

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И ИЗОФОРМНЫЙ СОСТАВ
МИОЗИНА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА КРЫС**

© 2021 г. О. П. Герцен^{1, *}, С. Р. Набиев¹, Л. В. Никитина¹

¹Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

*E-mail: o.p.gerzen@gmail.com

Поступила в редакцию 31.01.2021 г.

После доработки 09.03.2021 г.

Принята к публикации 14.03.2021 г.

Модель хронической свинцовой интоксикации была создана на беспородных крысах с помощью внутрибрюшинных инъекций ацетата свинца 3 раза в неделю в течение 5 недель. С помощью искусственной подвижной системы было показано, что хроническая интоксикация свинцом вызывала изменения в актин-миозиновом взаимодействии *in vitro*, в частности, падение максимальной скорости скольжения нативных тонких филаментов по миозину, выделенному из миокарда левого желудочка сердца крыс. Не было найдено статистически значимых изменений кальциевой чувствительности и кооперативности кривой “*pCa*–скорость”, характеристик фракции подвижных филаментов и изометрической силы. С использованием электрофоретического разделения белков был найден сдвиг в соотношении тяжелых цепей миозина в сторону увеличения содержания β -цепей с более низкой АТФ-азной активностью.

Ключевые слова: актин-миозиновое взаимодействие, кардиотоксичность, свинец, искусственная подвижная система

DOI: 10.31857/S0869813921060030

Сердечно-сосудистые заболевания – основная причина смертности в мире [1], а влияние тяжелых металлов способствует возникновению и обострению данных патологий [2]. Воздействию тяжелых металлов, загрязняющих воздух производственных помещений и окружающую атмосферу, подвергаются значительные человеческие субпопуляции – работники промышленных предприятий и люди, проживающие в зоне их техногенного влияния [2, 3]. Свинец является наиболее распространенным ксенобиотиком в среде обитания человека. Он присутствует в воздухе, домашней пыли, почве, воде, продуктах питания и других потребительских продуктах. Накопление свинца в среде характеризуется устойчивостью, что создает условия для токсического воздействия на население через много лет после прекращения промышленной эмиссии.

Свинец накапливается в организме человека и животных, в особенности в костях, из которых период его полувыведения составляет десятилетия. Было показано, что нет безопасного уровня содержания свинца в крови, и его токсическое действие присутствует на уровнях, намного меньших, чем предполагалось ранее [2, 4–8].

В литературе имеются данные о токсическом влиянии свинца на все системы организма, включая сердечно-сосудистую [5, 9–17]. Известные опубликованные данные о воздействии свинца на механическую активность миокарда малочислен-

ны, не охватывают все ее аспекты и отчасти противоречивы. Исследования кардиотоксического действия свинца на уровне изолированных белков не проводились, несмотря на то, что есть предположения о влиянии тяжелых металлов непосредственно на белки, принимающие участие в сократительном акте.

В миокарде желудочков существуют три изоформы миозина – V1, V2 и V3 [18]. Известно, что аминокислотная последовательность изоформ V1 и V3 сердечного миозина млекопитающих идентична на $\geq 93\%$ [19]. Изоформы V1 ($\alpha\alpha$) и V3 ($\beta\beta$) – это гомодимеры, включающие две α - или β -ТЦМ соответственно, V2 ($\alpha\beta$) – гетеродимер, включающий одну α - и одну β -тяжелую цепи [20].

В желудочках мелких млекопитающих, например, мышей и крыс α -ТЦМ является преобладающей [21–23]. Однако в сердце может происходить изменение в экспрессии генов изоформ тяжелых цепей миозина в ответ на тиреоидные гормоны щитовидной железы, гемодинамическую нагрузку или различные патологические раздражители, включая застойную сердечную недостаточность, при этом в миокарде грызунов это происходит быстрее и в большей степени, нежели у человека [22].

Известно, что механические характеристики актомиозинового комплекса зависят от изоформ сердечного миозина [20]. С использованием метода искусственной подвижной системы было выявлено, что изоформа V1 передвигает актин в 2–3 раза быстрее, чем изоформа V3 [23–25], так как V1 имеет более высокую скорость циклирования поперечных мостиков [23]. Изометрическая сила, развиваемая головками изомиозинов V1 и V3 зависит от вида животного: у более крупных животных (кроликов и свиней) сила, развиваемая головкой миозина V3 выше, чем у V1, а у небольших млекопитающих (крысы и мыши) силы не отличаются [23, 24, 26].

Для исследования кардиотоксического влияния солей свинца мы изучали функциональные характеристики и изоформный состав миозина, выделенного из левого желудочка крыс. Методом искусственной подвижной системы определяли скорость движения тонких филаментов по миозину, с помощью электрофоретического разделения белков исследовали соотношение тяжелых цепей миозина в миокарде контрольной группы и группы крыс с хронической свинцовой интоксикацией.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Модель интоксикации

Эксперимент проводили на аутбредных белых крысах-самцах в возрасте 4 месяца и массой тела 300 г на начало эксперимента. Все крысы содержались в стандартных условиях, дышали нефiltroванным воздухом и были обеспечены стандартной сбалансированной пищей. Хроническую интоксикацию свинцом (группа “Pb”) моделировали путем внутрибрюшинного введения раствора ацетата свинца 3 раза в неделю в течение 5 нед. (до 15 инъекций). Разовая доза составила 12.5 мг свинца на 1 кг массы тела. Контрольная группа крыс (группа “С”) получала тот же объем стерильной дистиллированной воды по аналогичной схеме [27, 28].

Эксперименты планировали и проводили в соответствии с принципами Базельской декларации и были одобрены Этическим комитетом Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук.

Получение белков

Миозин выделяли из левого желудочка сердца крыс по стандартной методике [29]. Актин был получен из скелетных мышц кролика в соответствии со стандартной процедурой [30], и после полимеризации путем добавления 2 мМ АТФ, 4 мМ MgCl₂ и 100 мМ KCl был помечен TRITC-фаллоидином (Sigma-Aldrich Co. ООО). Сердечный тропонин выделяли из сердца свиньи, как описано ранее [31]. Рекомбинант-

ный человеческий тропомиозин получали по методике [32]. Использование сократительных и регуляторных белков, выделенных у разных видов, в искусственной подвижной системе является обычной практикой [26, 33]. Регулируемые тонкие филаменты были сконструированы из актина, тропонина и тропомиозина путем смешивания этих белков в следующих концентрациях: 400 нМ F-актина, меченного родамином-фаллоидином, 100 нМ тропонина и 100 нМ тропомиозина при температуре 4°C в буфере, содержащем (в мМ) 25 KCl, 25 имидазола, 4 MgCl₂, 1 EGTA и 10 DTT (pH 7.5). Нативные тонкие филаменты были экстрагированы из левого желудочка крыс в соответствии с протоколом Spiess [34]. Белковый состав реконструированных и нативных тонких филаментов проверяли электрофорезом в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия [35].

Искусственная подвижная система

Метод искусственной подвижной системы (*in vitro* motility assay) был использован для определения скорости движения нативных и реконструированных тонких филаментов, состоящих из актина, тропонина и тропомиозина, по миозинам, экстрагированным из левого желудочка крыс групп “С” и “Рb” при различных концентрациях кальция в растворе. Ионы кальция взаимодействуют с регулируемым тонким филаментом в растворе в проточной камере. Кальций связывается с тропонином С, приводя к конформационным изменениям в тонком филаменте, вследствие чего открываются сайты связывания миозина на глобулах актина. Мы можем судить о механическом взаимодействии актина и миозина по характеристикам того, как филаменты движутся и останавливаются. Изменение этих характеристик в зависимости от концентрации кальция в растворе с регулируемыми тонкими филаментами позволяет изучить механизмы кальциевой регуляции актин-миозинового взаимодействия [33]. Эксперименты в искусственной подвижной системе проводили, как описано ранее [26]. Эксперименты проводили при 30°C. Флуоресцентно меченные актиновые филаменты в экспериментальной проточной камере визуализировали с помощью инвертированного эпифлуоресцентного микроскопа Axiovert 200 (Carl Zeiss), снабженного 100x/1.45 масляным альфа-объективом Plan-Fluar. Движение тонких филаментов по поверхности, покрытой миозином, регистрировали камерой EMCCD iXon-897BV (Andor Technology), а их скорость анализировали с помощью программного обеспечения GMim-Pro [36]. Зависимость скорости скольжения тонких филаментов от концентрации кальция анализировали с помощью уравнения Хилла:

$$V = V_{\max} \left(1 + 10^{h(pCa - pCa_{50})} \right)^{-1}, \quad (1)$$

где V и V_{\max} – скорость и максимальная скорость при насыщающей концентрации кальция, соответственно, pCa_{50} (показатель чувствительности к кальцию) – значение pCa , при котором достигается половина максимальной скорости, а h – коэффициент кооперативности Хилла.

Определение относительной изометрической силы, развиваемой миозином в искусственной подвижной системе

Для определения изометрической силы в искусственной подвижной системе мы использовали “протокол смеси”, при котором исследуемый миозин смешивали с нециклирующим NEM-модифицированным миозином [37]. Нециклирующий NEM-модифицированный миозин, присоединяясь к актину, препятствует движению тонких филаментов и служит в качестве нагрузки. Доля NEM-модифициро-

Таблица 1. Характеристики взаимосвязи “ pCa –скорость” в левом желудочке крыс групп “С” и “Рb”*

	V_{max} , мкм/с	pCa_{50}	h
С	4.07 ± 0.13	6.63 ± 0.02	2.3 ± 0.3
Рb	$3.27 \pm 0.12^*$	6.58 ± 0.03	2.2 ± 0.3

* V_{max} – максимальная скорость движения нативных тонких филаментов по миозину левого желудочка, pCa_{50} – кальциевая чувствительность, h – коэффициент кооперативности Хилла. Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение. Верхним индексом * обозначены значения, отличные от контрольных ($p < 0.05$ по U-критерию Манна–Уитни).

ванного миозина, необходимая для остановки движения филаментов, является мерой относительной силы, которую может развить исследуемый миозин.

Электрофорез

Изоформы тяжелых цепей миозина миокарда левого желудочка крыс определяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия [38]. После завершения электрофореза гель окрашивали кумасси бриллиантовым синим R250, далее отмывали гель от краски и сканировали денситометром (BioRad, США) для определения процентного соотношения α -и β -тяжелых цепей миозина.

Статистический анализ

Статистическая значимость межгрупповых различий между средними значениями всех полученных показателей оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни, при этом различия считали статистически значимыми на уровне $p < 0.05$. Все значения выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под влиянием хронической свинцовой интоксикации максимальная скорость скольжения нативных тонких филаментов по миозину левого желудочка падала по сравнению с контрольной группой с 4.07 ± 0.13 до 3.27 ± 0.12 мкм/с (табл. 1), то есть на 20% (рис. 1). Кальциевая чувствительность и коэффициент кооперативности Хилла не имели значимых отличий между группами “С” и “Рb”.

Характеристики зависимости фракции подвижных филаментов от концентрации кальция (максимальное значение фракции, pCa_{50} и коэффициент кооперативности Хилла) значимо не отличались (рис. 1).

Интоксикация свинцом снижает максимальную скорость скольжения нативных тонких филаментов по миозину, но не влияет на кальциевую чувствительность и коэффициент кооперативности Хилла. Кривая зависимости фракции подвижных филаментов от концентрации кальция не имеет значимых отличий по всем показателям, но имеется явная тенденция к снижению фракции при воздействии свинца.

Под влиянием хронической интоксикации свинцом происходил значительный сдвиг в соотношении тяжелых цепей миозина (ТЦМ) в сторону увеличения содержания β -цепей с более низкой АТФ-азной активностью ($55 \pm 10\%$ α -ТЦМ и $45 \pm 10\%$ β -ТЦМ в группе “Рb” и $86 \pm 4\%$ α -ТЦМ и $14 \pm 4\%$ β -ТЦМ в группе “С”).

Для остановки движения реконструированных тонких филаментов по миозину левого желудочка в группах “С” и “Рb” необходимы были $34 \pm 4\%$ и $42 \pm 6\%$ NEM-моди-

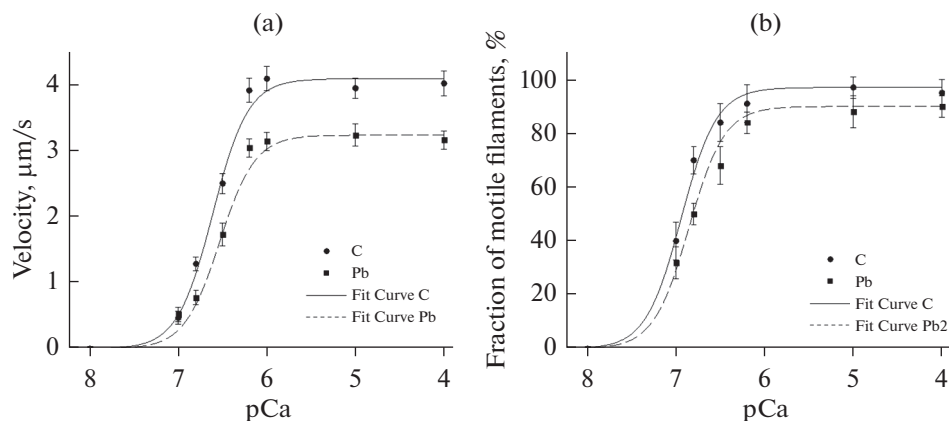


Рис. 1. Зависимость скорости движения нативных тонких филаментов (а) и фракции подвижных филаментов (б) по миозину левого желудочка сердца крыс групп “С” и “Pb” от концентрации кальция в растворе.

pCa – отрицательный десятичный логарифм концентрации кальция. Линия регрессии (Fit Curve) соответствует уравнению Хилла. Скорость представлена как среднее значение \pm стандартное отклонение для четырех экспериментов.

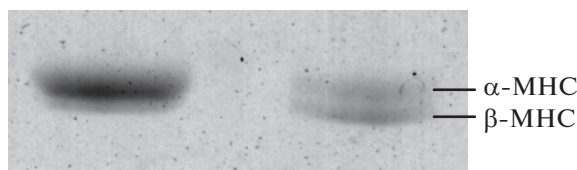


Рис. 2. Репрезентативный пример электрофореграммы, показывающий соотношения α - и β -тяжелых цепей миозина (ТЦМ) в левом желудочке крыс групп “С” (слева) и “Pb” (справа). Группа “С” (слева) – $86 \pm 4\%$ α -ТЦМ и $14 \pm 4\%$ β -ТЦМ. Группа “Pb” (справа) – $55 \pm 10\%$ α -ТЦМ и $45 \pm 10\%$ β -ТЦМ.

фицированного миозина соответственно. Данное различие было статистически незначимым (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования влияния хронической свинцовой интоксикации на изолированные многоклеточные препараты левого желудочка показали, что величина изометрической силы папиллярных мышц не менялась при изменении параметров кальциевого цикла в кардиомиоцитах [39, 40].

Ранее нами были исследованы характеристики актин-миозинового взаимодействия и сокращения многоклеточных препаратов – трабекул и папиллярных мышц – правого желудочка при воздействии ионов свинца. Было показано, что максимальная скорость скольжения реконструированных тонких филаментов по миозину правого желудочка снижалась под влиянием интоксикации свинцом [27] и происходил сдвиг соотношения изоформ тяжелых цепей миозина в сторону более медленных β -цепей [28]. На многоклеточных препаратах правого желудочка тех же самых крыс, которые были использованы в нашем исследовании, был обнаружен рост

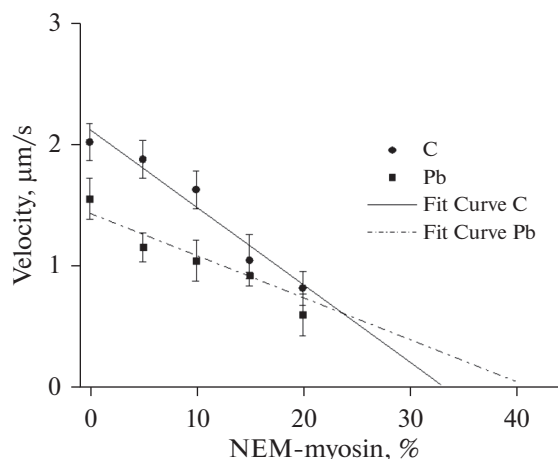


Рис. 3. Зависимость скорости скольжения реконструированных тонких филаментов по миозину левого желудочка сердца крыс групп “С” и “Рb” от концентрации NEM-модифицированного миозина. Скорость представлена как среднее значение \pm стандартное отклонение для четырех экспериментов. Различия в значениях количества необходимого NEM-модифицированного миозина для остановки движения в группах “С” ($34 \pm 4\%$) и “Рb” ($42 \pm 6\%$) были статистически незначимыми.

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 [27].

В наших экспериментах с использованием нативных тонких филаментов и миозина из левого желудочка наблюдалась сходная тенденция — максимальная скорость актин-миозинового взаимодействия под влиянием хронической интоксикации падала на 20% по сравнению с контрольной группой, что объяснялось сдвигом в соотношении α - и β -ТЦМ: происходило увеличение на 31% содержания β -цепей с более низкой АТФ-азной активностью и более низкой скоростью циклирования поперечных мостиков на актине. Такое изменение может быть адаптивным энергосберегающим молекулярным механизмом при патологиях сердца [25, 41]. Характеристики фракции подвижных филаментов значимо не отличались, однако имелась тенденция к снижению этого показателя при интоксикации свинцом.

Различия для групп “С” и “Рb” в количестве NEM-модифицированного миозина, необходимого для полной остановки движения тонких реконструированных филаментов были статистически незначимыми, что можно объяснить отсутствием различий в развиваемой силе для изоформ миозина у небольших млекопитающих (крысы и мыши) [23, 24, 26], хотя имелась небольшая тенденция к повышению изометрической силы у миозина левого желудочка группы “Рb”, возможно этот эффект стоит исследовать более глубоко.

Таким образом, при исследовании функциональных характеристик и изоформного состава миозина левого желудочка крыс при хронической интоксикации свинцом мы выявили снижение скорости актин-миозинового взаимодействия и сдвиг в соотношении тяжелых цепей миозина в сторону β -ТЦМ. Эти результаты вместе с вышеперечисленными изменениями в сократительных характеристиках многоклеточных препаратов правого желудочка тех же самых крыс [27, 28] могут быть следствием развития гипертрофии миокарда, вызванной перегрузкой давле-

нием [28, 42, 43]. Предположение о возможной гипертрофии миокарда под влиянием свинцовой интоксикации косвенно подтверждает увеличение относительной массы сердца этих крыс в расчете на 100 г массы тела и амплитуды комплекса QRS на электрокардиограмме [28], а также повышение давления и увеличение толщины кардиомиоцитов левого желудочка крыс при интоксикации более низкими дозами свинца [44]. 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.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках гос. темы ИИФ УрО РАН АААА-А19-119070190064-4 и АААА-А18-118020590135-3 на оборудовании Центра коллективного пользования ИИФ УрО РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – Н.Л.В., Герцен Г.О.П., сбор и обработка данных – Г.О.П., Н.С.Р., написание и редактирование манускрипта – Г.О.П., Н.Л.В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. GBD Compare | IHME Viz Hub. <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>. Accessed 28 Dec. 2020.
2. Landrigan PJ, Fuller R, Acosta NJR, Adeyi O, Arnold R, Basu N (Nil), Baldé AB, Bertollini R, Bose-O'Reilly S, Boufford JI, Breysse PN, Chiles T, Mahidol C, Coll-Seck AM, Cropper ML, Fobil J, Fuster V, Greenstone M, Haines A, Hanrahan D, Hunter D, Khare M, Krupnick A, Lanphear B, Lohani B, Martin K, Mathiasen KV, McTeer MA, Murray CJL, Ndahimananjara JD, Perera F, Potočnik J, Preker AS, Ramesh J, Rockström J, Salinas C, Samson LD, Sandilya K, Sly PD, Smith KR, Steiner A, Stewart RB, Suk WA, van Schayck OCP, Yadama GN, Yumkella K, Zhong M (2018) The Lancet Commission on pollution and health. *Lancet* 391: 462–512. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32345-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32345-0)
3. Kim YD, Eom SY, Yim DH, Kim IS, Won HK, Park CH, Kim GB, Yu SD, Choi BS, Park JD, Kim H (2016) Environmental Exposure to Arsenic, Lead, and Cadmium in People Living near Janghang Copper Smelter in Korea *J Korean Med Sci* 31: 489. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.4.489>
4. WHO (2019) Lead poisoning and health. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>. Accessed 9 Jan. 2020.
5. Afridi HI, Kazi TG, Kazi NG, Jamali MK, Arain MB, Sirajuddin, Baig JA, Kandhro GA, Wadhwa SK, Shah AQ (2010) Evaluation of cadmium, lead, nickel and zinc status in biological samples of smokers and nonsmokers hypertensive patients. *J Hum Hypertens* 24: 34–43. <https://doi.org/10.1038/jhh.2009.39>
6. Vainio H, Heseltine E, Partensky CWJ (1993) Meeting of the IARC working group on beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry. *Scand J Work Environ Health* 19: 360–363.
7. Мухачева СВ (2017) Многолетняя динамика концентрации тяжелых металлов в корме и организме рыжей полевки (*Myodes Glareolus*) в период снижения выбросов медеплавильного завода. *Экология* 6: 461–471. [Mukhacheva SV (2017) Long-term dynamics of the concentration of heavy metals in the forage and body of the bank vole (*Myodes Glareolus*) during the period of decreasing emissions from the copper smelter. *Ecology* 6: 461–471. (In Russ)]. <https://doi.org/10.7868/s0367059717060087>
8. Mirzaei R (2018) Assessment of Accumulation and Human Health Risk of Trace Elements in the Vicinity of Industrial Estates, Central Iran. *Arch Hyg Sci* 7: 118–125. <https://doi.org/10.29252/archhygsci7.2.118>

9. *Nawrot TS, Thijs L, Den Hond EM, Roels HA, Staessen JA* (2002) An epidemiological re-appraisal of the association between blood pressure and blood lead: A meta-analysis. *J Hum Hypertens* 16: 123–131.
<https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001300>
10. *Kopp SJ, Bárány M, Erlanger M, Perry EF, Perry HM* (1980) The influence of chronic low-level cadmium and/or lead feeding on myocardial contractility related to phosphorylation of cardiac myofibrillar proteins. *Toxicol Appl Pharmacol* 54:48–56.
[https://doi.org/10.1016/0041-008X\(80\)90007-1](https://doi.org/10.1016/0041-008X(80)90007-1)
11. *Prentice RC, Kopp SJ* (1985) Cardiotoxicity of lead at various perfusate calcium concentrations: Functional and metabolic responses of the perfused rat heart. *Toxicol Appl Pharmacol* 81: 491–501.
[https://doi.org/10.1016/0041-008X\(85\)90420-X](https://doi.org/10.1016/0041-008X(85)90420-X)
12. *Alissa EM, Ferns GA* (2011) Heavy metal poisoning and cardiovascular disease. *J Toxicol* 2011.
<https://doi.org/10.1155/2011/870125>
13. *Solenkova NV, Newman JD, Berger JS, Thurston G, Hochman JS, Lamas GA* (2014) Metal pollutants and cardiovascular disease: Mechanisms and consequences of exposure. *Am Heart J* 168: 812–822.
<https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.07.007>
14. *Lamas GA, Navas-Acien A, Mark DB, Lee KL* (2016) Heavy metals, cardiovascular disease, and the unexpected benefits of chelation therapy. *J Am Coll Cardiol* 67: 2411–2418.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.02.066>
15. *Ruiz-Hernandez A, Navas-Acien A, Pastor-Barriuso R, Crainiceanu CM, Redon J, Guallar E, Tellez-Plaza M* (2017) Declining exposures to lead and cadmium contribute to explaining the reduction of cardiovascular mortality in the US population, 1988–2004. *Int J Epidemiol* 46: 1903–1912.
<https://doi.org/10.1093/ije/dyx176>
16. *Chowdhury R, Ramond A, O’Keeffe LM, Shahzad S, Kunutsor SK, Muka T, Gregson J, Willeit P, Warnakula S, Khan H, Chowdhury S, Gobin R, Franco OH, Di Angelantonio E* (2018) Environmental toxic metal contaminants and risk of cardiovascular disease: Systematic review and meta-analysis. *BMJ* 362: 14–16.
<https://doi.org/10.1136/bmj.k3310>
17. *Sevim Ç, Doğan E, Comaklı S* (2020) Cardiovascular disease and toxic metals. *Curr Opin Toxicol* 19: 88–92.
<https://doi.org/10.1016/j.cotox.2020.01.004>
18. *Hoh JF, McGrath PA* (1978) Electrophoretic analysis of multiple forms of rat cardiac myosin: effects of hypophysectomy and thyroxine Replacement. *J Mol Cell Cardiol* 10: 1053–1060.
19. *Alpert NR, Brosseau C, Federico A, Krenz M, Robbins J, Warshaw DM* (2002) Molecular mechanics of mouse cardiac myosin isoforms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: 1446–1454.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00274.2002>
20. *Shchepkin DV, Kopylova GV, Nikitina LV* (2011) Study of reciprocal effects of cardiac myosin and tropomyosin isoforms on actin-myosin interaction with in vitro motility assay. *Biochem Biophys Res Commun* 415: 104–108.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.10.022>
21. *Galler S, Puchert E, Gohlsch B, Schmid D, Pette D* (2002) Kinetic properties of cardiac myosin heavy chain isoforms in rat. *Pflugers Arch Eur J Physiol* 445: 218–223.
<https://doi.org/10.1007/s00424-002-0934-6>
22. *Danzi S, Klein S, Klein I* (2008) Differential regulation of the myosin heavy chain genes α and β in rat atria and ventricles: Role of antisense RNA. *Thyroid* 18: 761–768.
<https://doi.org/10.1089/thy.2008.0043>
23. *Nikitina LV, Kopylova GV, Shchepkin DV, Katsnelson LB* (2008) Study of the interaction between rabbit cardiac contractile and regulatory proteins. An *in vitro* motility assay. *Biochem* 73: 178–184.
<https://doi.org/10.1007/s10541-008-2009-6>
24. *Malmqvist UP, Aronshtam A* (2004) Cardiac myosin isoforms from different species have unique enzymatic and mechanical properties. *Biochemistry* 43: 15058–15065.
25. *Hoyer K, Krenz M, Robbins J* (2007) Shifts in the myosin heavy chain isozymes in the mouse heart result in increased energy efficiency. *J Mol Cell Cardiol* 42: 214–221.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
26. *Nikitina LV, Kopylova GV, Shchepkin DV, Nabiev SR, Bershitsky SY* (2015) Investigations of Molecular Mechanisms of Actin-Myosin Interactions in Cardiac Muscle. *Biochem* 80: 1748–1763.
<https://doi.org/10.1134/S0006297915130106>
27. *Protsenko YL, Katsnelson BA, Klinova SV, Lookin ON, Balakin AA, Nikitina LV, Gerzen OP, Nabiev SR, Minigalieva IA, Privalova LI, Gurvich VB, Sutunkova MP, Katsnelson LB* (2019) Further analysis

- of rat myocardium contractility changes associated with a subchronic lead intoxication. *Food Chem Toxicol* 125: 233–241.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.054>
28. *Protsenko YL, Katsnelson BA, Klinova SV, Lookin ON, Balakin AA, Nikitina LV, Gerzen OP, Minigalieva IA, Privalova LI, Gurvich VB, Sutunkova MP, Katsnelson LB* (2018) Effects of subchronic lead intoxication of rats on the myocardium contractility. *Food Chem Toxicol* 120: 378–389.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.034>
 29. *Margossian SS, Lowey S* (1982) PReparation of Myosin and Its Subfragments from Rabbit Skeletal Muscle. *Methods. Enzymol.* 85: 55–71.
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(82\)85009-X](https://doi.org/10.1016/0076-6879(82)85009-X)
 30. *Pardee JD, Spudich JA* (1982) Purification of muscle actin. In: *Methods in cell biology Methods. Cell Biol* 24: 271–289.
 31. *Potter JD* (1982) PReparation of troponin and its subunits. *Methods Enzymol* 85: 241–263.
 32. *Matyushenko AM, Artemova NV, Shchepkin DV, Kopylova GV, Bershitsky SY, Tsaturyan AK, Sluchanko NN, Levitsky DI* (2014) Structural and functional effects of two stabilizing substitutions, D137L and G126R, in the middle part of α -tropomyosin molecule. *FEBS J* 281: 2004–2016.
<https://doi.org/10.1111/febs.12756>
 33. *Gordon AM, LaMadrid MA, Chen Y, Luo Z, Chase PB* (1997) Calcium regulation of skeletal muscle thin filament motility *in vitro*. *Biophys J* 72: 1295–1307.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(97\)78776-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(97)78776-9)
 34. *Spiess M, Steinmetz MO, Mandinova A, Wolpensinger B, Aebi U, Atar D* (1999) Isolation, electron microscopic imaging, and 3-D visualization of native cardiac thin myofilaments. *J Struct Biol* 126: 98–104.
<https://doi.org/10.1006/jsbi.1999.4111>
 35. *Laemmli UK* (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685.
 36. *Mashanov GI, Molloy JE* (2007) Automatic detection of single fluorophores in live cells. *Biophys J* 92: 2199–2211.
<https://doi.org/10.1529/biophysj.106.081117>
 37. *Haerberle JR, Hemric ME, Chacko S, Pollack J, Reggiani C* (1995) Are actin filaments moving under unloaded conditions in the *in vitro* motility assay? *Biophys J* 68: 306–310.
 38. *Reiser PJ, Kline WO* (1998) Electrophoretic separation and quantitation of cardiac myosin heavy chain isoforms in eight mammalian species. *Am J Physiol Circ Physiol* 274: H1048–H1053.
[https://doi.org/10.1016/S0165-5876\(00\)00363-3](https://doi.org/10.1016/S0165-5876(00)00363-3)
 39. *Silva MA, de Oliveira TF, Almenara CCP, Broseghini-Filho GB, Vassallo DV, Padilha AS, Silveira EA* (2015) Exposure to a Low Lead Concentration Impairs Contractile Machinery in Rat Cardiac Muscle. *Biol Trace Elem Res* 167: 280–287.
<https://doi.org/10.1007/s12011-015-0300-0>
 40. *Fioresi M, Simões MR, Furieri LB, Broseghini-Filho GB, Vescovi MVA, Stefanon I, Vassallo DV* (2014) Chronic lead exposure increases blood pressure and myocardial contractility in rats. *PLoS One* 9.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096900>
 41. *Reiser PJ, Portman MA, Ning XH, Moravec CS* (2001) Human cardiac myosin heavy chain isoforms in fetal and failing adult atria and ventricles. *Am J Physiol – Heart Circ Physiol* 280: 1814–1820.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.280.4.h1814>
 42. *Bogaard HJ, Abe K, Noordegraaf AV, Voelkel NF* (2009) The right ventricle under pressure. *Chest* 135: 794–804.
<https://doi.org/10.1378/chest.08-0492>
 43. *Gupta MP* (2007) Factors controlling cardiac myosin-isoform shift during hypertrophy and heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 43: 388–403.
<https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
 44. *Klinova SV, Minigalieva IA, Privalova LI, Valamina IE, Makeyev OH, Shuman EA, Korotkov AA, Panov VG, Sutunkova MP, Ryabova JV, Bushueva TV, Shtin TN, Gurvich VB, Katsnelson BA* (2020) Further verification of some postulates of the combined toxicity theory: New animal experimental data on separate and joint adverse effects of lead and cadmium. *Food Chem Toxicol* 136: 110971.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110971>

Influence of Chronic Lead Intoxication on Functional Characteristics and Isoform Composition of Left Ventricular Myosin in Rats**O. P. Gerzen^{a, *}, S. R. Nabiev^a, and L. V. Nikitina^a**^a*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia***e-mail: o.p.gerzen@gmail.com*

The chronic lead intoxication was induced by the administration of intraperitoneal injections of lead acetate to outbred rats 3 times a week for 5 weeks. Using an *in vitro* motility assay, it was shown that lead intoxication causes changes in actin-myosin interaction *in vitro*, in particular, a decrease in the maximum sliding velocity of native thin filaments along myosin isolated from the myocardium of the left ventricle of the rat heart. No statistically significant changes were found in the calcium sensitivity and cooperativity of the “*p*Ca-velocity” curve, the characteristics of the fraction of motile filaments and isometric force. Using electrophoretic separation of proteins, a shift in the ratio of myosin heavy chains towards β -chains with slower ATPase activity was found.

Keywords: actin-myosin interaction, cardiotoxicity, lead, *in vitro* motility assay