследования

Модель интоксикации

На 1 этапе исследований использовались аутбредные крысы-самцы массой 300 гр. и возрастом 4 месяца на начало эксперимента. Для моделирования хронической интоксикации свинцом крысам внутрибрюшинно вводили инъекции раствора ацетата свинца 3 раза в неделю (до 15 инъекций) в однократной дозе 12,5 мг Pb на 1 кг массы тела (группа «Pb 12,5», n=10). Контрольной группе делали аналогичные инъекции дистиллированной воды («K1», n=10).

На 2 этапе было 5 групп крыс: контрольная группа «K2» (n=10), группа «Pb» (n=10), группа «Cd» (n=10), группа «Pb+Cd» (n=10), группа «Pb+Cd+БПК» (n=10). Возраст крыс – 3,5 месяца, масса – 220-225 гр. Для развития хронической интоксикации крысам внутрибрюшинно вводили растворы ацетата свинца и / или хлорида кадмия 3 раза в неделю (до 18 инъекций) в однократных дозах 6,01 мг Pb и 0,377 мг Cd на кг массы тела. Половине крыс группы «Pb+Cd» давали с кормом и питьем биопротекторный комплекс, включающий глютамат натрия, цистеин в метаболически активной форме N-ацетилцистеина, яблочный пектин, кверцетин в виде рутина, препарат рыбьего жира, богатый полиненасыщенными жирными кислотами класса омега-3, витамины А, С, Е, D3, B1, B2, B6 и микроэлементы Se, I, Ca, Fe, Mg.

Экстракция белков

Миозин выделяли из предсердий, правого и левого желудочков крыс всех групп. Экстракция актина из скелетных мышц кролика (Pardee, J.D. and Spudich, J.A., 1982), тропонина левого желудочка свиньи (Potter, 1982) и рекомбинантного человеческого тропомиозина дикого типа (Matyushenko et al., 2014) проводилась стандартными методами. Тонкий филамент реконструировали, смешивая актин, тропомиозин и тропонин. Нативный тонкий филамент выделяли из ткани разных отделов сердца крыс всех групп (Spiess et al., 1999).

Электрофоретическое разделение белков

Оценку чистоты белков тонкого филамента проводили по методу Laemmli (Laemmli, 1970). Состав изоформ тяжелых цепей миозина определяли по методу Reiser & Kline (Reiser, P.J. and Kline, 1998). Уровень

фосфорилирования белков определяли с помощью метода Laemmli и Pro-Q Diamond Phosphoprotein Blot Stain Kit.

Методы исследования взаимодействия белков

Для изучения характеристик взаимодействия сократительных и регуляторных белков использовалась искусственная подвижная система (*in vitro* motility assay) (Nikitina et al., 2015). Суть метода: миозин фиксируется на внутренней поверхности проточной камеры, покрытой раствором нитроцеллюлозы в амилацетате. Затем в камеру на 1 минуту помещается раствор с филаментарным актином, окрашенным родамин-фаллоидином. Камера помещается на предметный столик инвертированного флуоресцентного микроскопа. Актин взаимодействует с миозином, образуя ригорный комплекс, в результате флуоресцентно окрашенные актиновые нити укладываются на поверхности, что позволяет настроить фокус объектива на эту поверхность. При добавлении в камеру АТФ-содержащего раствора, актин двигается по поверхности миозина. Движение записывается, что позволяет измерить скорость скольжения актиновых нитей по миозину.

Для построения кривых « pCa -скорость» и « pCa -фракция подвижных филаментов» (фракция – соотношение движущихся тонких филаментов по миозину к общему их количеству) определяли скорость скольжения тонкого филамента по миозину при различных концентрациях свободного кальция в растворе от pCa 4,0 до pCa 8,0, где pCa – отрицательный десятичный логарифм концентрации кальция (рис.1). Нужная концентрация кальция рассчитывалась с помощью программы WEBMAXC STANDARD.

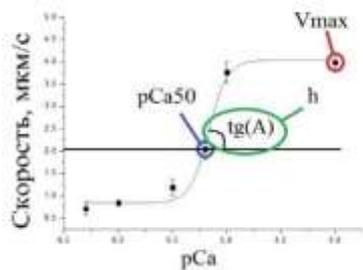


Рис.1. Принцип построения кривой « pCa -скорость» с помощью уравнения Хилла методом наименьших квадратов.

* V_{max} – максимальная скорость, $pCa50$ – кальциевая чувствительность (значение pCa , при котором достигается половина максимальной скорости), h – коэффициент кооперативности Хилла, который отражает наклон кривой в точке $pCa50$.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных производилась как с помощью специализированных (GMimPro, ImageLab), так и общепринятых (OriginPro, Microsoft Excel, STATISTICA) программ. Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Актин-миозиновое взаимодействие в разных отделах сердца *Взаимодействие миозина с реконструированным тонким филаментом*

В результате первой серии экспериментов методом *in vitro motility assay* показано, что максимальная скорость скольжения реконструированных тонких филаментов по миозину правого (RV) и левого (LV) желудочков составляла 61 % и 73 % от скорости в предсердиях (A) (рис.2, табл.1). Коэффициент кооперативности Хилла (h) и кальциевая чувствительность (pCa_{50}) кривой « pCa -скорость» не отличались. Характеристики фракции подвижных филаментов (pCa_{50} и h) не имели значимых отличий для миозина всех отделов сердца крыс. В то же время видна тенденция к снижению фракции подвижных филаментов в правом желудочке (рис.2, табл.2).

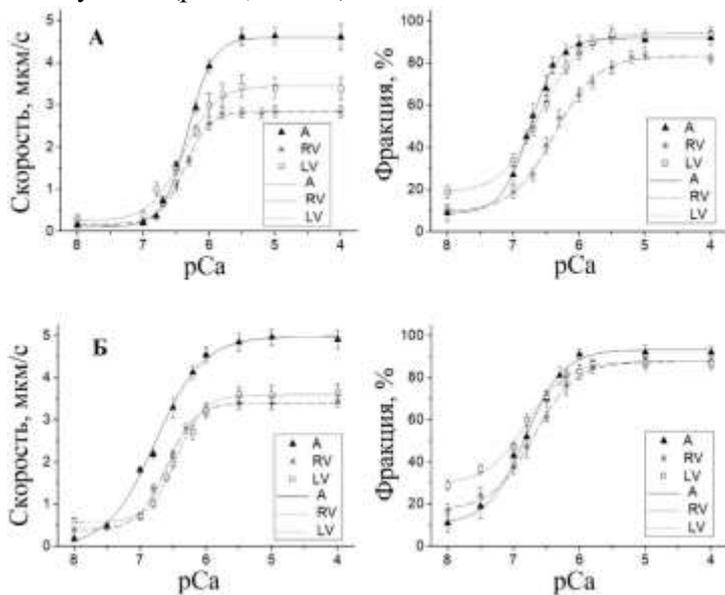


Рис. 2. Результаты первой (А) и второй (Б) серии экспериментов. Слева – зависимость скорости движения реконструированного тонкого филамента по миозину из предсердий («А»), правого («RV») и левого («LV») желудочков сердца крыс от концентрации кальция. Справа – зависимость фракции подвижных филаментов по миозину тех же отделов от концентрации кальция. pCa – отрицательный десятичный логарифм концентрации кальция. Линия регрессии соответствует уравнению Хилла.

Вторая экспериментальная серия на другой группе крыс показала сходные результаты с небольшими отклонениями (табл.1): скорость

правого и левого желудочков составляла 68 % и 72 % от скорости предсердий. Скорость в левом желудочке была выше, чем в правом, однако, в данной серии эти различия не были статистически значимыми. Кальциевая чувствительность и коэффициент кооперативности Хилла не имели значимых отличий между отделами для зависимостей «*p*Ca-скорость» и «*p*Ca-фракция подвижных филаментов». Значение фракции подвижных филаментов при насыщающей концентрации кальция также не имело отличий (табл.2).

Таблица 1. Характеристики зависимости «*p*Ca-скорость» в первой (1) и второй (2) серии экспериментов.

	Скорость, мкм/с		<i>p</i> Ca ₅₀		h	
	1	2	1	2	1	2
A	4,6±0,3 ^{RV,LV}	5,0±0,2 ^{RV,LV}	6,34±0,03	6,67±0,08	1,7±0,5	1,7±0,3
RV	2,8±0,1 ^{A,RV}	3,4±0,1 ^A	6,35±0,05	6,60±0,11	2,2±0,3	1,7±0,3
LV	3,4±0,3 ^{A,LV}	3,6±0,2 ^A	6,32±0,07	6,54±0,12	1,6±0,4	1,2±0,2

* Индекс указывает на значения, имеющие отличия от ^A – предсердий, ^{RV} – правого желудочка, ^{LV} – левого желудочка (p<0,05).

Таблица 2. Характеристики зависимости «*p*Ca-фракция подвижных филаментов» в первой (1) и второй (2) серии экспериментов.

	Фракция, %		<i>p</i> Ca ₅₀		h	
	1	2	1	2	1	2
A	92±3 ^{RV}	92±3	6,69±0,09	6,83±0,11	1,1±0,3	1,2±0,4
RV	83±2 ^{A,LV}	87±3	6,58±0,12	6,77±0,11	1,8±0,4	1,3±0,3
LV	94±3 ^{RV}	87±2	6,74±0,11	6,86±0,12	1,3±0,2	1,2±0,4

* Верхний индекс указывает на значения, имеющие отличия от ^A – предсердий, ^{RV} – правого желудочка, ^{LV} – левого желудочка (p<0,05).

Сравнение характеристик актин-миозинового взаимодействия показало, что внутригрупповые характеристики разных отделов имеют сходные тенденции, однако обе группы крыс различаются по всем показателям, кроме коэффициента Хилла (табл. 1).

Взаимодействие миозина с нативным тонким филаментом

Была проведена серия экспериментов, в которой по миозину двигались реконструированные (РТФ) и нативные (НТФ) тонкие филаменты, экстрагированные из того же отдела сердца той же крысы, что и изучаемый миозин. Несмотря на то, что АТФазная активность миозина различна для предсердий и желудочков и скорость реконструированных тонких филаментов значимо отличается, скорость движения нативных филаментов по миозинам в разных отделах различий не имела (табл.3). Коэффициент Хилла и *p*Ca₅₀ в присутствии нативного тонкого филамента не имели статистически значимых отличий между отделами, а в

присутствии реконструированного – кальциевая чувствительность была снижена в левом желудочке. В экспериментах с нативным тонким филаментом коэффициент Хилла был выше, чем в экспериментах с реконструированным.

Таблица 3. Характеристики зависимости «pCa-скорость» в присутствии реконструированных («РТФ») и нативных («НТФ») тонких филаментов.

	Скорость, мкм/с		pCa ₅₀		h	
	РТФ	НТФ	РТФ	НТФ	РТФ	НТФ
A	5,17±0,21 ^{RV, LV}	3,71±0,30	6,70±0,03 ^{LV}	6,64±0,02	2,1±0,7	2,7±0,6
RV	3,56±0,15 ^A	3,66±0,22	6,70±0,02 ^{LV}	6,60±0,03	1,8±0,3	3,6±0,9
LV	3,89±0,19 ^A	3,72±0,29	6,51±0,03 ^{A, RV}	6,58±0,03	2,7±0,3	3,1±0,8

* Верхний индекс указывает на значения, имеющие отличия от ^A – предсердий, ^{RV} – правого желудочка, ^{LV} – левого желудочка (p<0,05).

Отсутствие различий максимальной скорости актин-миозинового взаимодействия в присутствии нативного филамента является удивительным, учитывая значимые различия в скорости для миозина разных отделов сердца крыс с использованием реконструированного филамента. При этом литературных данных, объясняющих такие различия на молекулярном уровне, не найдено. Для выяснения причины этого явления мы провели эксперименты с использованием тонких нативных филаментов из разных отделов сердца крысы и миозина из левого желудочка свиньи. Максимальная скорость движения нативных тонких филаментов не имела значимых отличий между правым и левым желудочком, но была выше скорости движения тонкого филамента из предсердия на 28 % и 24 %, соответственно (табл.4).

Таблица 4. Значения максимальной скорости движения нативных филаментов из предсердий («A»), правого («RV») и левого («LV») желудочков.

	A	RV	LV
Скорость, мкм/с	1,79±0,21 ^{RV, LV}	2,29±0,22 ^A	2,21±0,15 ^A

* Верхний индекс указывает на значения, имеющие отличия от ^A – предсердий, ^{RV} – правого желудочка, ^{LV} – левого желудочка (p<0,05).

Таким образом, функциональные особенности миозина определяют потенциальную максимальную скорость, а тонкий филамент регулирует, и, таким образом, определяет скорость актин-миозинового взаимодействия. Мы предполагаем, что данное влияние может быть обусловлено одним или несколькими белками тонкого филамента – актина, тропонина или тропомиозина, и/или наличием неизвестных нам механизмов обратной связи.

3.2. Воздействие хронической интоксикации солями свинца на актин-миозиновое взаимодействие в разных отделах сердца

Наличие свинцовой интоксикации крыс было подтверждено типичными для данной интоксикации нарушениями порфиринового биосинтеза, «свинцовой анемией», а также показателями гепатотоксичности (Protsenko et al., 2018).

Экспериментальная серия 1

Хроническая интоксикация солями свинца снижала максимальную скорость движения реконструированных тонких филаментов по миозину во всех отделах сердца (табл.5). Коэффициент Хилла и кальциевая чувствительность кривой « pCa -скорость» не имели отличий между отделами сердца при влиянии свинца, но в предсердиях имела небольшую тенденцию к повышению кальциевой чувствительности.

Таблица 5. Характеристики зависимости « pCa -скорость» в разных отделах сердца в норме и при интоксикации свинцом (эксп.серия 1).

	V_{max} , мкм/с		pCa_{50}		h	
	К	Pb	К	Pb	К	Pb
A	4,6±0,3	3,1±0,4*	6,34±0,03	6,52±0,19	1,7±0,5	1,5±0,4
RV	2,8±0,1	1,9±0,1*	6,35±0,05	6,34±0,09	2,2±0,3	2,3±0,3
LV	3,4±0,3	2,5±0,1*	6,32±0,07	6,34±0,06	1,6±0,1	2,1±0,6

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

Таблица 6. Характеристики зависимости « pCa -фракция подвижных филаментов» в разных отделах сердца в норме и при интоксикации свинцом (эксп. серия 1).

	Фракция, %		pCa_{50}		h	
	К	Pb	К	Pb	К	Pb
A	92±3	76±2*	6,69±0,09	6,65±0,18	1,1±0,3	1,5±0,5
RV	83±2	66±6*	6,58±0,12	6,55±0,11	1,8±0,4	1,9±0,4
LV	94±3	77±4*	6,74±0,11	6,72±0,17	1,3±0,2	1,6±0,3

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

Под влиянием интоксикации свинцом фракция подвижных филаментов снижалась во всех отделах сердца. Кальциевая чувствительность и коэффициент кооперативности Хилла связи « pCa -фракция подвижных филаментов» не имели значимых отличий в группе «Pb» по сравнению с контрольной группой для всех отделов (табл.6).

С помощью электрофоретического разделения белков было определено соотношение α - и β -тяжелых цепей миозина (ТЦМ). Под влиянием интоксикации свинцом процентное содержание β -ТЦМ с более низкой АТФазной активностью увеличилось в правом («К» = 15±5 %, «Pb» = 45±8 % β -ТЦМ) и левом желудочке («К» = 14±4 %, «Pb» = 45±10 %). В предсердиях изменений не происходило – 0 % β -ТЦМ в обеих группах (рис.3).

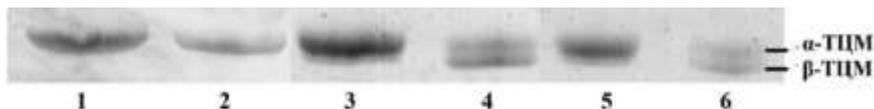


Рис. 3. Репрезентативный пример электрофоретического разделения в полиакриламидном геле тяжелых цепей миозина предсердий (1 – «К», 2 – «Pb»), правого (3 – «К», 4 – «Pb») и левого (5 – «К», 6 – «Pb») желудочков.

С помощью Pro-Q Diamond Phosphoprotein Blot Stain Kit показано, что уровень фосфорилирования регуляторной легкой цепи миозина при интоксикации свинцом не отличался от контрольной группой.

Экспериментальная серия 2

Во второй серии экспериментов результаты были сходны с результатами предыдущей серии. Под влиянием хронической свинцовой интоксикации максимальная скорость скольжения реконструированных тонких филаментов по миозину сердца крыс была снижена во всех отделах: предсердиях, правом и левом желудочках (табл.7). При интоксикации свинцом коэффициент кооперативности Хилла и $pCa50$ кривой зависимости « pCa -скорость» не имели значимых отличий по сравнению с контрольной группой миозинов всех отделов.

Таблица 7. Характеристики зависимости « pCa -скорость» в разных отделах сердца в норме и при интоксикации свинцом (эксп. серия 2).

	V_{max} , мкм/с		pCa_{50}		h	
	К	Pb	К	Pb	К	Pb
A	5,0±0,2*	3,7±0,4*	6,77±0,08	6,93±0,19	1,7±0,3	1,5±0,1
RV	3,4±0,1*	2,6±0,3*	6,60±0,11	6,63±0,09	1,7±0,3	1,7±0,2
LV	3,6±0,2*	2,9±0,1*	6,51±0,12	6,62±0,16	1,2±0,2	1,3±0,3

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

При свинцовой интоксикации фракция подвижных филаментов была заметно снижена во всех отделах по сравнению с контрольной группой, а кальциевая чувствительность и коэффициент Хилла не имели статистически значимых отличий между группами (табл.8).

Таблица 8. Характеристики зависимости « pCa -фракция подвижных филаментов» в разных отделах сердца в норме и при интоксикации свинцом (эксп. серия 2).

	Фракция, %		pCa_{50}		h	
	К	Pb	К	Pb	К	Pb
A	92±3	79±2*	7,03±0,11	7,06±0,09	1,2±0,4	1,0±0,3
RV	87±3	73±2*	6,77±0,21	6,74±0,08	1,3±0,3	1,6±0,3
LV	87±2	77±2*	6,96±0,12	6,71±0,22	1,2±0,4	1,3±0,2

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

Вследствие свинцовой интоксикации возрастает содержание β -ТЦМ в миокарде правого («К» = 20 ± 6 %, «Pb» = 62 ± 7 % β -ТЦМ) и левого («К» = 13 ± 6 % , «Pb» = 36 ± 8 % β -ТЦМ) желудочков, а в предсердиях изменения отсутствуют (рис.4).



Рис.4. Репрезентативный пример электрофоретического разделения в полиакриламидном геле тяжелых цепей миозина предсердий (1 – «К», 2 – «Pb»), правого (3 – «К», 4 – «Pb») и левого (5 – «К», 6 – «Pb») желудочков.

Значимых различий в уровне фосфорилирования легкой регуляторной цепи миозина между контрольной группой и группой с интоксикацией свинцом найдено не было.

Сравнение характеристик актин-миозинового взаимодействия при интоксикации разными дозами свинца

Было сопоставлено влияние разных концентраций свинца на максимальную скорость актин-миозинового взаимодействия и фракцию подвижных филаментов. При воздействии дозами свинца 6,01 и 12,5 мг/кг массы тела в предсердиях скорость по сравнению с контролем снижалась на 27 % и 32 % соответственно, в правом желудочке – на 23 % и 32 %, в левом – 19 % и 26 %. Фракция подвижных филаментов при воздействии этих же доз свинца снижалась на 14 % и 18 % в предсердиях, на 17 % и 21 % в правом и на 12 % и 18 % в левом желудочке, соответственно (рис.5).

При воздействии дозами свинца 6,01 и 12,5 мг/кг массы тела в предсердиях скорость по сравнению с контролем снижалась на 27 % и 32 % соответственно, в правом желудочке – на 23 % и 32 %, в левом – 19 % и 26 %. Фракция подвижных филаментов при воздействии этих же концентраций свинца снижалась на 14 % и 18 % в предсердиях, на 17 % и 21 % в правом и на 12 % и 18 % в левом желудочке, соответственно (рис.5).

При интоксикации большей дозой свинца наблюдаются более выраженные изменения, однако, уменьшение или увеличение дозы свинца в 2 раза не приводит к пропорциональному изменению в максимальной скорости или фракции подвижных филаментов.

Под влиянием хронической интоксикации происходит повышение экспрессии β -ТЦМ на 30 % («Pb (12,5)») и 28 % («Pb (6,01)») в правом желудочке и на 37 % («Pb (12,5)») и 23 % («Pb (6,01)») в левом желудочке. В предсердиях изменений не было (табл.9).

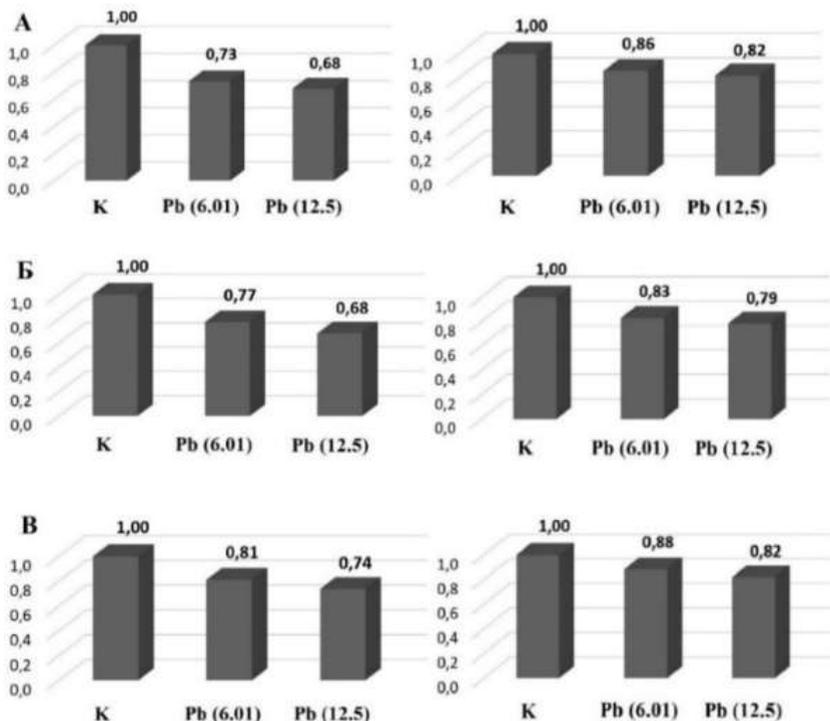


Рис. 5. Максимальная скорость движения реконструированного тонкого филамента по миозину разных отделов сердца (слева) и фракции подвижных филаментов (справа) при интоксикации разными дозами свинца.

* А – предсердия, Б – правый желудочек, В – левый желудочек. «К» – контрольная группа, «Pb (6,01)» – группа с интоксикацией при дозе свинца 6,01 мг/кг массы тела, «Pb (12,5)» – группа с интоксикацией при дозе свинца 12,5 мг/кг.

Таблица 9. Содержание α - и β -тяжелых цепей миозина в разных отделах сердца в первой (K1) – контрольная группа, «Pb (12,5)» – группа с хронической интоксикацией при дозе свинца 12,5 мг на 1 кг массы тела и второй (K2) – контрольная группа, «Pb (6,01)» – группа с хронической интоксикацией при дозе свинца инъекции 6,01 мг на 1 кг массы тела) экспериментальной серии.

		K1	Pb (12,5)	K2	Pb (6,01)
A	α	100%	100%	100%	100%
	β	0%	0%	0%	0%
RV	α	85±5%	55±8%*	80±6%	62±7%*
	β	15±5%	45±8%*	20±6%	38±7%*
LV	α	86±4%	49±3%*	87±6%	64±6%*
	β	14±4%	51±3%*	13±6%	36±6%*

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

Таким образом, под влиянием хронической интоксикации разными концентрациями свинца происходит снижение скорости актин-

миозинового взаимодействия и фракции подвижных филаментов во всех отделах сердца, а также сдвиг соотношения тяжелых цепей миозина в сторону β -цепей в желудочках. Этот сдвиг является механизмом энергосбережения, способствующим адаптации сердечной мышцы к ухудшению условий ее функционирования (Hoyer K., Krenz M., Robbins J., 2007; Reiser et al., 2001). В предсердиях, где не было выявлено изменений в экспрессии изоформ ТЦМ при интоксикации свинцом, может иметь место карбонилирование миозина, которое снижает скорость актин-миозинового взаимодействия (Korylova et al., 2018).

Изменения характеристик актин-миозинового взаимодействия происходят во всех отделах сердца, однако, несмотря на однонаправленный сдвиг по всем показателям, количественные сдвиги зависят от отдела сердца, и наиболее выраженные изменения происходят в предсердиях и правом желудочке. Изменения механической функции миокарда на молекулярном уровне зависят от концентрации свинца, но снижение его концентрации не приводит к пропорциональному изменению характеристик актин-миозинового взаимодействия.

Изменения сократительной функции миокарда на молекулярном уровне и результаты, полученные на многоклеточных препаратах правого желудочка тех же самых крыс (Protsenko et al., 2018, 2019) – рост площади поперечного сечения трабекул и папиллярных мышц, уменьшение пассивного (диастолического) механического напряжения, падение максимальной скорости развития силы изометрических сокращений и скорости изотонического укорочения папиллярных мышц – могут быть следствием развития гипертрофии миокарда, вызванной перегрузкой давлением (Bogaard et al., 2009; Gupta M.P., 2007; Protsenko et al., 2018). Предположение о возможной гипертрофии миокарда под влиянием свинцовой интоксикации косвенно подтверждает увеличение относительной массы сердца этих крыс в расчёте на 100 г массы тела и амплитуды комплекса QRS на электрокардиограмме (Protsenko et al., 2018), а также повышение давления и увеличение толщины кардиомиоцитов желудочков крыс (Klinova et al., 2020). Таким образом, при профессиональной и экологически обусловленной свинцовой нагрузке на организм возникает повышенный риск сердечно-сосудистой патологии, который может быть связан, в том числе с нарушениями сократительной активности сердечной мышцы на молекулярном уровне.

3.3. Воздействие хронической интоксикации солями кадмия на актин-миозиновое взаимодействие в разных отделах сердца

Кадмиевая интоксикация приводила к снижению массы сердца и мозга, увеличению массы печени, селезенки и почек, снижению содержания альбумина, амилазы, билирубина и липопротеинов высокой плотности и увеличению церулоплазмينا в сыворотке крови, увеличению количества ретикулоцитов и снижению количества эозинофилов (Klinova et al., 2020).

Хроническое влияние кадмия снижало максимальную скорость движения реконструированных филаментов по миозину предсердий на 20 %, в правом желудочке повышало на 25 %, а в левом желудочке не приводило к статистически значимым изменениям (табл.10).

Значимых изменений кальциевой чувствительности и коэффициента Хилла не было найдено во всех отделах. Отсутствие значимых отличий связано с большими разбросами в значениях коэффициента Хилла, что может говорить о значимом влиянии индивидуальных особенностей на кооперативность в миокарде.

Таблица 10. Характеристики зависимости « pCa -скорость» в разных отделах сердца в норме («К») и при интоксикации кадмием («Cd»).

	V_{max} , мкм/с		pCa_{50}		h	
	К	Cd	К	Cd	К	Cd
A	5,0±0,2	4,0±0,3*	6,77±0,08	6,75±0,09	1,7±0,3	1,3±0,2
RV	3,4±0,1	4,3±0,3*	6,60±0,11	6,65±0,16	1,7±0,3	1,7±0,2
LV	3,6±0,2	3,7±0,2	6,51±0,12	6,63±0,13	1,2±0,2	0,9±0,3

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

Фракция подвижных филаментов под влиянием интоксикации кадмием снижалась по сравнению с контрольной группой, однако степень выраженности эффекта зависела от отдела сердца (табл.11): в предсердиях на 16 %, в правом желудочке на 8 %, в левом желудочке снижение на 2 % не было статистически значимым. Кальциевая чувствительность и коэффициент кооперативности Хилла кривой « pCa -фракция» не отличались в группах «К» и «Cd».

Таблица 11. Характеристики зависимости « pCa -фракция подвижных филаментов» в разных отделах сердца в норме («К») и при интоксикации кадмием («Cd»).

	Фракция, %		pCa_{50}		h	
	К	Cd	К	Cd	К	Cd
A	92±3	76±2*	7,03±0,11	7,13±0,08	1,2±0,4	1,0±0,5
RV	87±3	79±2*	6,77±0,21	6,80±0,07	1,3±0,3	1,5±0,2
LV	87±2	85±2	6,96±0,12	6,84±0,04	1,2±0,4	1,4±0,2

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

В результате электрофоретического разделения ТЦМ был выявлен сдвиг в соотношении α - и β -ТЦМ правого желудочка в сторону более быстрых α -цепей, в левом желудочке изменения не были статистически значимыми, а в предсердиях изменения отсутствовали (рис.6, табл.12).

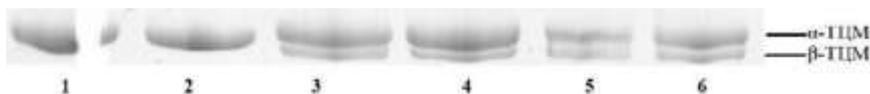


Рис. 6. Репрезентативный пример электрофоретического разделения в полиакриламидном геле тяжелых цепей миозина предсердий (1 – «К», 2 – «Cd»), правого (3 – «К», 4 – «Cd») и левого (5 – «К», 6 – «Cd») желудочков.

Таблица 12. Содержание α - и β -тяжелых цепей миозина в разных отделах сердца в контрольной («К») группе и группе с интоксикацией кадмием («Cd»).

	A		RV		LV	
	α	β	α	β	α	β
К	100%	0%	80±6%	20±6%	87±6%	81±7%
Cd	100%	0%	91±5%*	9±5%*	13±6%	19±7%

* - статистически значимые отличия при сравнении с контрольной группой.

Таким образом, изменения характеристик актин-миозинового взаимодействия при хронической интоксикации кадмием зависят от отдела сердца. В правом желудочке повышается максимальная скорость скольжения реконструированных тонких филаментов по миозину и содержание α -ТЦМ с более высокой АТФазной активностью, что может быть связано с известным воздействием кадмия на функцию щитовидной железы, в результате чего повышается продукция тиреоидных гормонов, которые угнетают экспрессию β -ТЦМ в миокарде (Danzi et al., 2008). Наши данные хорошо объясняют многие результаты, полученные на многоклеточных препаратах тех же самых крыс (Katsnelson et al., 2020; Protsenko et al., 2020), где происходило увеличение скорости нарастания напряжения и укорочения изолированных препаратов правого желудочка, уменьшение площади их поперечного сечения, повышение жесткости миокарда и снижение амплитуды первого сокращения после паузы.

В предсердиях максимальная скорость снижается под воздействием кадмия, что связано с отсутствием влияния тиреоидных гормонов на α -ТЦМ и снижением фракции подвижных филаментов. Вероятно, в предсердиях происходит карбонилирование миозина, которое приводит к снижению максимальной скорости скольжения тонких филаментов по миозину (Korylova et al., 2018).

Учитывая прямое и опосредованное влияние кадмия и потенциальную возможность левого желудочка адаптироваться к интоксикации, мы можем предположить, что произошла своего рода взаимная компенсация

этих факторов, и влияние тиреоидных гормонов не было столь выраженным, как это видно на примере правого желудочка, поэтому значимых изменений не происходило.

Известно, что разные отделы сердца имеют свои особенности в структуре и функции (Nollet et al., 2020; Shchepkin et al., 2017), поэтому они могут по-разному адаптироваться к патологиям.

3.4. Воздействие комбинированной хронической интоксикации солями свинца и кадмия на актин-миозиновое взаимодействие и пути коррекции

При комбинированной свинцово-кадмиевой интоксикации максимальная скорость движения реконструированных тонких филаментов снижалась в левом желудочке на 10 %, в предсердиях на 27 %, а в правом желудочке повышалась на 12 %. Скорость актин-миозинового взаимодействия в левом желудочке в группе «Pb+Cd+БПК» была выше, чем в группе «Pb+Cd» и не имела значимых отличий от контроля. В предсердиях группы «Pb+Cd+БПК» скорость статистически незначимо повышалась относительно группы «Pb+Cd» и была ниже контрольных значений. В правом желудочке в группе «Pb+Cd+БПК» скорость снижалась по сравнению с группой «Pb+Cd», но не отличалась от группы «К». Коэффициент кооперативности Хилла и кальциевая чувствительность связи «pCa-скорость» не имели статистически значимых отличий для всех групп (табл. 13).

Таблица 13. Характеристики зависимости «pCa-скорость» в разных отделах сердца в норме («К»), при свинцово-кадмиевой интоксикации («Pb+Cd») и при свинцово-кадмиевой интоксикации на фоне приема биопротекторного комплекса («Pb+Cd+БПК»).

		К	Pb+Cd	Pb+Cd+БПК
A	V _{max}	5,0±0,2	3,6±0,5*	4,0±0,6*
	pCa ₅₀	6,77±0,08	6,78±0,06	6,76±0,08
	h	1,7±0,3	2,1±0,6	1,4±0,4
RV	V _{max}	3,4±0,1	3,8±0,3*	3,1±0,4 [#]
	pCa ₅₀	6,60±0,11	6,58±0,08	6,69±0,09
	h	1,7±0,3	1,5±0,2	1,3±0,3
LV	V _{max}	3,6±0,2	3,2±0,2*	3,5±0,1 [#]
	pCa ₅₀	6,51±0,12	6,53±0,12	6,60±0,11
	h	1,2±0,2	1,1±0,1	0,8±0,1

* - значимые отличия от группы «К», [#] - значимые отличия от группы «Pb+Cd».

Фракция подвижных филаментов была ниже в группе «Pb+Cd» во всех отделах сердца. При воздействии биопротекторного комплекса в правом желудочке фракция отличалась от группы «Pb+Cd» и не имела отличий от контрольной группы. В левом желудочке значения фракции

подвижных филаментов группы «Pb+Cd» не отличались от группы «Pb+Cd+БПК» и были ниже контрольных значений. В предсердиях фракция стремилась к контрольным значениям при воздействии биопротекторного комплекса, но полного восстановления не наблюдалось. Характеристики связи «pCa-фракция», такие как коэффициент Хилла (h) и кальциевая чувствительность (pCa₅₀) не имели статистически значимых отличий для всех исследуемых групп.

Таблица 14. Характеристики зависимости «pCa-фракция подвижных филаментов» в разных отделах сердца в норме («К»), при свинцово-кадмиевой интоксикации («Pb+Cd») и при свинцово-кадмиевой интоксикации на фоне приема биопротекторного комплекса («Pb+Cd+БПК»).

		К	Pb+Cd	Pb+Cd+БПК
A	Фракция, %	92±3	74±5*	86±2*#
	pCa ₅₀	7,03±0,11	7,07±0,05	7,03±0,18
	h	1,2±0,4	1,1±0,2	1,0±0,3
RV	Фракция, %	87±3	81±2*	89±6#
	pCa ₅₀	6,77±0,21	6,79±0,08	6,79±0,03
	h	1,3±0,3	1,4±0,5	1,8±0,8
LV	Фракция, %	87±2	79±3*	81±2*
	pCa ₅₀	6,96±0,12	6,93±0,06	6,98±0,11
	h	1,2±0,4	1,8±0,7	1,5±0,2

* - значимые отличия от группы «К», # - значимые отличия от группы «Pb+Cd».

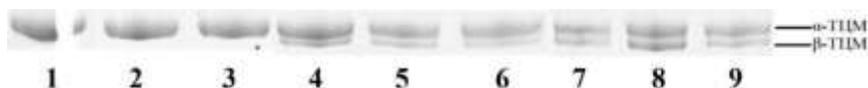


Рис. 7. Репрезентативный пример электрофоретического разделения в полиакриламидном геле тяжелых цепей миозина предсердий (1 – «К», 2 – «Pb+Cd», 3 – «Pb+Cd+БПК»), правого (4 – «К», 5 – «Pb+Cd», 6 – «Pb+Cd+БПК») и левого (7 – «К», 8 – «Pb+Cd», 9 – «Pb+Cd+БПК») желудочков.

Таблица 15. Содержание α - и β -тяжелых цепей миозина в разных отделах сердца в контрольной группе («К»), при свинцово-кадмиевой интоксикации («Pb+Cd») и при свинцово-кадмиевой интоксикации на фоне приема биопротекторного комплекса («Pb+Cd+БПК»).

		К	Pb+Cd	Pb+Cd+БПК
A	α	100%	100%	100%
	β	0%	0%	0%
RV	α	80±6%	90±3%*	78±5%#
	β	20±6%	10±3%*	22±5%#
LV	α	87±6%	61±9%*	79±7%#
	β	13±6%	39±9%*	21±7%#

Значимые отличия: * - от группы «К», # - от группы «Pb+Cd».

Комбинированная интоксикация свинцом и кадмием повышала содержание α -ТЦМ в правом желудочке, снижала в левом желудочке и не влияла на экспрессию ТЦМ в предсердиях. При комбинированной интоксикации на фоне приема биопротекторного комплекса соотношение α - и β -ТЦМ не имело статистически значимых отличий во всех отделах между группами «К» и «Pb+Cd+БПК» (рис.7, табл.15).

В целом следует отметить, что при оценке кардиотоксического действия комбинации свинца и кадмия как на молекулярном уровне, так и на уровне многоклеточных препаратов наблюдался весьма сложный паттерн сократительного ответа миокарда – часть показателей изменялась в направлении, характерном для воздействия свинца, часть – для кадмия, а иногда комбинация металлов нивелировала или, наоборот, усиливала изолированное влияние друг друга (Katsnelson et al., 2020; Protsenko et al., 2020),

Применение биопротекторного комплекса при хронической комбинированной свинцово-кадмиевой интоксикации показало, что механическая функция сердца на молекулярном уровне, угнетенная под влиянием комбинированного воздействия свинца и кадмия, может полностью или частично восстанавливаться. Биопротекторный комплекс эффективно препятствует негативному влиянию на миокард интоксикации солями свинца и кадмия, что согласуется с результатами на многоклеточном и системном уровнях (Katsnelson et al., 2020; Protsenko et al., 2020; Патент №2712954).

ВЫВОДЫ

Полученные результаты исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Особенности актин-миозинового взаимодействия в норме зависят от отдела сердца – максимальная скорость скольжения реконструированных тонких филаментов по миозину предсердий выше, чем по миозину желудочков в 1,5 раза, а скорость в левом желудочке превышает таковую в правом. При этом скорость взаимодействия миозина с нативными тонкими филаментами того же отдела для предсердий и желудочков не имеет отличий, что объясняется более низкой скоростью нативного тонкого филамента предсердий по сравнению с тонким филаментом желудочков.

2. Хроническая свинцовая интоксикация снижает максимальную скорость скольжения реконструированных тонких филаментов по миозину всех отделов сердца и фракцию подвижных филаментов. Приводит к сдвигу изоформного состава тяжелых цепей миозина желудочков в сторону более медленных β -цепей.

3. Влияние кадмиевой интоксикации на актин-миозиновое взаимодействие зависит от отдела сердца: в правом желудочке максимальная скорость повышается при снижении скорости в предсердиях и отсутствии изменений в левом желудочке. Фракция подвижных филаментов снижается во всех отделах. В правом желудочке происходит сдвиг в соотношении α - и β -ТЦМ в сторону более быстрых α -цепей.

4. При комбинированной интоксикации солями свинца и кадмия изменения характеристик актин-миозинового взаимодействия зависят от отдела сердца: в правом желудочке максимальная скорость повышается, в левом желудочке и предсердиях – снижается. Фракция подвижных филаментов снижается во всех отделах сердца. В правом желудочке содержание α -ТЦМ повышается, а в левом желудочке снижается.

5. Влияние хронической комбинированной свинцово-кадмиевой интоксикации на актин-миозиновое взаимодействие нивелируется при поступлении в организм биопротекторного комплекса – максимальная скорость полностью восстанавливается в желудочках и частично в предсердиях, фракция подвижных филаментов восстанавливается полностью в правом желудочке и есть тенденция к восстановлению в предсердиях. Соотношение α - и β -ТЦМ в желудочках восстанавливалось до уровня контрольных значений.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах

1. Protsenko Y.L., Katsnelson B.A., Klinova S.V., Lookin O.N., Balakin A.A., Nikitina L.V., **Gerzen O.P.**, Minigalieva I.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Katsnelson L.B. Effects of subchronic lead intoxication of rats on the myocardium contractility. *Food and chemical toxicology* – 2018, 378-389 (WoS – Q1 (IF=4.679), SCOPUS – Q1).
2. Кацнельсон Б.А., Проценко Ю.Л., Клинова С.В., Лукин О.Н., Балакин А.А., Никитина Л.В., Кацнельсон Л.Б., **Герцен О.П.**, Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Сутункова М.П. Влияние субхронической свинцовой интоксикации на сократимость миокарда крысы. *Токсикологический вестник* – 2018, 22-31 (ВАК).
3. Protsenko Y.L., Katsnelson B.A., Klinova S.V., Lookin O.N., Balakin A.A., Nikitina L.V., **Gerzen O.P.**, Nabiev S.R., Minigalieva I.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Katsnelson L.B. Further analysis of rat myocardium contractility changes associated with a subchronic lead intoxication. *Food and chemical toxicology* – 2019, 233-241 (WoS – Q1 (IF=4.679), SCOPUS – Q1).
4. **Gerzen O.P.**, Simanova I. A., Nabiev S. R., Nikitina L. V., Selezneva I. S. The influence of lead ions on the mechanical function of right ventricle myocardium. *AIP Conference Proceedings*. – 2019. – 2174, 020171, 1-5 (SCOPUS).
5. Protsenko, Y.L., Klinova, S.V., **Gerzen, O.P.**, Privalova, L.I., Minigalieva, I.A., Balakin, A.A., Lookin, O.N., Lisin, R.V., Butova, K.A., Nabiev, S.R. and Katsnelson, L.B. Changes in rat myocardium contractility under subchronic intoxication with lead and cadmium salts administered alone or in combination. *Toxicology Reports* – 2020, V.7, 433-44 (SCOPUS – Q1).
6. Клинова С.В., Проценко Ю.Л., Лукин О.Н., Балакин А.А., Никитина Л.В., **Герцен О.П.**, Набиев С.Р., Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П. Изменения сократительной способности миокарда крыс, связанные с субхронической свинцовой интоксикацией. *Гигиена и санитария*. 2020. 99 (2), pp.193-199. (ВАК, SCOPUS – Q3).
7. Katsnelson B.A., Klinova S.V., **Gerzen O.P.**, Balakin A.A., Lookin O.N., Lisin R.V., Nabiev S.R., Privalova L.I., Minigalieva I.A., Panov V.G., Katsnelson L.B., Nikitina L.V., Kuznetsov D.V. and Protsenko Y.L. Force-velocity characteristics of isolated myocardium preparations from rats exposed to subchronic intoxication with lead and cadmium acting separately or in combination. *Food and Chemical Toxicology* – 2020. p.111641 (WoS – Q1 (IF=4.679), SCOPUS – Q1).
8. **Герцен О.П.**, Набиев С.Р., Никитина Л.В. Влияние хронической свинцовой интоксикации на функциональные свойства и изоформный состав миозина левого желудочка сердца крыс. *Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова* – 2021. 107(6), с.1-10 (ВАК).

Патенты

9. Привалова Л.И., Клинова С.В., Минигалиева И.А., Сутункова М.П., Валамина И.Е., Макеев О.Г., Проценко Ю.Л., Никитина Л.В., **Герцен О.П.**, Гурвич В.Б., Кацнельсон Б.А. 2020. «Способ повышения устойчивости организма к комбинированному вредному действию свинца и кадмия» (патент №2712954).

Тезисы докладов в сборниках материалов конференций

10. **Герцен О.П.**, Симанова Ю.А., Набиев С.Р., Никитина Л.В. Селезнева И.С. Влияние ионов свинца на механическую функцию миокарда. // *Физика. Технологии. Инновации*. ФТИ - 2019. [Эл.ресурс]: тезисы докладов VI Международной молодежной

научной конференции, посвященной 70-летию основания Физико-технологического института, Екатеринбург, 20-24 мая 2019.

11. Klinova S., Katsnelson B., Protsenko Y., Lookin O., Balakin A., Nikitina L., **Gerzen O.**, Nabiev S., Minigalieva I., Privalova L., Katsnelson L. Rat myocardium contractility changes associated with a subchronic lead intoxication. Toxicology Letters, 2019. 314 (S1): S277-78 Abstracts of the 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX), Helsinki, Finland, September 8–11, 2019. (WoS – Q1 (IF=3.569), SCOPUS – Q1).

12. **Герцен О.П.**, Набиев С.Р., Никитина Л.В. Влияние субхронической свинцовой интоксикации на актин-миозиновое взаимодействие в миокарде различных отделов сердца крыс. // III молодежная школа-конференция «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций»: сборник. – М.: Издательство «Наука», 2019. – с.9-10.

13. **Герцен О.П.**, Набиев С.Р., Симанова Ю.А., Селезнева И.С., Никитина Л.В. Влияние ионов свинца на механическую функцию миокарда левого желудочка на молекулярном уровне // Российский национальный конгресс кардиологов 2019: материалы конгресса. 24-26 сентября 2019, Екатеринбург. С.762.

14. **Герцен О.П.**, Клинова С.В., Симанова Ю.А., Тышова В.О. Механическая функция миокарда на молекулярном уровне в норме и под влиянием субхронической свинцовой интоксикации. Научное сопровождение деятельности учреждений Роспотребнадзора: материалы Всероссийской научно-практической конференции, Екатеринбург, 23-25 октября 2019 г. / под ред. д-ра мед. наук В.Б. Гурвича. – Екатеринбург: ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 2020. – с.43-45.

15. Клинова С.В., **Герцен О.П.**, Лисин Р.В., Бутова К.А., Чернышов И.Н., Рябова Ю.В. Экспериментальные данные к оценке сравнительной и комбинированной кардиотоксичности свинца и кадмия. Научное сопровождение деятельности учреждений Роспотребнадзора: материалы Всероссийской научно-практической конференции, Екатеринбург, 23-25 октября 2019 г. / под ред. д-ра мед. наук В.Б. Гурвича. – Екатеринбург: ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 2020. – с.72-74.

16. Привалова Л.И., Сугункова М.П., Минигалиева И.А., Макеев О.Г., Валамина И.Е., Бушуева Т.В., Клинова С.В., Соловьёва С.Н., Шур В.Я., Проценко С.Л., Никитина Л.В., **Герцен О.П.**, Рябова Ю.В., Гурвич В.Б., Кацнельсон Б.А. Теоретическое и экспериментальное обоснование биологической профилактики как способа повышения устойчивости организма к вредному действию токсических факторов. Научное сопровождение деятельности учреждений Роспотребнадзора: материалы Всероссийской научно-практической конференции, Екатеринбург, 23-25 октября 2019 г. / под ред. д-ра мед. наук В.Б. Гурвича. – Екатеринбург: ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 2020. – с.116-118.

17. Симанова Ю.А., **Герцен О.П.**, Тышова В.О., Набиев С.Р., Селезнёва И.С., Никитина Л.В. Региональные различия актин-миозинового взаимодействия в миокарде при хронической свинцовой интоксикации организма крысы. Физика. Технологии. Инновации. ФТИ-2020. [Электронный ресурс]: тезисы докладов VII Международной молодежной научной конференции, посвященной 100-летию Уральского федерального университета, Екатеринбург, 18-22 мая 2020г./отв. за вып. А.В.Ищенко. – Екатеринбург: УрФУ, 2020.

18. Тышова В.О., **Герцен О.П.**, Симанова Ю.А., Набиев С.Р., Селезнёва И.С., Никитина Л.В. Актин-миозиновое взаимодействие в миокарде правого желудочка при комбинированной хронической интоксикации организма солями свинца и кадмия. Физика. Технологии. Инновации. ФТИ-2020. [Электронный ресурс]: тезисы докладов VII Международной молодежной научной конференции, посвященной 100-летию Уральского федерального университета, Екатеринбург, 18-22 мая 2020г./отв. за вып. А.В.Ищенко. – Екатеринбург: УрФУ, 2020.

19. Симанова Ю.А., Герцен О.П., Тышова В.О., Селезнёва И.С., Никитина Л.В. Изменение сократительной функции правого желудочка при хронической интоксикации солями свинца различной концентрации. Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии: Материалы очных докладов Международной научной конференции (18–21 ноября 2020 г., Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия) / под ред. Т. В. Глухаревой, Ю. И. Нейн, Т. А. Поспеловой, В. А. Бакулева. – Екатеринбург: ИЗДАТЕЛЬСТВО АМБ, 2020. – С.579-581

20. Тышова В.О., Герцен О.П., Симанова Ю.А., Набиев С.Р., Селезнёва И.С., Никитина Л.В. Свинцово-кадмиевая интоксикация: влияние на актин-миозиновое взаимодействие в миокарде правого желудочка и пути коррекции. Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии: Материалы очных докладов Международной научной конференции (18–21 ноября 2020 г., Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия) / под ред. Т. В. Глухаревой, Ю. И. Нейн, Т. А. Поспеловой, В. А. Бакулева. – Екатеринбург: ИЗДАТЕЛЬСТВО АМБ, 2020. – С.590-592

Эл. почта автора: o.p.gerzen@gmail.com

Адрес для отзывов на автореферат: 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18, Казанский (Приволжский) федеральный университет, отдел аттестации научно-педагогических кадров, ученому секретарю Диссертационного совета КФУ.03.06 Аникиной Татьяне Андреевне, факс: +7 (843) 238-76-01 эл. почта: tania57vgl@rambler.ru