

Лакомкин В. А.¹, Абрамов А. А.¹, Студнева И. М.¹, Уланова А. Д.²,
Вихлянцев И. М.^{2,3}, Просвирнин А. В.¹, Лукошкова Е. В.¹, Капелько В. И.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ, Москва, Россия

² «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», Пущино, Московская обл., Россия

³ «Пущинский государственный естественно-научный институт», Пущино, Московская обл., Россия

РАННИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА, ИЗОФОРМНОГО СОСТАВА И УРОВНЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТИТИНА ПРИ ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ

Актуальность	Диастолическая дисфункция, возникающая при артериальной гипертензии, ожирении, диабете или терапии доксорубицином, начинает превалировать в структуре всех случаев хронической сердечной недостаточности. Отсутствие эффективной терапии заставляет глубже изучать метаболические процессы в кардиомиоцитах.
Цель	Определение состояния энергетического метаболизма в кардиомиоцитах и изменений в титине – гигантском белке миофибрилл, определяющем их эластические свойства.
Материалы и методы	Моделью исследования послужила кардиомиопатия, возникающая после 4-недельного применения доксорубицина (2 мг/кг еженедельно). Наличие диастолической дисфункции было определено при эхокардиографии и катетеризации с одновременным измерением давления и объема левого желудочка (ЛЖ).
Результаты	Содержание адениннуклеотидов и фосфокреатина в сердце животных, получавших доксорубицин, мало отличалось от нормальных показателей, но содержание лактата было повышено многократно. Установлено увеличение на 50% уровня фосфорилирования титина, что коррелировало ($r=0,94$) с почти двукратным увеличением доли более эластичной N2BA-изоформы этого белка.
Заключение	Для данной формы диастолической дисфункции установлена активация анаэробного обмена и увеличение растяжимости миофибрилл, облегчающее наполнение ЛЖ.
Ключевые слова	Доксорубицин; сердечная недостаточность; энергетический метаболизм; изоформы и фосфорилирование титина; диастолическая дисфункция
Для цитирования	Lakomkin V. L., Abramov A. A., Studneva I. M., Ulanova A. D., Vikhlyantsev I. M., Prosvirnin A. V. et al. Early changes of energy metabolism, isoformic content and level of titin phosphorylation at diastolic dysfunction. <i>Kardiologiya</i> . 2020;60(2):4–9. [Russian: Лакомкин В. А., Абрамов А. А., Студнева И. М., Уланова А. Д., Вихлянцев И. М., Просвирнин А. В. и др. Ранние изменения энергетического метаболизма, изоформного состава и уровня фосфорилирования титина при диастолической дисфункции. <i>Кардиология</i> . 2020;60(2):4–9]
Автор для переписки	Лакомкин Владимир Леонидович. E-mail: v.lakomkin@yandex.ru

В 21 веке когорта больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН) с сохраненной фракцией выброса (ФВ) стала преобладающей в общем числе случаев ХСН [1] в связи с широким распространением артериальной гипертензии, ожирения, диабета. Для этих больных в основном были характерны незначительные изменения минутного объема, нормальный объем левого желудочка (ЛЖ) и нормальная фракция изгнания [2], но замедленное расслабление и повышенное диастолическое давление в ЛЖ. Эти признаки характеризуют диастолическую дисфункцию миокарда.

Исследования метаболизма миокарда в основном относятся к более тяжелым формам ХСН. Известно, что биоэнергетика сердца при ХСН претерпевает значительные изменения – происходит постепенный переход от потребления жирных кислот к аэробному гликолизу. Это переключение при развитии тяжелой стадии ХСН совпа-

дает с увеличением конечного диастолического давления в ЛЖ и декомпенсацией ХСН [1]. При дальнейшем ремоделировании ЛЖ происходит накопление лактата в результате анаэробного гликолиза [2]. Показаны связи между клеточными показателями биоэнергетики (содержанием макроэргических фосфатов, отношением фосфокреатина к аденозинтрифосфату [ФКр/АТФ] в сердце) и классами ХСН по NYHA или индексами систолической и диастолической дисфункции. Считается, что низкое отношение ФКр/АТФ может быть предиктором смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [3].

Кардиомиопатия, вызываемая доксорубицином, является адекватной моделью ХСН, поскольку она закономерно возникает и у онкобольных [4, 5]. Показано, что после 4-х еженедельных инъекций доксорубицина примерно у $2/3$ крыс возникает диастолическая, а у $1/3$ – систолическая дисфункция [6]. При увеличении срока преобладающей ста-

новится систолическая дисфункция [7]. Исследование метаболизма энергетического обмена *in vivo* показало, что общее содержание адениннуклеотидов было весьма близко к контрольным показателям, но отношение ФКр/АТФ было достоверно снижено на 37% за счет сниженного уровня фосфокреатина [8]. По той же причине снижено содержание общего креатина. Эти изменения сочетались со значительным увеличением содержания лактата в сердце.

Диастолическая упругость миокарда в физиологическом диапазоне длины саркомеров определяется состоянием титина, самого большого и эластичного белка в поперечно-полосатых мышцах позвоночных [9, 10]. Он связывается в А-зоне саркомеров с миозиновыми (толстыми) нитями. В I-диске саркомера некоторые участки титиновой молекулы могут взаимодействовать с актиновыми (тонкими) нитями, однако большая часть его молекулы в этой зоне проходит свободно, соединяя концы миозиновых нитей с Z-линией. Показано, что титин: является каркасом для сборки миозиновых нитей и саркомера; участвует в поддержании высокоупорядоченной саркомерной структуры и, вследствие этого, сократительной функции мышцы; участвует в контроле актин-миозинового взаимодействия [9]. В сердечной мышце титин существует в двух изоформах – более эластичной N2BA (имеющей более длинную растяжимую часть в I-диске саркомера) и более жесткой N2B (имеющей более короткую, более упругую и менее растяжимую часть в I-диске саркомера). Фосфорилирование титина и другие посттрансляционные модификации приводят к изменению его упруго-эластичных свойств [11]. Предполагается, что в комплексе с сигнальными белками титин играет роль сенсора растяжения и напряжения, участвуя в процессах внутриклеточной сигнализации, в частности, в регуляции экспрессии генов мышечных белков и белкового обмена в саркомере [9, 11]. В связи с этим обсуждается роль титина в формировании гипертрофического стимула. Соотношение N2BA/N2B варьирует в сердце млекопитающих: от наименьшего в миокарде мелких животных до наибольшего в миокарде крупных животных и человека [12]. В сердце крысы оно составляет примерно 20/80% [12].

Задача данной работы состояла в измерении содержания макроэргических фосфатов в миокарде крыс с одновременной характеристикой сократительной функции сердца, а также в определении содержания и уровня фосфорилирования изоформ титина после 4-х недель введения доксорубина, когда преобладает диастолическая дисфункция.

Материалы и методы

В работе использованы крысы-самцы линии Wistar весом 250–300 г. Все манипуляции с лабораторными животными производились в соответствии с Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными, с требовани-

ями этического комитета ФГБУ «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ и принципами национального стандарта ГОСТП 53434–2009. Доксорубин (2 мг/кг подкожно) вводили 20 крысам раз в неделю в течение 4-х недель, а 10 крысам – физиологический раствор. Перед началом введения доксорубина и через 4 недели у всех крыс под золепическим наркозом (5 мг/кг) выполняли трансторакальную эхокардиографию (ЭхоКГ) на аппарате фирмы VUJIFILM Visual Sonic модель Vevo 1100. Использовали линейный датчик 24–13 МГц, с максимальной глубиной лоцирования 30 мм. Измеряли диастолические и систолические размеры ЛЖ, на их основе рассчитывали объем в диастоле и систоле, а также фракцию выброса.

Катетеризация ЛЖ через правую сонную артерию была выполнена через 4 недели при помощи стандартного PV-катетера FTH-1912B-8018, усилителя ADV500 (Transonic, Канада) под золепическим наркозом (5 мг/кг). Использовали программное обеспечение этой фирмы, позволявшее рассчитывать более 20 параметров сократительной функции в ходе сердечного цикла. Помимо этих данных, рассчитывали индекс сократимости посредством деления максимальной скорости развития давления на величину давления в момент максимума скорости и индекс расслабления посредством деления максимальной скорости снижения давления на величину развиваемого давления.

Для изучения метаболического состояния сердца у наркотизированных животных, которым была выполнена только ЭхоКГ, делали торакотомию при искусственном дыхании и быстро замораживали сердца *in situ* щипцами Волленбергера, охлажденными в жидком азоте. Замороженную ткань гомогенизировали в холодной 6% HClO₄ (10 мл/г ткани) в гомогенизаторе Ultra-Turrax T-25 (IKA-Labortechnik, Германия). Белки осаждали центрифугированием (центрифуга Sorvall RT1, Thermo Fisher Scientific, США) при 2800×g в течение 10 мин при 4°C. Супернатанты нейтрализовали 5 M K₂CO₃ до pH 7,4. Осадок KClO₄ отделяли центрифугированием в тех же условиях. Безбелковые экстракты хранили при -20°C до определения метаболитов. Сухой вес гомогенизированной ткани определяли после высушивания образцов в течение суток при 110°C. Содержание метаболитов определяли энзиматическими методами [13] и выражали в мкмоль/г сухого веса.

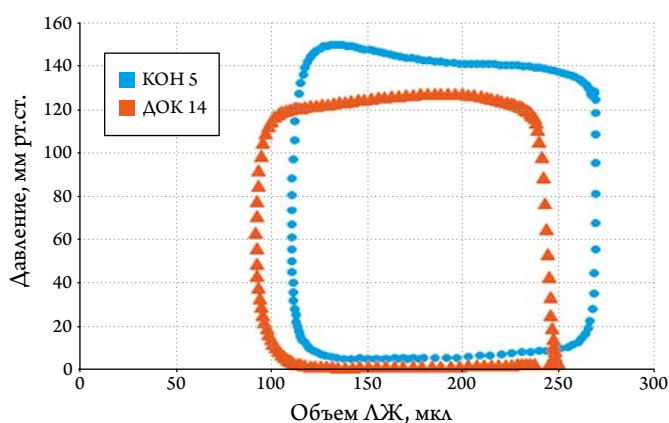
Определение изоформ титина выполняли в замороженных образцах миокарда, взятых после острого опыта. Для электрофоретического разделения высокомолекулярных изоформ титина в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) использовали крупнопористый 2,1–2,3% полиакриламидный гель с содержанием агарозы 0,5–0,6%, приготовленный по методу [14]. Гели, окрашенные Coomassie Brilliant Blue (G-250 и R-250, смешанные в соотношении 1:1), оцифровывали, а затем проводили денситометрическую обработку с помощью компьютерной

Таблица 1. Результаты эхокардиографического исследования сердец крыс через 4 недели применения доксорубицина

Показатель	Контроль	ДОК	ДОК-СД
Число крыс	8	9	7
Вес крыс, г	343±7	330±13	309±19
КДР, мм	6,2±0,3	6,5±0,2	6,9±0,2*
КСР, мм	3,1±0,2	3,4±0,2	3,8±0,2*
КДО, мкл	251±16	274±16	292±11
КСО, мкл	86±11	100±8	147±9** ##
ФВ, %	67±3	64±2	49±1*** ###

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ достоверность различий по сравнению с контролем; ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$ достоверность различий по сравнению с ДОК. КДР – конечный диастолический размер ЛЖ, КСР – конечный систолический размер ЛЖ, КДО – конечный диастолический объем ЛЖ, КСО – конечный систолический объем ЛЖ, ФВ – фракция выброса ЛЖ, ДОК – без систолической дисфункции, ДОК-СД – систолическая дисфункция.

Рисунок 1. Соотношение «объем–давление» в ходе сердечного цикла в опыте на крысе из контрольной группы и животных, получавших доксорубицин в течение 4 недель



ЛЖ – левый желудочек сердца, КОН 5 – контрольное животное № 5, ДОК 14 – крыса, получавшая доксорубицин №14.

программы Total Lab v1.11. Содержание титина оценивали по отношению к содержанию тяжелых цепей миозина. Нативный уровень фосфорилирования белка в геле оценивали с помощью флуоресцентного красителя Pro-Q Diamond (Invitrogen) для фосфопротеинов. Белковые полосы, содержащие фосфат, были визуализированы с использованием системы Bio-Rad ChemiDoc Touch Imaging System. Затем гели окрашивали Coomassie Brilliant Blue G-250 и R-250, смешанные в соотношении 1:1, для контрольной оценки содержания белка.

Результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего значения ($M \pm SEM$). Для статистической обработки результатов измерений использовали вычислительные алгоритмы, предоставляемые программой GraphPad Prism (версия 8.0.1). Статистический пакет этой программы позволяет эффективно анализировать результаты множественных сравнений, выполняя как дисперсионный (ANOVA) анализ – применяли F-тест и Browne-

Forsythe тест, так и оценку достоверности различий средних величин измеряемых параметров, в том числе и с учетом множественности сравнений. При сравнении параметров по двум группам опытов использовали t-критерий Стьюдента, а для оценки различий по трем (или больше) группам – Tamhane T2 тест. Нормальность распределения значений измерявшихся параметров подтверждена результатами применения тестов Холмогорова–Смирнова и D'Agostino-Pearson.

Результаты

Эхокардиографическое исследование сердец 16 крыс, получавших доксорубицин, показало достоверное увеличение конечного диастолического размера на 8% и значительное увеличение конечного систолического объема – на 40%. Соответственно ФВ ЛЖ была снижена на 15%. Данная группа была неоднородной и по величине ФВ ЛЖ была разделена на две подгруппы – с нормальной ($n=9$) и сниженной ($n=7$) ФВ. В подгруппе с нормальной ФВ все параметры были близки к контрольным (табл. 1), а в подгруппе со сниженной ФВ было заметное увеличение конечного диастолического и конечного систолического размера. Эта подгруппа отличалась увеличением конечного систолического объема на 71%, что естественно отразилось на ФВ, она была снижена на 27%. Таким образом, эта подгруппа может рассматриваться, как животные с систолической дисфункцией ЛЖ.

Катетеризация ЛЖ показала, что параметры насосной функции – минутный объем, ударная работа, а также показатели сократимости в группе доксорубицина весьма близки к контрольным значениям. Единственным статистически значимым различием оказалось снижение индекса расслабления на 19% (табл. 2). Также следует отметить явное, хотя и статистически недостоверное, повышение диастолического давления. Эти признаки характерны для диастолической дисфункции. Кривые для петли «давление–объем» в типичных опытах представлены на рисунке 1. Петля для сердца из группы доксорубицина отражает меньшее развиваемое давление и сдвиг петли влево.

Измерение содержания метаболитов показало, что энергетическое состояние сердец крыс, получавших доксорубицин, весьма близко к таковому у контрольных животных (табл. 3). Отмечена тенденция к повышению уровня адениннуклеотидов и свободного креатина. Единственным статистически значимым отличием было более чем 5-кратное повышение содержания лактата в сердцах животных доксорубициновой группы. ЭхоКГ, выполненная у этих крыс перед замораживанием сердца, показала, что ФВ ЛЖ практически не отличалась от контрольных величин – $57 \pm 4\%$ и $69 \pm 4\%$ соответственно.

Содержание податливой изоформы титина N2BA к упругой изоформе N2B в контрольных опытах составляло 14/86%. В опытах на доксорубициновых крысах оно бы-

ло изменено в сторону преобладания податливой N2BA-изоформы; ее содержание составило $26 \pm 2\%$ (рис. 2).

Содержание самого титина было снижено незначительно, но содержание его протеолитических фрагментов (T2) увеличилось на 36%, что свидетельствует о более интенсивном метаболизме этого белка. Общий уровень фосфорилирования титина был увеличен на $50 \pm 16\%$ по сравнению с контролем. Степень фосфорилирования титина прямо коррелировала ($r=0,94$) с содержанием податливой изоформы титина N2BA и обратно – с содержанием упругой изоформы N2B.

Обсуждение

Через 4 недели применения доксорубина большинство крыс, как показали данные ЭхоКГ и катетеризации, имели диастолическую дисфункцию ЛЖ. Это совпадает с нашими прежними результатами, преобладание систолической дисфункции наступает в более поздние сроки [6, 7]. Диастолическая дисфункция имела характерные признаки – замедленное расслабление и повышенное давление в ЛЖ как в начале, так и в конце диастолы. Систолическая дисфункция характеризовалась увеличением размеров ЛЖ, но при относительно мало измененном диастолическом объеме. Эти данные позволяют предполагать ремоделирование камеры ЛЖ.

Состояние энергетического метаболизма при диастолической дисфункции ЛЖ в общем было близко к контрольным значениям. Ранее при изучении миокарда с систолической дисфункцией были обнаружены заметные изменения в системе фосфокреатин-креатин [8]. В данной работе при диастолической дисфункции эти показатели мало изменялись, но как и при систолической дисфункции, было значительно увеличено содержание лактата, причем в гораздо большей степени, чем при систолической дисфункции. Этот факт указывает на нарушения окислительного фосфорилирования и активацию анаэробного гликолиза.

Соотношение изоформ титина N2BA/N2B в наших опытах на контрольных крысах составляло 14/86% и было близко к величине в другой работе на крысах – 20/80% [12]. В миокарде крыс с доксорубиновой кардиомиопатией содержание более эластичной изоформы титина N2BA было повышено почти в 2 раза, что позволяет предполагать снижение диастолической упругости миокарда. Наряду с этим было отмечено значительное увеличение фосфорилирования титина (на 50%). Известно, что упруго-эластичные свойства титиновых молекул регулируются не только за счет изменения их длины в I-зоне саркомера, но и с помощью посттрансляционных модификаций [15]. Жесткость титиновых молекул может индуцироваться окислительным стрессом, возникающим при инфаркте миокарда, ожирении или сахарном диабете, что ухудшает диастолическую функцию ЛЖ. Это связано с образованием дисульфидных связей в N2B-последовательности титина, что приводит

Таблица 2. Гемодинамика сердца крыс с диастолической дисфункцией (ДОК-ДД) через 4 недели применения доксорубина

Показатель	Контроль	ДОК-ДД
Число крыс	6	7
Частота сокращений сердца, уд/мин	384 ± 20	375 ± 17
Ударная работа, мм рт. ст. × мл/мин	$22,5 \pm 2,0$	$19,8 \pm 2,5$
Скорость выброса, мл/с	$5,0 \pm 0,7$	$4,5 \pm 0,4$
Объем ЛЖ в конце диастолы, мл	$0,31 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,03$
Объем ЛЖ в конце систолы, мл	$0,11 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,03$
Фракция выброса, %	61 ± 2	58 ± 4
Давление в ЛЖ в конце диастолы, мм рт. ст.	$2,8 \pm 0,6$	$5,6 \pm 1,8$
Минимальное давление в ЛЖ, мм рт. ст.	$1,0 \pm 1,2$	$2,2 \pm 1,8$
Максимальное давление в ЛЖ, мм рт. ст.	133 ± 5	128 ± 5
dP/dt max, мм рт. ст./с	$13\ 130 \pm 2\ 546$	$12\ 090 \pm 1\ 203$
dP/dt min, мм рт. ст./с	$10\ 940 \pm 2\ 476$	$8\ 480 \pm 956$
Ea, упругость сосудов, мм рт. ст./мл	$0,76 \pm 0,13$	$0,77 \pm 0,05$
Индекс сократимости, с ⁻¹	137 ± 9	130 ± 9
Индекс расслабления, с ⁻¹	83 ± 2	$67 \pm 6^*$
Константа времени расслабления, мс	$9,9 \pm 0,8$	$12,4 \pm 1,5$

* – $p < 0,05$ достоверность различий по сравнению с контролем.

Таблица 3. Энергетические метаболиты у крыс, получавших доксорубин 4 недели (исследование in situ)

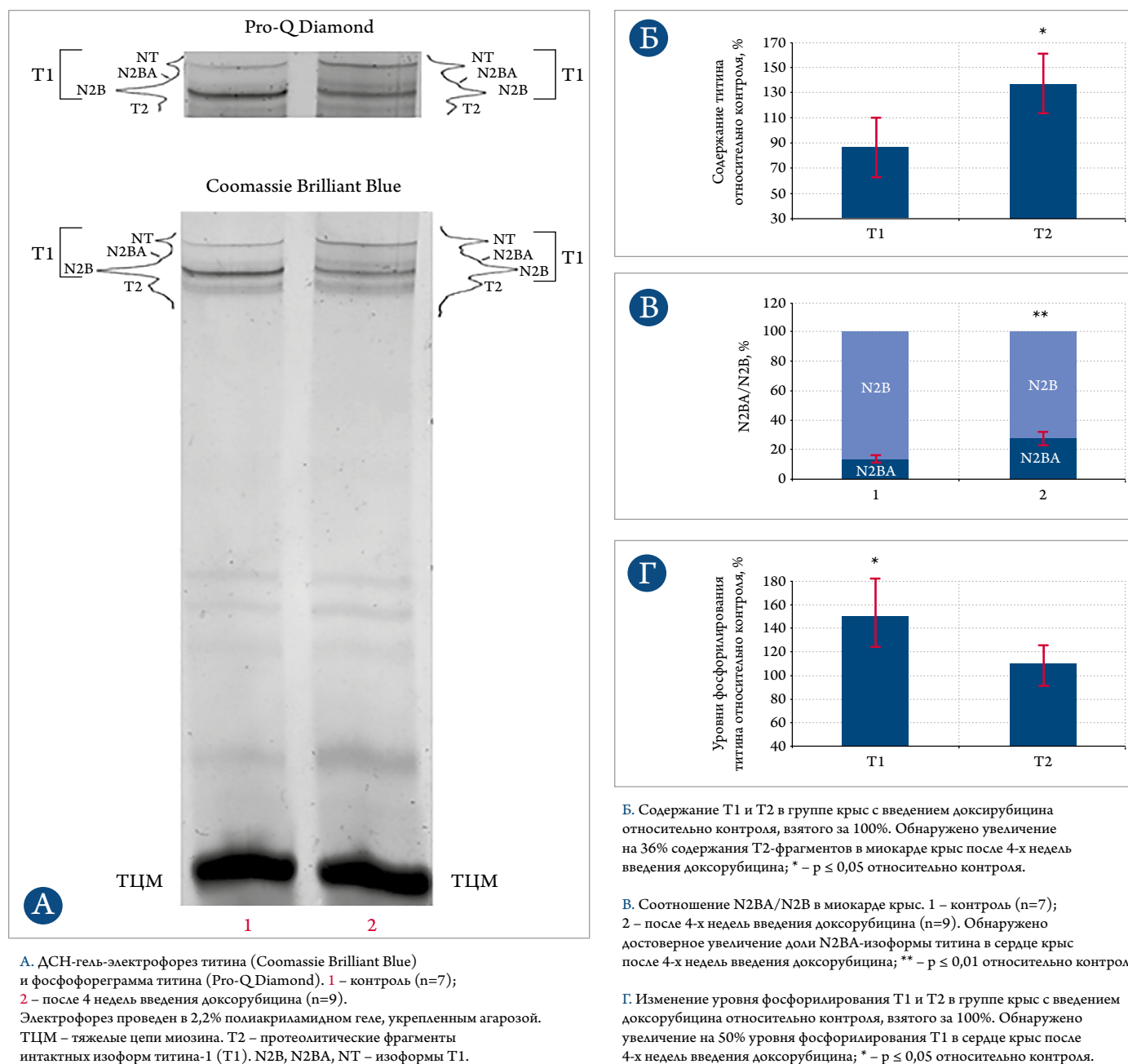
Показатель	Контроль	ДОК	% от контроля
Число крыс	7	6	–
АТФ	$14,6 \pm 0,8$	$16,8 \pm 2,7$	115
АДФ	$5,7 \pm 0,2$	$7,1 \pm 0,8$	125
АМФ	$1,3 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,3$	144
ΣАН	$21,6 \pm 0,9$	$25,8 \pm 3,4$	120
ЭЗ	$0,81 \pm 0,01$	$0,78 \pm 0,02$	97
ФКр	$27,2 \pm 1,6$	$25,8 \pm 4,4$	95
Кр	$39,2 \pm 1,6$	$47,5 \pm 5,7$	121
ΣКр	$66,4 \pm 3,2$	$73,3 \pm 8,6$	110
ФКр/АТФ	$1,87 \pm 0,08$	$1,58 \pm 0,17$	85
Лактат	$3,6 \pm 0,8$	$20,0 \pm 4,6^*$	552

* – $p < 0,05$ достоверность различий по сравнению с 4-недельным контролем. Содержание метаболитов выражено в мкмоль/г сухого веса ткани.

ΣАН – сумма адениннуклеотидов, ЭЗ – энергетический заряд (АТФ+0,5АДФ/ΣАН), ФКр – фосфокреатин, Кр – креатин свободный, ΣКр – общий креатин, АМФ – аденозинмонофосфат, АДФ – аденозиндифосфат, АТФ – аденозинтрифосфат.

к увеличению жесткости его молекулы. Повышенная жесткость титина может компенсироваться за счет обратимого S-глутатионилирования цистеинов в развернутых (за счет увеличения нагрузки на саркомер) Ig-доменах. Показано, что фосфорилирование N2B-участка циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) – зависимой или циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) – зависимой протеинкиназа-

Рисунок 2. Содержание и уровни фосфорилирования титина



ми уменьшает жесткость титиновой молекулы, в то время как фосфорилирование PEVK-последовательности (обогатенной остатками пролина, глутаминовой кислоты, валина и лизина) цАМФ-зависимой протеинкиназой увеличивает ее жесткость [15].

В нашем исследовании обнаружено увеличение на 50% общего уровня фосфорилирования титина, что не позволяет определить, какие именно части молекулы титина подверглись фосфорилированию. Однако сильная корреляция ($r=0,94$) между степенью фосфорилирования титина и уменьшением доли его упругой N2B-изоформы позволяет предполагать, что фосфорилирование направлено на снижение жесткости молекул титина.

Эти результаты получены впервые. Они показывают, что при диастолической дисфункции происходит замедление

расслабления, сочетающееся с повышением диастолического давления, мобилизацией анаэробного гликолиза и увеличением растяжимости титина.

Анализ известных данных о соотношении N2BA/N2B при различных видах кардиомиопатии показывает широкую вариабельность при разных моделях патологии. Повышенное соотношение N2BA/2B характерно для дилатационной кардиомиопатии, хронической ишемической кардиомиопатии и ХСН со сниженной ФВ [16], а пониженное – при концентрической кардиомиопатии или артериальной гипертензии [17]. Эти данные показывают, что в ситуациях, когда требуется мобилизация растяжения, соотношение сдвигается в сторону N2BA, а когда требуется усиление сокращений, преобладает увеличение изоформы N2B. Это соотношение может изменяться противоположным образом в динамике

ХСН, вызванной постоянной электростимуляцией с высокой частотой – через 2 недели оно повышалось [18], способствуя улучшению наполнения ЛЖ, но через 4 недели снижалось [19], что благоприятствует развитию силы.

Заключение

Таким образом, титин становится перспективной молекулярной мишенью для терапевтических вмешательств с целью улучшения растяжимости саркомеров и тем самым – улучшения наполнения ЛЖ.

Выводы

- 1) Введение доксорубина крысам в течение 4-х недель в большинстве опытов вызывало диастолическую дисфункцию, диагностированную при катетеризации ЛЖ.
- 2) В этой группе содержание адениннуклеотидов и фосфокреатина в миокарде мало отличалось от нормаль-

ных показателей, но содержание лактата было повышено многократно.

- 3) Соотношение эластичной N2BA-изоформы титина к более жесткой форме N2B, составлявшее в контрольных опытах 14/86%, изменилось до 26/74% при диастолической дисфункции.
- 4) Повышенное на 50% фосфорилирование титина прямо коррелировало ($r=0,94$) с увеличением N2BA-изоформы и уменьшением N2B-изоформы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-015-00271.

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Статья поступила 26.03.19

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ageev F. T. Diastolic heart failure: 10 years of knowledge. Russian Heart Failure Journal. 2010;11 (1):69–76. [Russian: Агеев Ф. Т. Диастолическая сердечная недостаточность: 10 лет знакомства. Журнал Сердечная Недостаточность. 2010;11(1):69-76]
2. Van Heerebeek L, Borbély A, Niessen HWM, Bronzwaer JGF, van der Velden J, Stienen GJM et al. Myocardial Structure and Function Differ in Systolic and Diastolic Heart Failure. Circulation. 2006;113(16):1966–73. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.587519
3. Gladden JD, Linke WA, Redfield MM. Heart failure with preserved ejection fraction. Pflügers Archiv - European Journal of Physiology. 2014;466(6):1037–53. DOI: 10.1007/s00424-014-1480-8
4. Yeh ETH, Tong AT, Lenihan DJ, Yusuf SW, Swafford J, Champion C et al. Cardiovascular Complications of Cancer Therapy: Diagnosis, Pathogenesis, and Management. Circulation. 2004;109(25):3122–31. DOI: 10.1161/01.CIR.0000133187.74800.B9
5. Mitry MA, Edwards JG. Doxorubicin induced heart failure: Phenotype and molecular mechanisms. IJC Heart & Vasculture. 2016; 10:17–24. DOI: 10.1016/j.ijcha.2015.11.004
6. Lakomkin V.L., Abramov A.A., Gramovich V.V., Vyborov O.N., Lukoshkova E.V., Ermishkin V.V. et al. Relationship between diastolic and systolic myocardial dysfunction at doxorubicin cardiomyopathy. Russian Cardiology Bulletin. 2018;13 (2):48–52. [Russian: Лакомкин В. Л., Абрамов А. А., Грамович В. В., Выборов О. Н., Лукошкова Е. В., Ермишкин В. В. и др. Соотношение диастолической и систолической дисфункции миокарда при доксорубициновой кардиомиопатии. Кардиологический вестник. 2018;13(2):48-52]
7. Lakomkin V.L., Abramov A.A., Gramovich V.V., Vyborov O.N., Lukoshkova E.V., Ermishkin V.V. et al. The Time Course of Formation of Systolic Dysfunction of the Heart in Doxorubicin Cardiomyopathy. Kardiologiya. 2017;57 (1):59–64. [Russian: Лакомкин В. Л., Абрамов А. А., Грамович В. В., Выборов О. Н., Лукошкова Е. В., Ермишкин В. В. и др. Динамика формирования систолической дисфункции сердца при доксорубициновой кардиомиопатии. Кардиология. 2017;57(1):59-64]
8. Studneva I.M., Lakomkin V.L., Prosvirnin A.V., Abramov A.A., Veselova O.M., Pisarenko O.I. et al. Energy state of myocardium in systolic dysfunction. Russian Cardiology Bulletin. 2018;13(3):31–4. [Russian: Студнева И.М., Лакомкин В.Л., Просвирнин А.В., Абрамов А.А., Веселова О.М., Писаренко О.И. и др. Энергетический статус миокарда при систолической дисфункции. Кардиологический вестник. 2018;13(3):31-4]. DOI: 10.17116/Cardiobulletin20181303131
9. Linke W. Sense and stretchability: The role of titin and titin-associated proteins in myocardial stress-sensing and mechanical dysfunction. Cardiovascular Research. 2008;77(4):637–48. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.03.029
10. Guo W, Sun M. RBM20, a potential target for treatment of cardiomyopathy via titin isoform switching. Biophysical Reviews. 2018;10(1):15–25. DOI: 10.1007/s12551-017-0267-5
11. Yakupova E.L., Vikhlyantsev I.M., Lobanov M.Y., Galzitskaya O.V., Bobylev A. G. Amyloid properties of titin. Biochemistry (Moscow). 2017;82 (13):1675–85. [Russian: Якупова Э. И., Вихлянцева И. М., Лобанов М. Ю., Галзитская О. В., Бобылев А. Г. Амилоидные свойства титина. Биохимия. 2017;82(13):1675-85]. DOI: 10.1134/S0006297917130077
12. Neagoe C, Opitz CA, Makarenko I, Linke WA. Gigantic variety: expression patterns of titin isoforms in striated muscles and consequences for myofibrillar passive stiffness. Journal of Muscle Research and Cell Motility. 2003;24(2–3):175–89. DOI: 10.1023/A:1026053530766
13. Bergmeyer HU, Gawehn K. Methods of enzymatic analysis. Volume 2. – Weinheim; New York: Verlag Chemie ; Academic Press;1974. – 2127–2131 p. ISBN 978-0-323-16137-4
14. Vikhlyantsev IM, Podlubnaya ZA. Nuances of electrophoresis study of titin/connectin. Biophysical Reviews. 2017;9(3):189–99. DOI: 10.1007/s12551-017-0266-6
15. Hamdani N, Herwig M, Linke WA. Tampering with springs: phosphorylation of titin affecting the mechanical function of cardiomyocytes. Biophysical Reviews. 2017;9(3):225–37. DOI: 10.1007/s12551-017-0263-9
16. Makarenko I, Opitz CA, Leake MC, Neagoe C, Kulke M, Gwathmey JK et al. Passive Stiffness Changes Caused by Upregulation of Compliant Titin Isoforms in Human Dilated Cardiomyopathy Hearts. Circulation Research. 2004;95(7):708–16. DOI: 10.1161/01.RES.0000143901.37063.2f
17. Hamdani N, Bishu KG, von Frieling-Salewsky M, Redfield MM, Linke WA. Deranged myofilament phosphorylation and function in experimental heart failure with preserved ejection fraction. Cardiovascular Research. 2013;97(3):464–71. DOI: 10.1093/cvr/cvs353
18. Bell SP, Nyland L, Tischler MD, McNabb M, Granzier H, LeWinter MM. Alterations in the Determinants of Diastolic Suction During Pacing Tachycardia. Circulation Research. 2000;87(3):235–40. DOI: 10.1161/01.RES.87.3.235
19. Wu Y, Bell SP, Trombitas K, Witt CC, Labeit S, LeWinter MM et al. Changes in Titin Isoform Expression in Pacing-Induced Cardiac Failure Give Rise to Increased Passive Muscle Stiffness. Circulation. 2002;106(11):1384–9. DOI: 10.1161/01.CIR.0000029804.61510.02