

Исследование влияния рекомбинантного аполипопротеина А-I на работу сердечной мышцы в эксперименте

© Р.А. Князев¹, Н.В. Трифонова¹, А.В. Рябченко¹, М.В. Котова¹, А.Р. Колпаков^{1,2}, Л.М. Поляков¹

¹ Научно-исследовательский институт биохимии, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Российская Федерация

Поступила в редакцию 3 сентября 2018 г. Исправлена 8 октября 2018 г. Принята к печати 11 октября 2018 г.

Для корреспонденции: Роман Александрович Князев, knjazev_roman@mai.ru

Введение

Ранее установлено, что липопротеины высокой плотности плазмы крови крыс увеличивают частоту и силу сокращения изолированного сердца крысы. На этой модели основной белковый компонент липопротеинов высокой плотности аполипопротеин А-I, выделенный из плазмы крови человека, увеличивал силу сокращений сердца, мало влияя на частоту. Разработанная в НИИ биохимии методика получения рекомбинантного аполипопротеина А-I позволяет значительно расширить исследования кардиотропных свойств данного белка.

Цель

Изучить влияние рекомбинантного аполипопротеина А-I на показатели работоспособности изолированного сердца крысы, сравнив его с действием нативного аполипопротеина А-I.

Методы

Эксперименты проведены на крысах-самцах Вистар массой 250–300 г. Изолированные сердца крыс перфузировали ретроградно по стандартной методике с регистрацией изоволюмического давления в левом желудочке. Рекомбинантный аполипопротеин А-I человека был получен в клетках *E. coli* в виде химерного полипептида, с последующим превращением белка в зрелую форму рекомбинантного аполипопротеина А-I.

Результаты

Показано, что рекомбинантный аполипопротеин А-I в концентрации 20 мкг/мл вызывал стабильное повышение давления в левом желудочке, при этом величина коронарного потока и частота сердечных сокращений менялись незначительно. Максимальный инотропный эффект был зарегистрирован на 20 мин от начала перфузии и составил 147,5% относительно контрольных значений. Установлено, что в присутствии рекомбинантного аполипопротеина А-I увеличивалась максимальная скорость сокращения левого желудочка. При этом временной отрезок диастолы имел тенденцию к увеличению и был больше, по сравнению с исходными данными, на 10-й и 20-й мин перфузии.

Выводы

Полученные результаты позволяют сделать вывод о функциональной аналогии кардиотонического действия рекомбинантного аполипопротеина А-I по сравнению с его нативной формой. Однако механизм реализации инотропного эффекта требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова

изолированное сердце; инотропный препарат; кардиотоническое действие; рекомбинантный аполипопротеин А-I

Цитировать: Князев Р.А., Трифонова Н.В., Рябченко А.В., Котова М.В., Колпаков А.Р., Поляков Л.М. Исследование влияния рекомбинантного аполипопротеина А-I на работу сердечной мышцы в эксперименте. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2018;22(4):88-94. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2018-4-88-94>

Введение

Возросший в настоящее время интерес исследователей к липопротеинам сыворотки крови в значительной степени обусловлен открытием разнообразных биологически важных внесосудистых свойств липопротеинов и их белковых компонентов — аполипопротеинов. В частности, установлена роль липопротеинов в стероидогенезе [1], раскрыты механизмы участия липопротеинов очень низкой плотности в комплексе со стероидными гормонами в усилении биосинтеза белка и дезоксирибонуклеиновой кислоты в опухолевых клетках [2], обнаружен контринсулярный эффект аполипопротеина В [3].

В последние годы опубликованы результаты исследований, показывающие защитное действие нативных липопротеинов высокой плотности и синтетических частиц, содержащих апоА-I, при повреждении миокарда в результате ишемии или реперфузии изолированного сердца крысы [4–6].

Ранее мы провели исследование влияния всех классов липопротеинов плазмы крови крыс на работу изолированного по Лангендорфу сердца крысы. В этих экспериментах постоянное и выраженное увеличение частоты и силы сердечных сокращений проявлялось у липопротеинов высокой плотности, которые устраняли негативное влияние адреналина на сердце при длительной перфузии [7]. В последующем на



такой же модели обнаружено кардиотоническое действие аполипопротеина А-I (апоА-I), полученного из крови доноров. В отличие от липопротеинов, аполипопротеин не влиял на частоту сокращений [8].

Изучение нативных белков плазмы крови связано с трудностями их получения в необходимых для исследования количествах. Развитие биотехнологии позволило решить эту проблему. В литературе представлены работы по реконструированию липопротеиновых частиц [4]. Проведен структурно-функциональный анализ целого ряда различных модификаций аполипопротеина А-I с целью выяснения механизмов их антиатерогенной активности [9]. Однако, как показали исследования, даже небольшие изменения в структуре апоА-I могут приводить к появлению патогенных свойств этого белка [10].

Данная работа посвящена исследованию полученного в НИИ биохимии рекомбинантного аполипопротеина А-I (ρ апоА-I) на показатели работоспособности изолированного сердца крысы с целью определения возможности данного протеина выступать в качестве кардиотонического соединения.

Методы

Эксперименты на лабораторных животных проводили в соответствии с приказом Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755 и приложение к приказу № 565 от 04.10.1977 г.) «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», согласно принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.). Животные содержались на стандартной диете и имели свободный доступ к воде. Представленная работа одобрена комитетом по биоэтике НИИ биохимии № 5/1 от 14.11.2017 г.

Работа выполнена на крысах-самцах Вистар массой 250–300 г. Исследования проведены на изолированном по Лангендорфу, сокращающемся сердце крысы по стандартной методике с регистрацией давления в левом желудочке. Перфузионное давление составило 60 мм рт. ст. Представленная работа является частью большого исследования, посвященного изучению роли липопротеинов высокой плотности и их основного белкового компонента аполипопротеина А-I в регуляции работы изолированного сердца [7, 8]. Более подробное методическое описание представлено в ранее опубликованной работе [8]. Определяли следующие показатели: частоту сердечных сокращений (ЧСС), коронарный поток (КП), давление в левом желудочке. Показатель работоспособности миокарда (Р) рассчитан как произведение давления на частоту сокращений в

минуту. Отношение выполненной работоспособности к величине коронарного потока (Р/КП) определяло эффективность сократительной функции миокарда. Максимальную скорость увеличения давления (+dP/dt) и максимальную скорость падения давления (-dP/dt) миокарда рассчитывали как отношение dP/dt [11].

Рекомбинантный аполипопротеин А-I (ρ апоА-I) человека был получен в клетках *E. coli* в виде химерного полипептида, с последующим превращением белка в зрелую форму ρ апоА-I. Проверка чистоты апоА-I осуществлялась с помощью электрофореза в 10% полиакриламидном геле с Ds-Na. Белковые полосы визуализи-

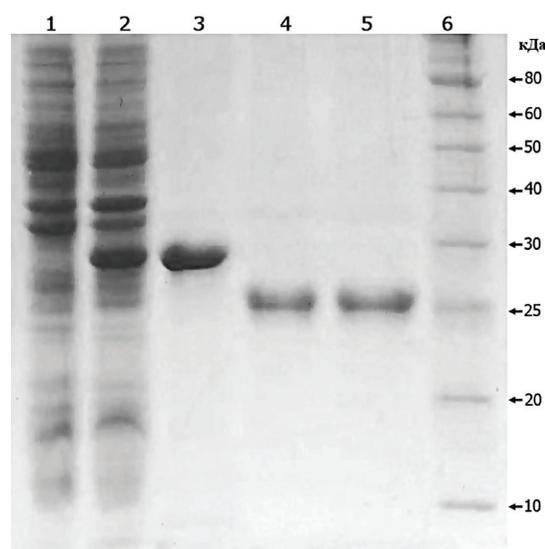


Рис. 1. Фрагмент электрофореграммы белковых образцов на различных стадиях получения белка рекомбинантного аполипопротеина А-I

Примечание. Дорожки: 1 — лизат клеток-производителей, инкубированных без добавления индуктора (контроль); 2 — лизат клеток-производителей, инкубированных с индуктором 50 мкМ (биомасса для выделения белка); 3 — очищенный химерный рекомбинантный белок апоА-I (около 33,4 кДа); 4 — очищенный рекомбинантный белок апоА-I нативной формы (около 28 кДа); 5 — нативный апоА-I, выделенный из плазмы крови человека (около 28 кДа); 6 — маркерные белки (10, 20, 25, 30, 40, 50, 60 и 80 кДа)

Fig. 1. A fragment of electropherogram of protein sample at different stages of recombinant apolipoprotein A-I protein production. Tracks: 1, lysate of production cell incubated without inducer (check); 2, lysate of production cells incubated with 50 μ M (biomass to select protein); 3, purified chimeric recombinant protein apolipoprotein A (about 33.4 kDa); 4, purified recombinant protein apolipoprotein A-I of a native form (about 28 kDa); 5, native apolipoprotein A-I selected from human blood plasma (about 28 kDa); 6, marker protein 10, 20, 25, 30, 40, 50, 60 and 80 kDa)

зировали 0,1% Кумасси G-250 в смеси метанола и 10% уксусной кислоты (1:1). В качестве маркеров использовали набор низкомолекулярных белков-стандартов 10–80 кДа «Сибэнзим» (Россия), рис. 1. Подробно способ получения и очистки ρ apoA-I описан в нашей работе [12].

Фракцию, содержащую ρ apoA-I, разбавляли до 1 о.е./мл буфером, содержащим мочевины, и обессоливали диализом в фосфатно-солевом буфере. На заключительном этапе раствор белка стерилизовали фильтрованием, диаметр пор 0,22 мкм (Syringe-DivenFilters, Jet Biofilm, Корея), хранили при 4 °С и использовали в течение 3–5 дней. Концентрация обессоленного белка составляла 1,0 мг/мл.

Дизайн

Перфузию проводили в присутствии ρ apoA-I с концентрацией 20 мкг/мл. Количество животных в каждой группе составило восемь особей. Каждое выделенное сердце работало до установления стабильных показателей давления в левом желудочке и частоты сердечных сокращений без рециркуляции перфузионного давления. Время перфузии в условиях стабилизации показателей составило 15–20 мин. После этого проводили измерение исходных показателей (давление в левом желудочке, ЧСС, Р, Р/КП). Сердце работало в течение 30 мин. Данные работоспособности представлены для 5, 10, 20, 30 мин.

Исходные (контрольные) показатели работы сердца крысы различались между собой, поэтому изменения в работе миокарда под влиянием изучаемых компонентов оценивали в процентах по отношению к исходным показателям [8].

Статистический анализ

Проверку нормальности распределения данных в группах выполнили с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента корреляции r-Спирмена. Дисперсию признака в выборках проверяли с помощью критерия F-Фишера. Статистическую значимость полученных результатов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Перфузия сердца раствором, содержащим рекомбинантный apoA-I, приводила к увеличению давления, развиваемому левым желудочком. Максимум эффекта приходился на 20-ю мин. При этом частота сердечных сокращений практически не менялась (рис. 2). Этот результат согласуется с полученным ранее при использовании нативного аполипопротеина A-I в той же концентрации [8].

Анализ данных в динамике показал, что рекомбинантный apoA-I увеличивает давление в левом желудочке на пятой мин на 25% по сравнению с исходными данными (рис. 3, зеленая линия). Далее продолжается рост этого показателя и на 10-й мин увеличение составило 32,1%, а на 20-й мин отмечен максимум повышения на 47,5%, затем происходило плавное снижение, и на 30-й мин давление в левом желудочке увеличено на 35,7% относительно контроля. При этом частота сердечных сокращений оставалась на уровне исходных величин до 10 мин перфузии. К 20-й мин ЧСС увеличилась на 3,4%, а к 30-й мин на 7,4%.

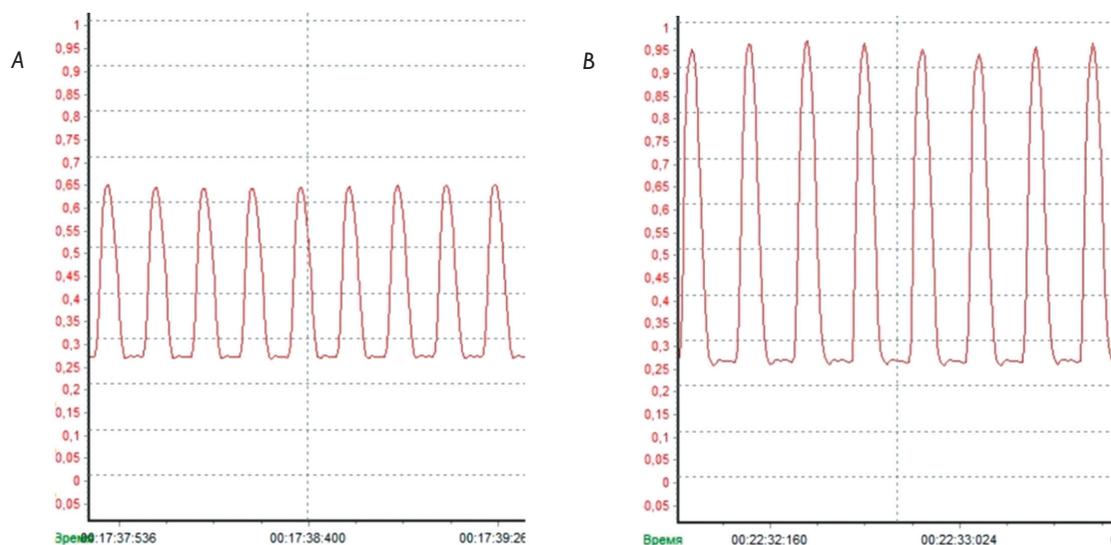


Рис. 2. Запись работы левого желудочка изолированного сердца крысы в контроле (А) и в присутствии ρ apoA-I, концентрация белка 20 мкг/мл (В). Время перфузии — 20 мин

Fig. 2. Record of the left ventricle of an isolated rat's heart in the control (A) and in the presence of recombinant apolipoprotein A-I, protein concentration 20 μ g/ml (B). Perfusion time 20 min

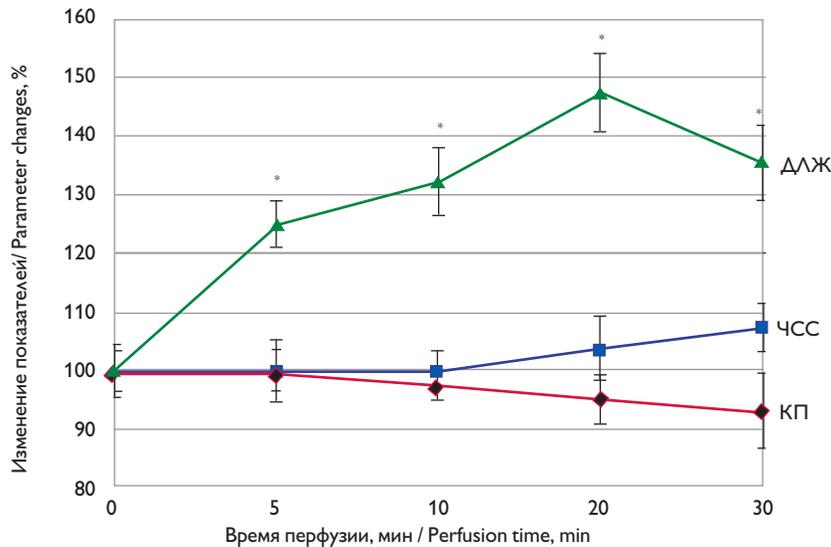


Рис. 3. Изменение показателей коронарного потока (КП), частоты сердечных сокращений (ЧСС), давления в левом желудочке (ДЛЖ) в присутствии рекомбинантного аполипопротеина А-I

Примечание. * — $p < 0,01$ по отношению к исходным данным

Fig. 3. Parameter changes: coronary flow (red), heart rate (blue), pressure in the left ventricle (green) in the presence of recombinant apolipoprotein A-I. * $p < 0.01$ vs baseline data

Однако эти изменения не имели статистически значимых отличий относительно контроля (рис. 3, синяя линия). Коронарный поток имел тенденцию к снижению, к 30-й мин составил 93% от исходных данных (рис. 3, красная линия). Полученные ранее данные в присутствии нативного апоА-I также показали максимальный прирост давления в левом желудочке на 20-й мин перфузии и незначительные изменения КП и частоты сердечных сокращений [8].

Интегральный показатель работоспособности (Р), определяемый как произведение ЧСС и давления в левом желудочке, возрос на 5-й мин до $125 \pm 5,90\%$, а к 20-й мин он достиг максимума и был выше на $53 \pm 4,18\%$ по сравнению с исходным. Показатель эффективности работоспособности (Р/КП) имел схожую тенденцию. Отмечено увеличение Р/КП начиная с 5-й мин, на 20-й мин данный показатель выходил на максимум и составил 161,1% отно-

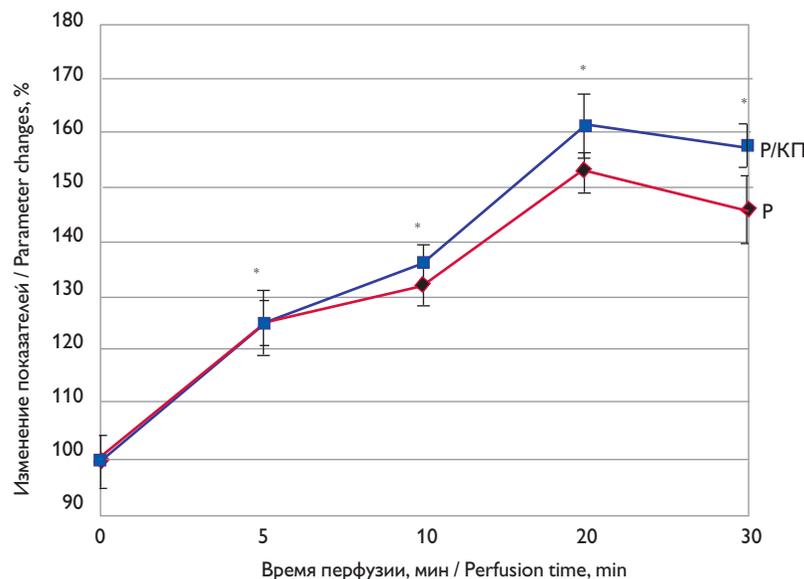


Рис. 4. Изменение показателей работоспособности (Р) и эффективности работоспособности (Р/КП) в присутствии рекомбинантного аполипопротеина А-I

Примечание. * — $p < 0,01$ по отношению к исходным данным

Fig. 4. Changes of performance capability (red) and performance efficiency (blue) in the presence of recombinant apolipoprotein A-I. * $p < 0.01$ vs baseline data

Таблица 1 Влияние рекомбинантного аполипопротеина А-I на максимальную скорость увеличения давления (+dP/dt) и максимальную скорость падения давления левого желудочка (-dP/dt). Данные представлены в % от исходных значений (M±m)

	Время перфузии, мин			
	5	10	20	30
МСС	121,7±10,7	143,6±12,5*	170,1±14,4*	127,6±11,3
МСП	145,1±11,3*	138,6±11,4*	159,5±12,1*	159,5±13,2*

Примечание. МСС — максимальная скорость сокращения левого желудочка; МСП — максимальная скорость расслабления левого желудочка; * — $p < 0,05$ по отношению к контролю

сительно исходного (рис. 4). По сравнению с Р, данные по изменению Р/КП были выше, это было опосредовано незначительным снижением коронарного потока (см. рис. 3).

Установлено, что в присутствии ρ апоА-I увеличилась максимальная скорость сокращения левого желудочка (табл. 1). Начиная с 5-й мин перфузии происходило увеличение данного показателя. Наибольший эффект был зафиксирован на 20-й мин и составил 170,1% по сравнению с исходными значениями. К 30-й мин наблюдалось снижение максимальной скорости сокращения левого желудочка до 127,6%. При этом отмечен рост максимальной скорости расслабления левого желудочка. Здесь можно выделить два периода: 5–10-е мин и 20–30-е мин перфузии. В первом отрезке увеличение было в пределах 40%, во втором — около 60% по отношению к контролю.

Показатель соотношения времени расслабления и сокращения указывает на уменьшение времени сокращения левого желудочка, что также говорит об усилении инотропного действия ρ апоА-I. При этом временной отрезок диастолы имел тенденцию к увеличению и был статистически значимо больше по сравнению с исходными данными на 10-й и 20-й мин перфузии (табл. 2).

Обсуждение

В настоящее время описано более 40 вариантов апоА-I с природной измененной функциональностью [13]. Одним из первых вариантов модификаций был апоА-I Милано (апоА-I-M) [14]. В данном варианте мутации, в первичной

структуре в 173-м положении Arg заменен на Cys. Носители варианта апоА-I-M имеют очень низкий уровень холестерина, а также нормальный или умеренно повышенный уровень триглицеридов в плазме [15]. Показан благоприятный эффект инфузии рекомбинантного апоА-I-M при восстановлении атеросклеротических поражений в экспериментальных моделях на животных, а также в клинических исследованиях для пациентов с ишемической болезнью сердца [16, 17].

В данной работе рекомбинантный апоА-I человека получен в клетках *E. coli* шт. BL21(DE3). Белок с молекулярной массой около 28 кДа не имеет двух аминокислотных остатков с N-конца (аспарагиновая и глутаминовая кислоты), в остальном по первичной структуре он идентичен нативному белку апоА-I человека. Такая модификация необходима и связана с оптимизацией количественного выхода рекомбинантного апоА-I [12]. В серии экспериментов показано, что ρ апоА-I по физико-химическим свойствам соответствует нативной форме апоА-I. Рекомбинантный апоА-I был исследован на способность проникать в ядра клеток гепатоцитов и оказывать влияние на скорость биосинтеза дезоксирибонуклеиновой кислоты в комплексе с эстриолом. Результаты исследования показали способность конъюгата ρ апоА-I с изотиоцианатом флуоресцеина проникать в ядра гепатоцитов. Близкие значения скорости увеличения биосинтеза дезоксирибонуклеиновой кислоты в изолированных гепатоцитах при влиянии комплексов ρ апоА-I-эстриол и апоА-I-эстриол указывали на функциональное сходство полученного рекомбинантного белка зрелой формы и нативного апоА-I человека [12]. Полученные нами данные на изолированном сердце показали, что ρ апоА-I оказывает выраженное инотропное действие, при этом ЧСС и коронарный поток изменяются незначительно. Сравнивая эти результаты с полученными ранее, можно утверждать, что ρ апоА-I по кардиотоническим свойствам соответствует нативной форме апоА-I [8].

Заключение

Существование в организме соединений, схожих по механизму инотропного действия с гликозидами, — это воп-

Таблица 2 Отношение времени диастолы и систолы при перфузии сердца раствором, содержащим рекомбинантного аполипопротеина А-I (M±m)

	Время перфузии, мин				
	К	5	10	20	30
Время диастолы ЛЖ / время систолы ЛЖ	1,48±0,14	1,7±0,15	1,73±0,14*	1,72±0,15*	1,59±0,12
МСП		145,1±11,3*	138,6±11,4*	159,5±12,1*	159,5±13,2*

Примечание. ЛЖ — левый желудочек; МСП — максимальная скорость расслабления левого желудочка; * — $p < 0,05$ по отношению к контролю

рос с многолетней историей. Интерес к гликозидам связан прежде всего с их способностью усиления сократительной деятельности миокарда без значительного увеличения потребления энергии [18].

В литературе в качестве потенциальных инотропных агентов представлены вещества различной природы, в том числе и белковые соединения [19]. К последним относятся инсулин, глюкагон, адреномедулин. Все они отличаются механизмами действия и спектрами вызываемых эффектов. Результаты наших исследований на изолированном сердце крысы позволяют с большой долей уверенности говорить об аполипопротеине А-I как о перспективном кардиотоническом средстве. Возможно, его эффект связан с активацией гликолитических процессов в миокарде. Ранее в НИИ биохимии показана способность липопротеинов высокой плотности усиливать гликолиз в скелетных мышцах [20].

Получение рекомбинантного апоА-I, воспроизводящего эффект нативного белка на изолированном по Лангендорфу сердце, дает возможность глубокого изучения механизма действия этого эндогенного соединения.

Финансирование

Работа выполнена в рамках ведомственной темы НИР НИИ биохимии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн работы: А.Р. Колпаков, Р.А. Князев
Сбор и анализ данных: Н.В. Трифонова, А.В. Рябченко, М.В. Котова

Статистическая обработка данных: Р.А. Князев

Написание статьи: Р.А. Князев

Исправление статьи: А.Р. Колпаков, Л.М. Поляков

Утверждение окончательного варианта статьи: Р.А. Князев, Н.В. Трифонова, А.В. Рябченко, М.В. Котова, А.Р. Колпаков, Л.М. Поляков

Список литературы / References

1. Rone M. B., Fan J., Papadopoulos V. Cholesterol transport in steroid biosynthesis: Role of protein-protein interactions and implications in disease states. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1791(7):646-58. PMID: 19286473; PMCID: PMC2757135. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2009.03.001>
2. Панин Л.Е., Белоногова Ж.И., Князев Р.А., Чешенко И.О. Влияние кортизола в комплексе с липопротеинами очень низкой плотности на развитие гепатомы HA-1 и карциномы Эрлиха. *Сибирский онкологический журнал*. 2013;(3):43-46. Режим доступа: <https://www.siboncoj.ru/jour/article/view/129> [Panin L.E., Belonogova Zh.I., Knyazev R.A., Cheshenko I.O. The effect of cortisol in combination with very low density lipoproteins on the development of hepatoma HA-1 and Ehrlich carcinoma. *Siberian Journal of Oncology*. 2013;(3):43-46. (In Russ.)]
3. Poutout V., Robertson R. P. Minireview. Secondary betacell failure in type 2 diabetes. A convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 2002;143(2):339-42. PMID: 11796484. <https://doi.org/10.1210/endo.143.2.8623>
4. Gomasarshi M., Calabresi L., Rossoni G., Gomasarshi M., Calabresi L., Rossoni G., lametti S., Franceschini G., Stonik J.A., Remaley A.T. Anti-inflammatory and cardioprotective activities of synthetic high-density lipoprotein containing apolipoprotein A-I mimetic peptides. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;324(2):776-83. PMID: 18042829. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.129411>
5. Francis S., Metzinger L., Serra R. The discovery of novel genomic, transcriptomic, and proteomic biomarkers in cardiovascular and peripheral vascular disease: the state of the art. *BioMed Research International*. 2016;(2016):1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7829174>
6. Majek P., Pecankova K., Maly M., Oravec M., Riedel T., Dyr J.E. N-Glycosylation of apolipoprotein A-I in cardiovascular diseases. *Transl Res*. 2015;165(2):360-2. PMID: 25262938. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.09.003>
7. Панин Л.Е., Колпаков А.Р., Князев Р.А., Цирельников Н.И. Кардиотонические свойства липопротеинов высокой плотности. *Атеросклероз*. 2013;9(2):5-10. Режим доступа: http://sibran.ru/journals/issue.php?ID=153352&ARTICLE_ID=153353 [Panin L.E., Kolpakov A.R., Knyazev R.A., Tsirelnikov N.I. Cardiotoxic properties of high density lipoproteins. *Ateroskleroz*. 2013;9(2):5-10. (In Russ.) Available from: http://sibran.ru/en/journals/issue.php?ID=153352&ARTICLE_ID=153353]
8. Колпаков А.Р., Князев Р.А., Трифонова Н.В., Поляков Л.М. Кардиотонические свойства аполипопротеина А-I человека. *Атеросклероз*. 2015;11(4):20-24. Режим доступа: http://sibran.ru/journals/issue.php?ID=165756&ARTICLE_ID=166335 [Kolpakov A.R., Knyazev R.A., Trifonova N.V., Polyakov L.M. The Cardiotoxic properties of human apolipoprotein A-I. *Ateroskleroz*. 2015;11(4):20-24. (In Russ.) Available from: http://sibran.ru/en/journals/issue.php?ID=165756&ARTICLE_ID=166335]
9. Uehara Y., Chiesa G., Saku K. High-density lipoprotein-targeted therapy and apolipoprotein A-I mimetic peptides. *Circ J*. 2015;79(12):2523-8. PMID: 26548857. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-15-0960>
10. Arciello A., De Marco N., Del Giudice R., Guglielmi F., Pucci P., Relini A., Piccoli R. Insights into the fate of the N-terminal amyloidogenic polypeptide of ApoA-I in cultured target cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2011;15(12):2652-63. PMID: 21306558; PMCID: PMC4373434. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01271.x>
11. Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Коновалова Г.Г., Цыпленкова В.Г., Тихазе А.К., Ланкин В.З. Острое и пролонгированное действие адриамицина на сократительную функцию и антиоксидантный статус миокарда. *Кардиология*. 2010;50(12):45-51. [Kapelko V.I., Lakomkin V.L., Konovalova G.G., Tsyplenkova V.G., Tikhaze A.K., Lankin V.Z. Acute and prolonged action of adriamycin on the contractile function and antioxidant status of the myocardium. *Cardiology*. 2010;50(12):45-51. (In Russ.)]
12. Ryabchenko A.V., Kotova M.V., Tverdohle N.V., Knyazev R.A., Polyakov L.M. Production and analysis of biological properties of recombinant human apolipoprotein A-I. *Bull Exp Biol Med*. 2015;160(1):129-33. PMID: 26612626. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-3113-4>
13. Kono M., Tanaka T., Tanaka M., Vedhachalam C., Chetty P.S., Nguyen D., Dhanasekaran P., Lund-Katz S., Phillips M.C., Saito H. Disruption of the C-terminal helix by single amino acid deletion is directly responsible for impaired cholesterol efflux ability of apolipoprotein A-I. *Nichinan. J Lipid Res*. 2010;51(4):809-818. PMID: PMC2842158; PMID: 19805625. <https://doi.org/10.1194/jlr.M002113>
14. Petrlova J., Dalla-Riva J., Mörgelin M., Lindahl M., Krupinska E., Stenkula K.G., Voss J.C., Lagerstedt J.O. Secondary structure changes in ApoA-I Milano (R173C) are not accompanied by a decrease in protein stability

- or solubility. *PLoS One*. 2014;9(4):e96150. PMID: 24755625; PMCID: PMC3995965. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096150>
15. Speidl W.S., Cimmino G., Ibanez B., Elmariah S., Hutter R., Garcia M.J., Fuster V., Goldman M.E., Badimon J.J. Recombinant apolipoprotein A-I Milano rapidly reverses aortic valve stenosis and decreases leaflet inflammation in an experimental rabbit model. *Eur Heart J*. 2010;31(16):2049-57. PMID: 20304838. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq064>
16. Nissen S.E., Tsunoda T., Tuzcu E.M., Schoenhagen P., Cooper C.J., Yasin M., Eaton G.M., Lauer M.A., Sheldon W.S., Grines C.L., Halpern S., Crowe T., Blankenship J.C., Kerensky R. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290(17):2292-300. PMID: 14600188. <https://doi.org/10.1001/jama.290.17.2292>
17. Frank P.G., Marcel Y.L. Apolipoprotein A-I: structure–function relationships. *J Lipid Res*. 2000;41(6):853-872. PMID: 10828078
18. Schoner W., Scheiner-Bobis G. Endogenous and exogenous cardiac glycosides and their mechanisms of action. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2007;7(3):173-189. PMID: 17610345. <https://doi.org/10.2165/00129784-200707030-00004>
19. Schisler J., Lang Ch., Willis M., editors. *Endocrinology of the heart in health and disease. Edition integrated, cellular, and molecular endocrinology of the heart*. 1st ed. Elsevier. 2016; pp. 41-58.
20. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск: Наука; 1983. 234 с. [Panin L.E. *Biochemical mechanisms of stress*. Novosibirsk: Science Publ.; 1983. 234 p. (In Russ.)]

Impact of recombinant apolipoprotein A-I on myocardial function in experiment

Roman A. Knyazev¹, Natalia V. Trifonova¹, Alexander V. Ryabchenko¹, Maria V. Kotova¹, Arkadii R. Kolpakov^{1,2}, Lev M. Polyakov¹

¹ Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Scientific Research Institute of Biochemistry, Novosibirsk, Russian Federation

² Federal State Novosibirsk Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Corresponding author. Roman A. Knyazev, knjazev_roman@mai.ru

Background. It was shown earlier that high-density lipoproteins of rat blood plasma increased the frequency and strength of contraction of an isolated rat heart. The main protein component of high-density lipoproteins, apolipoprotein A-I, isolated from human blood plasma, increased the force of cardiac contractions, with little effect on the frequency. A method for obtaining recombinant apolipoprotein A-I developed at the Institute of Biochemistry allows for facilitating the research into cardiotropic properties of this protein.

Aim. The purpose of this experiment was to study the effect of recombinant apolipoprotein A-I on the performance of an isolated rat heart and to compare it with the action of native apolipoprotein A-I.

Methods. The experiment was performed on Wistar male rats weighing 230–250 g. Isolated hearts of the rats were routinely perfused retrograde, and isovolume pressure in the left ventricle was measured. Recombinant apolipoprotein A-I was obtained in *E. coli* cells in the form of a chimeric polypeptide followed by the conversion of protein into a mature form of recombinant apolipoprotein A-I.

Results. It was shown that recombinant apolipoprotein A-I with a concentration of 20 µg/ml caused a stable increase in pressure in the left ventricle, while the magnitude of the coronary flow and heart rate changed insignificantly. The maximum inotropic effect was registered for 20 min from the beginning of perfusion and amounted to 147.5% relative to the reference values. It was found out that in the presence of recombinant apolipoprotein A-I, the maximum rate of contraction of the left ventricle increased. At the same time, the diastole had a tendency to increase and was larger in comparison with the initial data at 10 and 20 minutes of perfusion.

Conclusion. The recombinant apolipoprotein A-I under study has cardiotoxic properties similar to its native form. However, the mechanism for implementing the inotropic effect requires further study.

Keywords: cardiotoxic action; inotropic drugs; isolated heart; recombinant apolipoprotein A-I

Received 3 September 2018. Revised 8 October 2018. Accepted 11 October 2018.

Funding: The study did not have sponsorship.

Conflict of interest: Authors declare no conflict of interest.

Author contributions

Conception and study design: A.R. Kolpakov, R.A. Knyazev

Data collection and analysis: N.V. Trifonova, A.V. Ryabchenko, M.V. Kotova

Critical revision of the article: R.A. Knyazev

Drafting the article: R.A. Knyazev

Critical revision of the article: A.R. Kolpakov, L.M. Polyakov

Final approval of the version to be published: R.A. Knyazev, N.V. Trifonova, A.V. Ryabchenko, M.V. Kotova, A.R. Kolpakov, L.M. Polyakov

Copyright: © 2018 Knyazev et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 License.

How to cite: Knyazev R.A., Trifonova N.V., Ryabchenko A.V., Kotova M.V., Kolpakov A.R., Polyakov L.M. Impact of recombinant apolipoprotein A-I on myocardial function in experiment. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2018;22(4):88-94. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2018-4-88-94>