

## КАРДИОТОНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I ЧЕЛОВЕКА

А.Р. Колпаков<sup>1,2</sup>, Р.А. Князев<sup>1</sup>, Н.В. Трифонова<sup>1</sup>, Л.М. Поляков<sup>1</sup><sup>1</sup> ФГБНУ «НИИ биохимии»

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Целью данной работы было изучение влияния основного белка липопротеидов высокой плотности плазмы крови человека — аполипопротеида А-I (апоА-I) на работоспособность изолированного сердца крысы, а также его влияния на эффекты классических кардиотоников (адреналина, дигоксина) и неселективного  $\beta$ -адреноблокатора — пропранолола. Показано, что в режиме рециркуляции перфузионного раствора апоА-I в концентрации, близкой к физиологической (20 мкг/мл), вызывал стабильное повышение давления в левом желудочке, при этом величина коронарного потока менялась незначительно. Адреналин оказывал двуфазное действие: первоначально увеличивал частоту и силу сокращений, затем наблюдалось значительное снижение давления в левом желудочке. При одновременной перфузии адреналина и апоА-I сохранялась высокая работоспособность миокарда на протяжении 30 мин эксперимента. АпоА-I и дигоксин взаимно ослабляли до контрольных значений кардиостимулирующие эффекты друг друга. АпоА-I не устранял отрицательный хронотропный эффект пропранолола, однако существенно (более чем в 2 раза) повышал давление, создаваемое левым желудочком.

**Ключевые слова:** липопротеиды высокой плотности, аполипопротеид А-I, изолированное сердце крысы, эндогенные кардиотоники.

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема существования в организме эндогенных кардиотоников с иным, чем у адреналина, механизмом инотропного действия давно и достаточно широко обсуждается в научной литературе. К ним относят как простые, так и сложные химические соединения [1, 2]. Проведенные нами ранее исследования о влиянии липопротеидов на функциональную активность изолированного сердца крысы показали, что липопротеиды низкой и очень низкой плотности, относящиеся к классу атерогенных, не оказывают существенного угнетающего действия на функциональные характеристики миокарда, хотя и снижали частоту сокращений [3]. Высокая

стимулирующая активность (увеличение частоты и силы сокращений) была нами обнаружена у липопротеидов высокой плотности (ЛПВП). Примечательно, что эффект ЛПВП проявлялся на фоне незначительного изменения потребления кислорода [4]. В литературе имеются также убедительные данные о защитном влиянии ЛПВП при ишемии и реперфузии миокарда крыс [5, 6].

Целью настоящей работы стало изучение влияния основного белка ЛПВП — аполипопротеида А-I (апоА-I) на функциональные характеристики изолированного сердца крысы, а также его влияния на фоне классических кардиотоников (адреналина, дигоксина) и неселективного  $\beta$ -адреноблокатора — пропранолола.

**Колпаков Аркадий Ростиславович** — д-р мед. наук, проф., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов межклеточных взаимодействий НИИ биохимии; проф. ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: kolpakov2@yandex.ru

**Князев Роман Александрович** — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, e-mail: knjazev\_roman@mail.ru

**Трифопова Наталия Викторовна** — младший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, e-mail: nataliya-tverdohleb@ya.ru

**Поляков Лев Михайлович** — д-р мед. наук, проф., зам. директора по научной работе, зав. лабораторией медицинской биотехнологии, e-mail: plm@niibch.ru

© Колпаков А.Р., Князев Р.А., Трифонова Н.В., Поляков Л.М., 2015

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на изолированном по Лангендорфу [7] сердце крысы (самцы Вистар), перфузируемом раствором Кребса–Хензеля (рН 7,4), при насыщении карбогеном под постоянным давлением 100 см водного столба. В полость левого желудочка помещался латексный баллончик, соединенный с датчиком давления. Регистрировались давление в левом желудочке, частота и скорость сокращения, скорость расслабления и длительность паузы, величина коронарного потока (мл/мин). Работоспособность определялась как произведение прироста давления на частоту сокращений в минуту. Показателем эффективности работы было отношение выполненной работы (работоспособности) к величине коронарного потока.

Отличительной особенностью проводимых нами экспериментов была рециркуляция перфузионного раствора, что позволяло значительно уменьшать количество апоА-I по сравнению с незамкнутой системой. Объем перфузируемой жидкости в системе не превышал 30 мл. В экспериментах были использованы растворы адреналина в концентрации 1 мг/мл [7], дигоксина – 0,15 мкг/мл [8], пропранолола – 2,6 мкг/мл [9].

Изолированное сердце работало не менее 10 мин без рециркуляции перфузионного раствора до установления постоянных показателей амплитуды и частоты сокращений. Затем в перфузат вносили изучаемый компонент, и сердце продолжало сокращаться в режиме рециркуляции еще 30 мин. С каждым препаратом сравнения было проведено от 4 до 6 опытов. Поскольку исходные (фоновые) функциональные показатели работы изолированного сердца от отдельных животных отличались между собой, изменения в работе миокарда под влиянием изучаемых компонентов оценивались в процентах по отношению к исходным показателям.

АпоА-I выделяли из ЛПВП плазмы крови человека методом делипидирования с последующим разделением смеси белков с помощью колоночной хроматографии. Полученный белок обессоливали методом равновесного диализа и стерилизовали фильтрами «BIOFIL» 45 мкм. Концентрация апоА-I в перфузионном растворе составляла 20 мкг/мл.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В режиме рециркуляции перфузионного раствора апоА-I в концентрации, близкой к физиологической (20 мкг/мл) [9], вызывал стабильное увеличение давления внутри левого желудочка (рис. 1), существенно повышал скорость сокращения и расслабления мускулатуры (рис. 2) и при незначительном изменении частоты по сравнению с контролем увеличивал продолжительность диастолы. Величина коронарного потока не изменялась, что может свидетельствовать о повышении эффективности работы миокарда (таблица). Наиболее выраженный стимулирующий эффект апоА-I наблюдался при исходно невысокой работоспособности миокарда.

Адреналин оказывал двуфазное действие, первоначально увеличивая частоту и силу сокращений, затем к 20 минуте при сохраняющейся частоте наблюдалось значительное снижение давления в левом желудочке, что можно объяснить накоплением метаболитов адреналина при многократном прохождении раствора через сердце [11]. При одновременной перфузии адреналина и апоА-I сохранялась высокая работоспособность миокарда в течение всего эксперимента (30 мин). Возможно, что такая стабилизация работы сердца обусловлена антиоксидантными свойствами апоА-I [12].

В экспериментах с дигоксином наблюдалась классическая картина действия сердечного

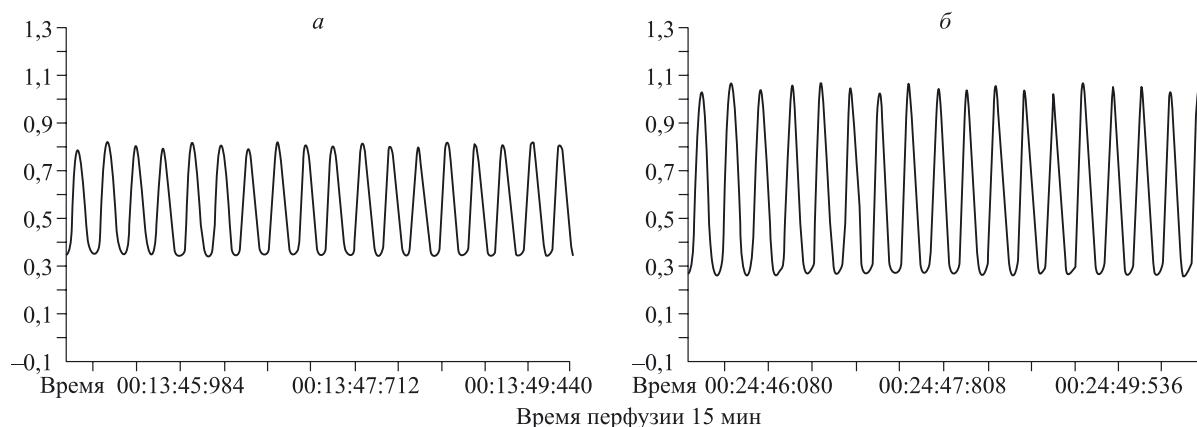
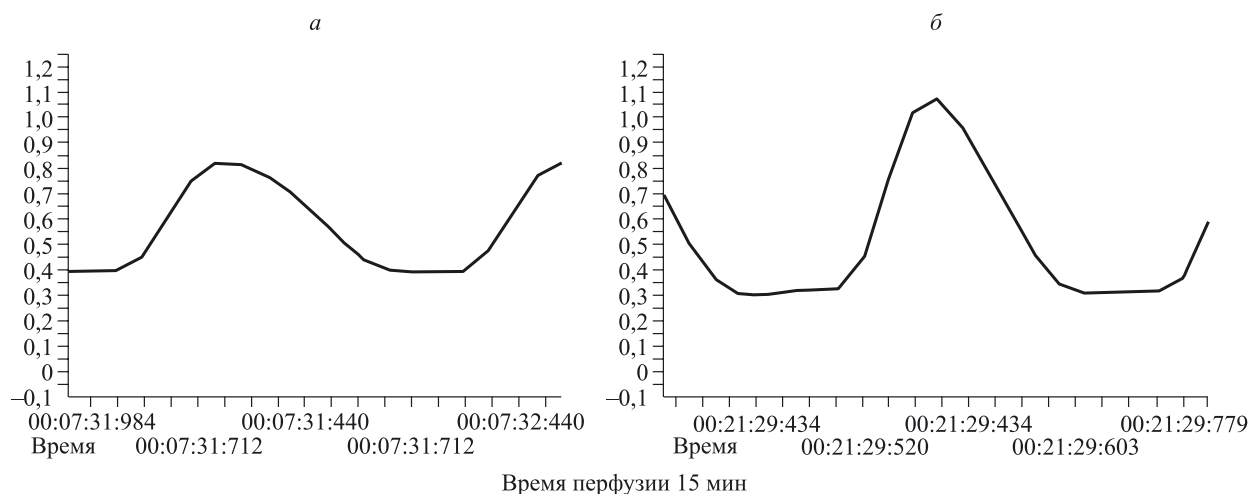


Рис. 1. Запись работы изолированного сердца крысы в контроле (а) и при добавлении в перфузат 20 мг/мл апоА-I (б)



**Рис. 2.** Влияние apoA-I на максимальную скорость сокращения и расслабления миокарда. *а* – контроль, МСС = 450 мм рт. ст./с, МСР = 390 мм рт. ст./с; *б* – ApoA-I – 20 мкг/мл, МСС = 740 мм рт. ст./с; МСР = 540 мм рт. ст./с

гликозида: увеличивалось давление в левом желудочке при некотором снижении частоты сокращений, возрастала скорость сокращения и расслабления сердечной мышцы (см. таблицу). ApoA-I на фоне развившегося кардиотонического эффекта дигоксина снижал работоспособность миокарда за счет уменьшения создаваемого давления, хотя частота сокращений при этом возрастала. В свою очередь, и дигоксин ослаблял эффект apoA-I, при этом существенно снижалась скорость сокращения и расслабления миокарда. Возможно, что в данном случае речь

может идти о конкуренции двух лигандов за общий рецептор.

В серии наших исследований пропранолол угнетал частоту сердечных сокращений и одновременно, но в меньшей степени, увеличивал их силу, что в итоге снижало эффективность работы сердца. Перфузия сердца раствором, содержащим apoA-I и  $\beta$ -блокатор, приводила к значительному росту давления в левом желудочке и дальнейшему уменьшению частоты сердечных сокращений (на 30 % от исходной), величины коронарного потока и работоспособности

**Влияние apoA-I, адреналина, дигоксина и пропранолола на показатели работы изолированного сердца крысы, % к исходному уровню**

	Частота сокращений сердца	Давление в левом желудочке	Коронарный поток	Работоспособность	Эффективность	Максимальная скорость	
						сокращения	расслабления
ApoA-I	112±5,8	154±10,9*	90±4,8	162±7,8*	180±6,6*	177±9,3*	187±9,9*
Адреналин	144±6,3*	154±9,2*	96±5,2	217±12,8*	234±9,7*	208±10,8*	225±12,5*
ApoA-I + адреналин	117±5,7*	179±12,6*	90±4,7	210±13,2*	225±12,5*	298±14,9*	240±12,3*
Дигоксин	93±2,3	166±6,2*	95±5,9	155±8,8*	163±10,2*	173±10,8*	209±12,5*
ApoA-I + дигоксин	128±6,7*	53±5,6*	100±3,7	67±3,9*	67±5,5*	60±5,9*	69±6,3*
Пропранолол	74±2,7*	125±6,6*	104±5,7	92±7,9	88±8,2	115±7,8	109±7,5
ApoA-I + пропранолол	30±2,9*	225±9,6*	76±5,2*	66±3,9*	86±4,9*	130±7,9	138±8,3*

Примечание. Работоспособность определялась как произведение прироста давления в левом желудочке на частоту сокращений сердца. Показателем эффективности работы было отношение работоспособности к величине коронарного потока.

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

миокарда. Разнонаправленный эффект апоА-I на частоту и силу сокращений изолированного сердца на фоне пропранолола позволяет предполагать и возможное влияние апоА-I на электрическую активность миокарда.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регуляторные эффекты апоА-I и ЛПВП неразрывно связаны с их антиатерогенными свойствами. Однако механизм антиатерогенного действия апоА-I и ЛПВП не ограничивается только «обратным» транспортом холестерина от периферических тканей в печень, он определяется многими другими факторами, каждый из которых имеет значение не только в контексте защиты организма от атеросклероза, но также в регуляторной и протективной роли ЛПВП в более широком смысле. В настоящее время уже созданы методические предпосылки для возможности использования рекомбинантных ЛПВП и апоА-I-миметиков в стратегии развития новых, более эффективных методов лечения сердечно-сосудистых заболеваний [12].

Полученные нами на изолированном сердце крысы результаты позволяют отнести к регуляторам сердечной деятельности ЛПВП, а также их основной белковый компонент — апоА-I. Кардиотонический эффект ЛПВП в значительной степени обусловлен наличием в их составе главного структурообразующего компонента — апоА-I. Отличие заключается в более выраженном увеличении частоты сердечных сокращений под влиянием частиц ЛПВП [4]. Кардиотоническое влияние апоА-I, которое проявляется на изолированном сердце в физиологических концентрациях, частично может иметь общий с сердечными гликозидами механизм, но не исчерпывается им и требует дальнейших исследований. Понимание этого процесса откроет в перспективе возможности использования рекомбинантного апоА-I в качестве эндогенного стимулятора сердечной деятельности.

#### ВЫВОДЫ

1. В режиме рециркуляции перфузионного раствора апоА-I в концентрации, близкой к физиологической (20 мкг/мл), вызывал стабильное повышение давления в левом желудочке, при этом величина коронарного потока менялась незначительно.

2. Адреналин оказывал двуфазное действие: первоначально увеличивал частоту и силу сокращений, затем наблюдалось значительное снижение давления в левом желудочке. При одновременной перфузии адреналина и апоА-I сохранялась высокая работоспособность миокарда на протяжении 30 мин эксперимента.

3. АпоА-I и дигоксин взаимно ослабляли до контрольных значений кардиостимулирующие эффекты друг друга.

4. АпоА-I не устранял отрицательный хронотропный эффект пропранолола, однако существенно (более чем в 2 раза) повышал давление, создаваемое левым желудочком.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang Q., Meng Z. The inotropic effects of ammonia on isolated perfused rat hearts and the mechanisms involve // *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 4048–4054.
2. Szokodi I., Kinnunen P., Tavi P. et al. Evidence for cAMP-independent mechanisms mediating the effects of adrenomedullin, a new inotropic peptide // *Circulation.* 1998. Vol. 97. P. 1062–1070.
3. Панин Л.Е., Колпаков А.Р., Максимов В.Ф. Влияние кортикостерона и липопротеинов плазмы на работоспособность и ультраструктуру изолированного сердца крыс // *Кардиология.* 2007. Т. 47, № 1. С. 31–36.
4. Панин Л.Е., Колпаков А.Р., Князев Р.А., Цирельников Н.И. Кардиотонические свойства липопротеинов высокой плотности // *Атеросклероз.* 2013. Т. 9, № 2. С. 5–10.
5. Calabresi L., Rossoni G., Gomaschi M. et al. High-density lipoproteins protect isolated rat hearts from ischemia-reperfusion injury by reducing cardiac tumor necrosis factor-alpha content and enhancing prostaglandin release // *Circ. Res.* 2003. Vol. 92 (3). P. 330–337.
6. Gomaschi M., Calabresi L., Rossoni G. et al. Anti-inflammatory and cardioprotective activities of synthetic high-density lipoprotein containing apolipoprotein A-I mimetic peptides // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2008. Vol. 324 (2). P. 776–783.
7. Алюхин Ю.С. Энергетика сердца и температурная адаптация организма // *Физиол. журн. СССР.* 1975. Т. 16, № 5. С. 749–757.
8. Kang W., Weiss M. Digoxin uptake, receptor heterogeneity, and inotropic response in the isolated rat heart: a comprehensive kinetic model // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002. Vol. 302 (2). P. 577–582.
9. Iwai T., Tanonaka K., Kasahara S. et al. Protective effect of propranolol on mitochondrial function in the ischaemic heart // *J. Pharmacol.* 2002. Vol. 136 (3). P. 472–480.
10. Поляков Л.М., Потеряева О.Н., Панин Л.Е. Определение апопротеина А-I методом иммуноферментного анализа // *Вопр. мед. химии.* 1991. Т. 37, № 1. С. 89–92.
11. Yates J.C., Beamish R.E., Dhallia N.S. Ventricular dysfunction and necrosis produced by adrenochrome metabolite of epinephrine: relation to pathogenesis of catecholamine cardiomyopathy // *Am. Heart J.* 1981. Vol. 102 (2). P. 210–221.
12. Поляков Л.М., Панин Л.Е. Липопротеины высокой плотности и аполипопротеин А-I: регуляторная роль и новые терапевтические стратегии лечения атеросклероза // *Атеросклероз.* 2013. Т. 9, № 1. С. 42–53.

## THE CARDIOTONIC PROPERTIES OF HUMAN APOLIPOPROTEIN A-I

A.R. Kolpakov<sup>1,2</sup>, R.A. Knyazev<sup>1</sup>, N.V. Trifonova<sup>1</sup>, L.M. Polyakov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biochemistry  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State Medical University  
63091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

The aim of this study was to determine the action of apolipoprotein A-I (apoA-I) - the main protein of plasma high density lipoproteins on the work capacity of isolated rat heart and the influence on its effects of classic cardiotoxic drugs (adrenaline, digoxin) and nonselective  $\beta$ -blocker propranolol. Results. By the regime of the recirculation the physiological concentration of apoA-I (20  $\mu\text{g/ml}$ ) has stably elevated the intraventricular pressure but the coronary flow was changed insignificantly. Adrenaline has induced two-stage effect: initially it increased the frequency and the force of heart contractions but the induced left ventricular pressure decreased significantly. In the experiments with the simultaneous common perfusion of adrenaline and apoA-I the increased working capacity of isolated heart was recorded during the whole time of observation (30 min). ApoA-I has eliminated the cardiotoxic activity of digoxin, and digoxin has removed cardiotoxic effect of apoA-I too, and indicators of cardiac activity turned to control parameters but coronary flow was decreased. ApoA-I didn't abolish the negative chronotropic effect of propranolol but substantially (more 2 fold) increased the left ventricular pressure.

**Keywords:** high density lipoproteins, apolipoprotein A-I, isolated rat heart, endogenous cardiotoxics.

---

*Статья поступила 10 ноября 2015 г.*