

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

СЕМЕНЕЦ ИННА АЛЕКСАНДРОВНА

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ И
УБИХИНОНА НА МЕТАБОЛИЗМ МЫШЦ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИЕМЕ
СТАТИНОВ**

1.5.4. Биохимия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

Микашинович Зоя Ивановна

Ростов-на-Дону – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ		4
ГЛАВА 1.	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1.	Статины: структура, биохимические функции, применение в медицине	13
1.2.	Убихинон (кофермент Q ₁₀): структура, биохимические функции, применение в медицине	19
1.3.	Липоевая кислота: структура, биохимические функции, применение в медицине	27
ГЛАВА 2.	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1.	Краткая характеристика экспериментального материала	35
2.2.	Биохимические методы исследования	39
2.2.1.	Фракционирование субклеточных структур мышцы и эритроцитов	39
2.2.2.	Определение содержания метаболитов гликолиза	40
2.2.3.	Определение активности ферментов дыхательной цепи и системы глутатиона	41
2.3.	Статистическая обработка экспериментальных данных	42
ГЛАВА 3.	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЖИВОТНЫХ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СИМВАСТАТИНА	43
3.1.	Длительное введение симвастатина (Зокор [®])	43
3.2.	Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией	46
3.3.	Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина (Зокор [®])	48
ГЛАВА 4.	ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИИ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЖИВОТНЫХ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СИМВАСТАТИНА В СОЧЕТАНИИ С УБИХИНОНОМ	56

4.1.	Группа, получавшая длительное время симвастатин (Зокор [®]) и убихинон (Кофермент Q ₁₀)	56
4.2.	Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном сочетанном введении симвастатина (Зокор [®]) и убихинона (Кофермент Q ₁₀)	60
ГЛАВА 5.	ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЖИВОТНЫХ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СИМВАСТАТИНА В СОЧЕТАНИИ С ЛИПОВОЙ КИСЛОТОЙ	68
5.1.	Длительное введение симвастатина (Зокор [®]) и липоевой кислоты (Тиоктацид [®] БВ)	68
5.2.	Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном сочетанном введении симвастатина (Зокор [®]) и липоевой кислоты (Тиоктацид [®] БВ)	72
ГЛАВА 6.	ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЭРИТРОЦИТАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ДО И ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ	78
6.1.	Метаболические изменения в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина (Зокор [®])	78
6.2.	Метаболические изменения в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина (Зокор [®]) в сочетании с убихиноном (Кофермент Q ₁₀)	84
6.3.	Метаболические изменения в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина (Зокор [®]) в сочетании с липоевой кислотой (Тиоктацид [®] БВ)	89
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	95
	ВЫВОДЫ	106
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	108
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	109
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	111
	ПРИЛОЖЕНИЯ	128

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Активное внедрение фармакологической группы «статины» в клиническую практику, как высокоэффективных гиполипидемических лекарственных средств, стало возможным благодаря широкомасштабным исследованиям, свидетельствующим о снижении риска эндоваскулярной патологии и высокой их эффективности с точки зрения удлинения продолжительности жизни пациентов (Сусеков А.В., Горнякова Н.Б., Зубарева М.Ю., Бойцов С.А., 2010; Алексанян Л.А., Силина Е.Г., 2011; Мишланов В.Ю., Туев А.В., Черешнев В.А., 2018). В то же время среди накапливающейся информации о позитивном действии препаратов появляются сведения о достаточно серьезных побочных эффектах статинов, возникающих при длительном их применении, вплоть до развития миопатии (Evans M., Rees A., 2002; Sewright K.A., Clarkson P.M., Thompson P.D., 2007; Patel J., Martin S.S., Vanach M., 2016; Дядык А.И., Куглер Т.Е., Зборовский С.Р., Сулиман Ю.В., 2019).

Особый интерес представляют данные о том, что одним из побочных эффектов приема статинов является митохондриальная дисфункция, проявляющаяся в нарушениях когнитивных способностей и проведении нервных импульсов (Harper C.R., Jacobson T.A., 2007; Toth P.P., Harper C.R., Jacobson T.A., 2008; Golomb V.A., Evans M.A., 2008; Бельских Э.С., Звягина В.И., Урясьев О.М., 2016; Мельник А.А., 2019).

В настоящее время становление термина «митохондриальная дисфункция» находится в стадии формирования проблемы, а вопросы ее коррекции нуждаются в глубоком анализе. Нарушение функции дыхательной цепи и образование активных форм кислорода в сочетании со снижением эффективности функционирования антиоксидантной защиты может явиться пусковым механизмом при формировании побочных явлений при длительном приеме статинов (Бельских Э.С., Звягина В.И., Урясьев О.М., 2016; Литовский И.А., Гордиенко А.В., Сотников А.В., 2019).

В проведенных ранее исследованиях при экспериментальной гиперхолестеринемии с длительным введением статинов выявлены в мышечных тканях дистрофические изменения, документирующиеся снижением уровня титина и небулина на фоне гипоксических сдвигов и нарушением кислородтранспортной функции крови (Виноградова Е.В., 2020).

Рядом авторов выдвинуто предположение о том, что снижение внутримышечного содержания убихинона является пусковым механизмом, приводящим к развитию миопатий, полагая, что статины оказывают влияние на биосинтез холестерина, блокируют мевалонатный путь и тем самым нарушают синтез убихинона (Sewright K.A., Clarkson P.M., Thompson P.D., 2007; Горошко О.А., Красных Л.М., Кукес В.Г., Зозина В.И., 2019). В тоже время убедительные результаты о роли коэнзима Q₁₀ при статинотерапии, полученные как в клинических условиях, так и в эксперименте, в настоящее время отсутствуют (Caso G., Kelly P., McNurlan M.A., Lawson W.E., 2007; Драпкина О.М., Чернова Е.М., Корнеева О.Н., 2012; Langsjoen P.H., Langsjoen J.O., Langsjoen A.M., 2019).

Известно, что липоевая кислота является необходимым кофактором для множества митохондриальных ферментов в процессах анаболизма и катаболизма α-кетокислот и аминокислот. Она участвует в обменных процессах клеток, в ряде случаев выполняя функцию убихинона в комплексах превращений веществ. Кроме этого, обладая антиоксидантным действием, защищает клетки от свободных радикалов, взаимодействуя и поддерживая эндогенный глутатион. Липоевая кислота дает положительные результаты при хронических заболеваниях, связанных с оксидативным стрессом, лечении патологии сердечно-сосудистой системы, а также выявлена ее эффективность в лечении заболеваний печени, полинейропатий и алкогольных нейропатий (Шульпекова Ю.О., Ивашкин В.Т., 2000; Holmquist L., Stuchbury G., Verbaum K. [et al.], 2007; Maczurec A., Hager K., Kenklies M. [et al.], 2008; Liu J., 2008; Аметов А.С., Косян А.А., 2020). Снижение лекарственной гепатотоксичности на фоне приема α-липоевой кислоты результативно подтверждено в экспериментальных

исследованиях на животных (Молчанова О.В., Кочкаров В.И., Покровский М.В. [и др.], 2012; Тутельян В.А., Махова А.А., Погожева А.В. [и др.], 2019).

Исходя из вышесказанного, перспективным является сравнительный анализ влияния естественных метаболитов на внутриклеточные процессы, происходящие в мышечных тканях при длительном приеме статинов. А также выбор наиболее результативного корректора, способного стабилизировать молекулярные механизмы при статиновой миопатии и снизить риск поражения мышц.

Степень разработанности темы. Анализ данных литературы, полученных в клинике при лечении статинами разных заболеваний (гипертония, ишемическая болезнь сердца и др.), указывает на возможность оптимизации состояния больных на фоне приема кофермента Q₁₀ (Доценко Н.Я., Малахова С.Н., 2008; Юбицкая Н.С., Антонюк М.В., Янькова В.И., 2012, 2013; Горошко О.А., Красных Л.М. [и др.], 2019) и липоевой кислоты (Гридасова Р.А., Микашинович З.И. [и др.], 2012; Шурдумова М.Х., 2017; Тютюмова Е.А., Соловьева Э.Ю. [и др.], 2019). Конкретные механизмы, позволяющие провести выбор наиболее оптимального корректора или их комбинации, сроков действия, остаются недостаточно изученными.

По-видимому, это связано с особенностями проведения исследований на клиническом материале, имеющем свои ограничения. Интерес представляют экспериментальные исследования, выполненные на культуре мышечных клеток, в которых отмечается положительный эффект при совместном применении кофермента Q₁₀ и липоевой кислоты для восстановления структурного статуса миоцитов, однако авторы ставят вопрос о выявлении влияния каждого метаболита (Hua Qu, Ming Guo, Hua Chai [et al.], 2018).

Совершенно очевидно, что понимание механизмов действия препаратов - корректоров в процессе статиновой терапии возможно при изучении отдельно каждого из них для определения точек приложения и особенностей изменения метаболической ситуации. Выяснение метаболической основы действия корректоров обосновывает перспективы разработки новых способов оптимизации

кислородзависимых процессов с использованием клеток крови, как индикаторов отражающих состояние организма.

Цель исследования - оценить перспективность применения естественных метаболитов (убихинона и липоевой кислоты) для коррекции кислородзависимых метаболических сдвигов в мышечной ткани и эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, длительно получавших симвастатин.

Задачи исследования:

1. Проанализировать метаболические изменения в мышцах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией;
2. Выявить метаболические изменения в мышцах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина;
3. Установить особенности изменения метаболических процессов в мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при одновременном введении симвастатина и убихинона;
4. Выяснить особенности изменения метаболических процессов в мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при одновременном введении симвастатина и липоевой кислоты;
5. Определить особенности метаболических изменений в эритроцитах экспериментальных животных до и после коррекции убихиноном и липоевой кислотой;
6. На основе проведенной оценки действия убихинона и липоевой кислоты, выделить информативные звенья, отражающие специфические особенности каждого корректора при длительной статиновой терапии, разработать способ оптимизации кислородзависимых процессов при длительной статиновой терапии.

Научная новизна исследования. При выполнении диссертационного исследования впервые:

1. Все исследования проведены на новой модели эссенциальной гиперхолестеринемии, позволившей повысить адекватность характерной метаболической картины;

2. Установлена роль митохондриальной дисфункции как ведущего патогенетического фактора в формировании побочных эффектов статиновой терапии;

3. Подтверждена информативность ключевых звеньев обмена веществ: дыхательных ферментов в митохондриях мышц, показателей глутатионового обмена, заключительных этапов углеводного метаболизма в мышцах и эритроцитах для выявления точек повреждения и обоснована возможность коррекции выявленных сдвигов природными метаболитами;

4. Выявлена разная способность метаболитов-корректоров (липоевой кислоты и убихинона) модулировать ход обменных процессов при длительном применении статинов.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость работы заключается в анализе активности компонентов дыхательной цепи митохондрий в комплексе с ферментами углеводного обмена и антиоксидантной защиты в мышечной ткани и эритроцитах при статиновой терапии и сочетанном введении убихинона (кофермента Q₁₀) или липоевой кислоты. Полученные результаты позволили оценить эффективность применения естественных метаболитов и преимущество использования того или иного корректора при длительном применении статинов.

Полученные данные в диссертационной работе вносят вклад в представление о роли «митохондриальной дисфункции» в патогенезе осложнений статиновых терапий.

Практическая значимость исследования состоит в предложении использовать способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии (патент на изобретение № 2733693 от 06.10.2020 г.). Данные исследования могут быть использованы для разработки способов оптимизации в перестройки

метаболических процессов направленных на устранение побочных эффектов статинов.

Методология и методы исследования. Диссертационная работа выполнена в рамках научного исследования кафедры общей и клинической биохимии №1 - «Молекулярные механизмы адаптации и повреждения, разработка способов диагностики и оценки эффективности терапии в эксперименте и клинике при социально значимых заболеваниях и критических состояниях», представляя собой экспериментальное исследование. Для достижения цели исследования - оценки перспективности применения естественных метаболитов (убихинона и липоевой кислоты) для коррекции метаболических сдвигов в мышечной ткани и эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, длительно получавших симвастатин, использовали совокупность методов научного познания, таких как наблюдение, сравнение, моделирование. Для реализации задач диссертационного исследования, использовали препараты: симвастатин («Зокор[®], 20 мг»), липоевая кислота («Тиоктацид[®] БВ, 600 мг») и убихинон («Кофермент Q₁₀ (CoQ10), 30 мг»). Исследование проводили на 210 беспородных крысах-самцах, которые в процессе эксперимента были распределены на группы, в соответствии с разработанным соискателем дизайном. Диссертационная работа выполнена с использованием актуальных методов исследования: биохимических, физико-химических, инструментальных, статистических. Выбранные для анализа показатели исследования, а также научная систематизация и интерпретация полученных результатов, позволили сделать экспериментально обоснованные выводы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Введение в схему статиновой терапии метаболических корректоров сопровождается достоверными изменениями ключевых звеньев углеводного обмена, что документируется значимыми изменениями уровня пирувата и лактата под действием липоевой кислоты в сравнении с убихиноном.

2. После коррекции метаболических сдвигов липоевой кислотой активация дыхательных ферментов (сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы) в мышцах выражена в большей степени, чем при введении убихинона.

3. Реакции глутатионового звена антиоксидантной защиты сбалансированы в большей степени в мышцах при включении в терапевтический комплекс липоевой кислоты в отличие от действия убихинона, что подтверждалось синхронным ростом уровня восстановленного глутатиона и активностью глутатионпероксидазы.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных результатов диссертационной работы подтверждается достаточным объемом выборки в эксперименте, использованием современного оборудования и реактивов, применением актуальных биохимических методов исследования, которые соответствуют поставленным цели и задачам. Сформулированные выводы подкреплены фактическими данными, полученными при проведении исследования, и наглядно представлены в приведенных таблицах и рисунках.

Для статистической обработки полученных результатов в экспериментальном исследовании применяли программы STATISTICA 10.0 и Microsoft Office Excel Worksheet.

Материалы и основные положения диссертационной работы представлены и обсуждены: на International Symposium «Biological motility» (Pushchino, 2016), на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Scientific bases of development and realization of modern technologies of health protection» (Прага, 2016); на XXI Международной заочной научно-практической конференции «Современные тенденции развития науки и технологии» (Белгород, 2016); на XI международной научно-практической конференции «Fundamental and applied sciences today XI» (USA, 2017); на XVI Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов-на-Дону, 2017); на 5-ой итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2018);

на XVII Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов-на-Дону, 2018); на 6-ой итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2019); на XXVIII Международная научно практическая конференция «Российская наука в современном мире» (Москва, 2020); на XIV Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении - дни лабораторной диагностики на Дону» (Ростов-на-Дону, 2020).

Апробация диссертации состоялась на заседании научно-координационного совета «Медико-биологические проблемы» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 3 от 29.01.2021 г.).

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры общей и клинической биохимии №1 (акт внедрения от 11.01.2021 г.) и кафедры фармакологии и клинической фармакологии (акт внедрения от 12.01.2021 г.) ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Результаты проведенного исследования могут быть использованы при разработке способов оптимизации в перестройки метаболических процессов направленных на устранение побочных эффектов статинов в практической деятельности кардиологии и клинической фармакологии.

Публикации результатов исследования. По теме диссертационной работы опубликовано 20 печатных работ, из них 5 - в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора

наук и издания, приравненные к ним, в том числе получено 2 патента на изобретение.

Личный вклад автора в исследование. Личный вклад автора заключался в формулировании цели и задач диссертации (85%), ведении научно-информационного поиска, анализа и обобщения, данных для обзора литературы (95%), в постановке экспериментальной части работы с животными, забора биоматериала и его анализу с использованием актуальных биохимических методов (85%). А также в выполнении статистической обработки полученных результатов исследования, подготовке иллюстрированного материала и текста диссертации, тезисов, статей и патентов на изобретения (90%).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 133 страницах, содержит введение, обзор литературы, подробно изложены материалы и методы проведенного исследования, четыре главы собственных исследований, отражающие полученные данные в работе и их обсуждение, завершается заключением и выводами, полученными на основании результатов исследования. Кроме этого, в работе представлен список сокращений и условных обозначений, список литературы, иллюстрационный материал, таблицы и приложения. Диссертация иллюстрирована 10 таблицами и 33 рисунками. Библиография представлена ссылками на 143 литературных источников (74 отечественных и 69 зарубежных авторов).

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Статины: структура, биохимические функции, применение в медицине

Статины представляют собой группу гиполипидемических веществ, которые ингибируют ГМК-КоА-редуктазу, являющуюся одним из основных ферментов синтеза холестерина. Статины могут быть, как указывают И.Г. Гордеев и Е.О. Таратухин, природного происхождения, полученные при ферментации рифомицетов - это симвастатин, ловастатин, правастатин (Гордеев И.Г., Таратухин Е.О., 2016). Также статины могут быть синтезированы искусственно - это аторвастатин, флювастатин, церивастатин и розувастатин. Статины имеют общую химическую структуру, но заместители могут быть разными (рисунок 1):

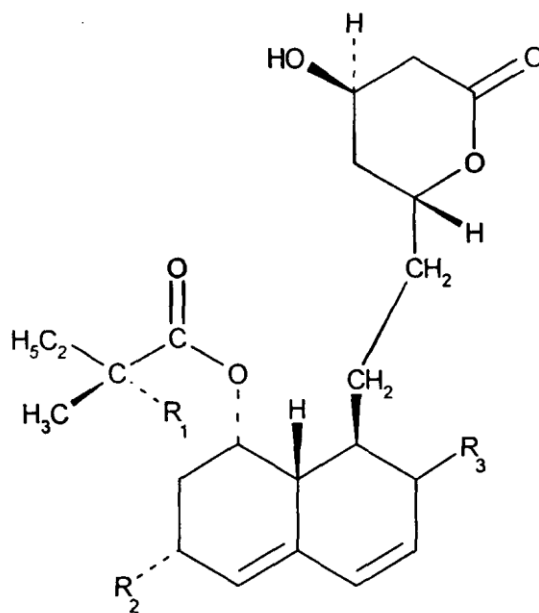


Рисунок 1 – Общая структура статинов

По данным В.Н. Титова и др. статины способны обратимо ингибировать активность ГМГ -КоА-редуктазы при биотрансформации ГМГ-КоА в L-мевалоновую кислоту, что приводит к нарушению процесса биосинтеза холестерина гепатоцитами (Титов В.Н., Малышев П.П. [и др.], 2015;

Смирнова М.Д., Агеев Ф.Т., 2017). Снижение выработки холестерина, в свою очередь, повышает «плотность» и активность ЛПНП-рецепторов, которые удаляются из плазмы крови. Также может происходить захват их предшественников – ЛПОНП и ЛППП. Таким образом, статины снижают концентрацию ЛПНП и ЛПОНП, способствуя повышению концентрации ЛПВП, обладающих антиатерогенным эффектом. Поскольку статины действуют на ранние этапы синтеза холестерина, то их применение не допускает выработки токсичных и канцерогенных стиролов (Сусеков А.В., Горнякова Н.Б., Зубарева М.Ю., 2010). Также статины достоверно препятствуют образованию промежуточных продуктов биосинтеза холестерина, способствующих модификации белков, отвечающих за апоптоз, митогенез, пролиферацию клеток, чем объясняют другие эффекты статинов, помимо воздействия на синтез холестерина (Gillett Jr R.C., Norrell A., 2011).

Статины принято назначать для перорального применения в вечернее время (время максимальной выработки холестерина). Биодоступность статинов составляет более 70 %. По данным Н.Б. Губергриц печень захватывает статины при первом прохождении и, так как статины являются пролекарствами, метаболизирует их в активные действующие вещества, из которых не более 5 % в активном виде достигают кровотока (Губергриц Н.Б., Ларева Н.В., Клочков А.Е., 2014). Попадая в кровеносную систему, статины на 95 % связываются белками крови, что при попадании их в другие органы, делает их практически безопасными (Смирнова М.Д., Агеев Ф.Т., 2017).

Статины обладают накопительным эффектом, и от их применения выраженный результат наблюдается на четвертую неделю начала лечения возрастающими дозами (Титов В.Н., 2015).

По мнению Драпкиной О.М. прием статинов носит скорее функциональный эффект, а не морфологический при оказании фармакологического воздействия на венечные артерии (Драпкина О.М., 2012).

При миграции циркулирующих лейкоцитов через эндотелий в интиму артерий накапливаются воспалительные клетки, которые инициируют образование

клеточных молекул адгезии. При ингибировании ГМК-КоА-редуктазы экспрессия этих молекул на поверхности эндотелия и их контрлигандов на мембране лейкоцитов снижается, соответственно, адгезия лейкоцитов к стенкам артерий также уменьшается, равно как их трансэндотелиальная миграция (Шальнова С.А., Деев А.Д., Метельская В.А. [и др.], 2016).

Статины применяются при терапии наследственных нарушений липидного обмена, в частности – семейной гиперхолестеринемии (ГХС) (Ежов М.В., Сергиенко И.В., Рожкова Т.А. [и др.], 2016). Поскольку ГХС представляет собой наследственное моногенное заболевание, передающееся по аутосомно-доминантному типу без сцепления с полом, то оно будет проявляться в любом случае наследования дефектного гена. Это заболевание характеризуется тем, что рецепторы ЛПНП либо практически не функционируют, что дает повышение холестерина в 4-5 раз выше нормы, либо работает не более 50 % рецепторов, что дает превышение нормы содержания холестерина в крови в два раза. Это провоцирует раннее развитие ишемической болезни сердца и атеросклероза, и при гомозиготной форме и нефункционирующих рецепторах пациент может погибнуть в возрасте 20-30 лет при отсутствии терапии. При гетерозиготной форме болезни и половине функционирующих рецепторов прогноз более благоприятный.

Один из вариантов ГХС – это дефект кодирующего белок аполипопротеина (апоВ-100) гена, при котором белок не способен функционировать в полном объеме, и частицы ЛПНП не могут нормально связываться рецепторами печеночной клетки, и, соответственно, накапливаются в крови (Ежов М.В., Сергиенко И.В., Рожкова Т.А. [и др.], 2016).

Статины применяются в комплексной терапии полигенной гиперхолестеринемии, при которой точно невозможно установить тип дефекта генов и способ наследования, провоцирующих развитие дислипидемии.

Как отмечает коллектив авторов (Ежов М.В., Сергиенко И.В., Рожкова Т.А. [и др.], 2016), после завершения рандомизированного исследования с двойным слепым контролем и контролем плацебо-эффекта, наибольшую активность

показали при терапии различных типов ГХС два статина – аторвастатин и симвастатин. Их высокая активность в отношении снижения ЛПНП и хорошая переносимость препаратов пациентами дают возможность разрабатывать новые перспективные направления в области применения статинов для лечения других типов дислипидемий.

Как пишет С.Р. Гиляревский и др. при лечении дислипидемий у пациентов с сахарным диабетом II типа, терапия базируется на принципе снижения уровня ЛПНП. В связи высокой вероятностью развития сердечной ишемии, таким пациентам требуется терапия, направленная на профилактику повышения в крови уровня ЛПНП, как и при непосредственном лечении заболевания (Гиляревский С.Р., Голшмид М.В., Кузьмина И.М., 2017).

Доказательств относительно положительного применения статинов достаточно, гораздо меньше исследованы побочные эффекты, которые могут развиваться на фоне статиновой терапии. И в этом аспекте целесообразно обсудить результаты клинических и экспериментальных исследований по биохимическим изменениям в органах и тканях с целью выявления наиболее уязвимых участков метаболизма и последующей разработке эффективных моделей коррекции.

Одним из осложнений при статиновой терапии является увеличение уровня печеночных ферментов. В связи с этим, пациентов, принимающим длительными курсами препараты группы статинов, направляют на определение активности печеночных ферментов, которое далеко не полно отражает как исходное состояние больного, так и последствия проводимой терапии (Baays H., Cohen D.E., Chalasani N., Harrison S.A., 2014).

Кроме этого, одним из нерешенных вопросов при статиновой терапии является риск развития сахарного диабета 2 типа. Согласно 13 исследованиям терапии статинами Sattar и его коллег у 91140 пациентов отсутствовал клинический диагноз «сахарный диабет». После 4-х летнего мета-анализа в группах, принимавших участие в исследовании, у пациентов, получавших в терапию статинами, выявлен «сахарный диабет» у 2226 человек, в то время как в группе плацебо этот же диагноз подтвердился у 2052 человек (Sattar N., Preiss D.,

Murray H.M. [et al.], 2010). При этом важно отметить, что статистически значимых отличий не наблюдалось при сравнении результатов полученных при применении различных поколений фармакологической группы статинов (I поколение – симвастатин, ловастатин, правастатин, III – аторвастатин, IV – розувастатин). Авторы, проводившие мета-анализ, отметили, что практически у 6% лиц, принимавших участие в исследовании, снизился риск сердечно-сосудистых осложнений.

Таким образом, терапия статинами имеет как плюсы, так и минусы, проявляющиеся в развитии нарушения энергетического обмена на биохимическом уровне.

Важно отметить, что на сегодняшний день получены значимые свидетельства о связи статиновой терапии с развитием инсулиновой резистентности и новых случаях сахарного диабета, результаты которых нашли отражение в национальных Рекомендациях различных стран (Catapano A.L., Graham I., De Backer G. [et al.], 2016; Российские рекомендации РКО, НОА, РосОКР, 2017).

Есть указания на возможность развития когнитивной дисфункции при приеме липофильных препаратов, таких как симвастатин и аторвастатин. Необходимо учитывать, что возникающие осложнения могут влиять и на сопутствующие заболевания: депрессивные расстройства, пернициозные анемии, тиреотоксические состояния, аутоиммунные процессы, нейродегенеративные неврологические заболевания и другое (Rojas-Fernandez C.H., Goldstein L.B., Levey A.I. [et al.], 2014).

Статин-индуцированной миопатией или статин-ассоциированными мышечными симптомами обобщают все мышечные симптомы, возникающие при применении статинов (Fernandez G., Spatz E.S., Jablecki C., Phillips P.S., 2011; Петров В.И., Смусева О.Н., Соловкина Ю.В., 2012; Напалков Д.А., 2014; Banach M., Rizzo M., Toth P.P. [et al.], 2015; Thompson P.D., Panza G., Zaleski A., Taylor B., 2016). Сотрудники National Lipid Association Muscle Safety Expert Panel в понятие «статин-ассоциированные мышечные симптомы» включают: миалгии, миопатии, миозиты, мионекрозы и рабдомиолиз, а также выделяют «статин-

ассоциированную аутоиммунную миопатию», представляющую собой осложнение, протекающее высоко прогрессирующей степенью поражения мышц даже после отмены препарата (Rosenson R.S., Baker S.K., Jacobson T.A. [et al.], 2014).

Однако наиболее частым побочным эффектом, возникающим на фоне длительного лечения статинами, являются миопатии и рабдомиолиз. В 1-5 % клинических и в 11-29 % наблюдательных исследованиях чаще всего из признаков статиновых миопатий встречаются миалгии. Основной причиной низкого процента выявления статиновых миопатий в клинических исследованиях может быть связано с отсутствием анкет подходящих для анализа степени поражения мышечного аппарата (Phillips P.S., Haas R.H., Bannykh S. [et al.], 2002; El-Salem K., Ababneh B., Rudnicki S. [et al.], 2011; Cohen J.D., Brinton E.A., Matthew K.I., Jacobson T.A., 2012).

Чем больше в литературе накапливается материалов о широком спектре действия различных статинов, тем все острее стоит вопрос о событиях в организме, которые происходят при длительном их употреблении. На сегодняшний день имеются лишь отдельные исследования, посвященные этому вопросу.

В стартовых исследованиях сотрудников нашей лаборатории, проведенных в сыворотке крови и скелетных мышцах беспородных крыс-самцов при длительном применении статинов «Зокор[®], 20 мг» в эритроцитах наблюдались биохимические изменения, которые характеризовали развитие гипоксии (Микашинович З.И., Белоусова Е.С., 2016).

Очевидно, что дальнейшее перспективное использование статинов связано как с поиском безопасных способов снижения уровня холестерина, но и умением корректировать возможные осложнения при применении липофильных препаратов (симвастатин и аторвастатин), которые продолжают использоваться в клинической практике.

1.2. Убихинон (кофермент Q₁₀): структура, биохимические функции, применение в медицине

Коэнзим Q₁₀ получил название «вездесущий хинон», так как присутствует во всех микроорганизмах, грибах и эукариотических клетках растений (Shults C.W., Beal M.F., Song D.D., 2004; Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008).

Коэнзим Q₁₀ является витаминоподобным веществом, в синтезе его участвует аминокислота – тирозин, витамины группы В, аскорбиновая кислота, а также ряд микроэлементов. При изменении содержания вышеперечисленных компонентов, биосинтез убихинона нарушается, что приводит к его недостаточности в организме (Silvestri S., Orlando P., Armeni T. [et al.], 2015) (рисунок 2).



Рисунок 2 – Упрощенная схема биосинтеза убихинона в организме (Silvestri S., Orlando P., Armeni T. [et al.], 2015)

Фредериком К. (1957 г.) и группой исследователей выделен впервые «вездесущий хинон» из бычьего сердца (Захарова И.Н., Обычная Е.Г., Скоробогатова Е.В., Малашина О.А., 2005). А в 1958 году профессор Фолкер при содействии фармацевтической компании раскрыли химическую структуру и функцию убихинона, что послужило началом многолетнего изучения свойств

коэнзима Q_{10} с целью возможности его применения в медицине (Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008).

В 1967 году впервые отмечен успех применения препарата в лечении хронической сердечной недостаточности. А в 1978 году Питер Митчелл (США) награжден Нобелевской премией по химии за открытие хемиосматического механизма синтеза аденозинтрифосфорной кислоты и участие в этих процессах убихинона (Аронов Д.М., 2004).

По химической структуре убихинон (коэнзим Q_{10}) является 2,3-диметокси-5-метил-1,4-бензохинон с изопреновой цепью в 6-ом положении и относится к группе коферментов (Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008) (рисунок 3).

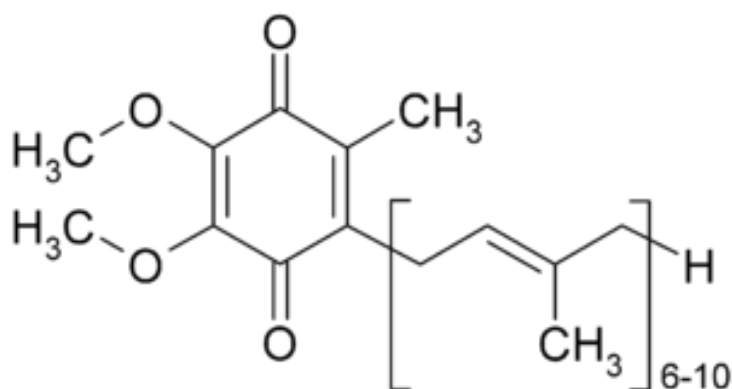


Рисунок 3 – Химическое строение убихинона (коэнзима Q_{10})

В разных организмах встречается коэнзим Q_6 , коэнзим Q_7 и другие в зависимости от количества остатков (от 6 до 10) в боковой цепи коэнзима Q . Особенностью митохондрий млекопитающих является наличие коэнзима Q_{10} , находящегося в растворенном виде в бислое липидов, а клетки *Escherichia coli* как правило имеют коэнзим Q_8 , *Saccharomyces cerevisiae* — коэнзим Q_6 (Нельсон Д., Кокс М., 2017).

Митохондрии сердца, печени, почек, поджелудочной железы и мозга наиболее богаты коэнзимом Q_{10} (Silvestri S., Orlando P., Armeni T. [et al.], 2015).

Кофермент Q выполняет уникальную функцию: он переносит электроны от первичных субстратов в окислительную систему и в то же время переносит

протоны за пределы митохондриальной мембраны. Этот перенос обеспечивает протонный градиент на мембране. Поскольку ферментативным механизмом образования АТФ «возвращает» протоны внутрь мембраны, они управляют этим процессом. Кофермент Q связан с пространственно ориентированными ферментативными белковыми комплексами. Окисляясь, он освобождает протоны снаружи митохондриальной мембраны, а собирает протоны и электроны во внутренней ее части. В связи с этим митохондрии являются как главным источником активных форм кислорода, так и основным производителем энергии в виде АТФ (Нельсон Д., Кокс М., 2017; Бонь Е.И., Максимович Н.Е., 2019) (рисунок 4).

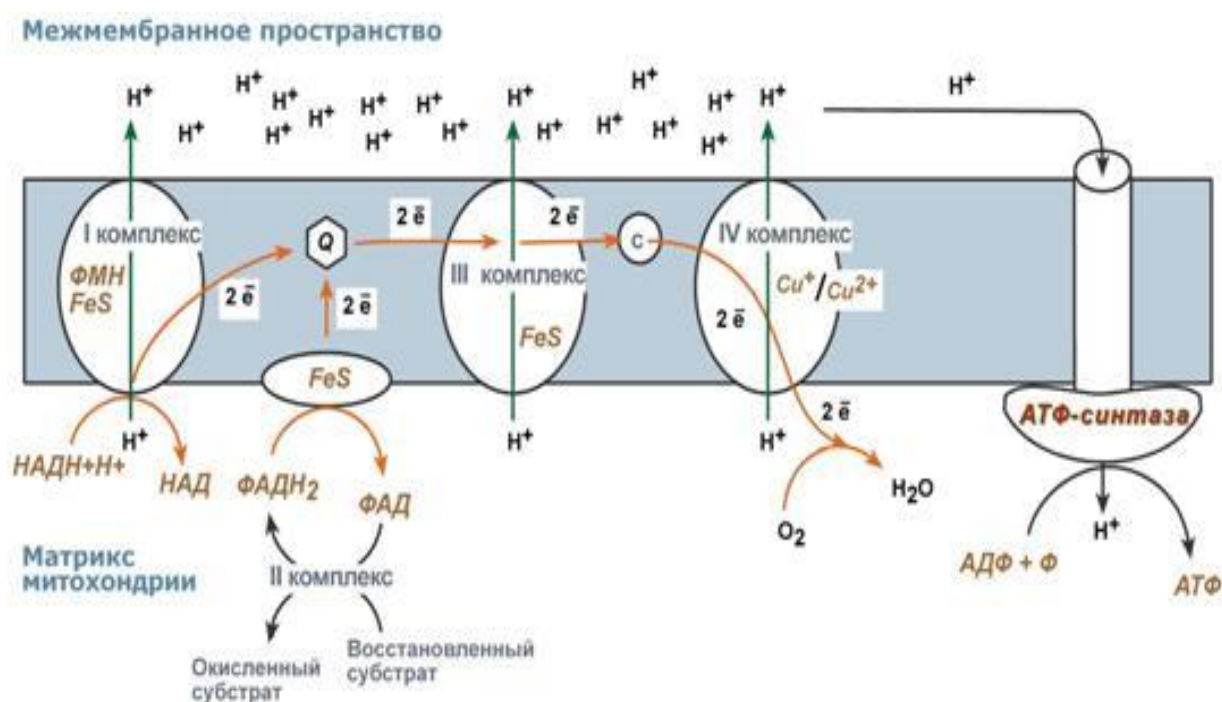
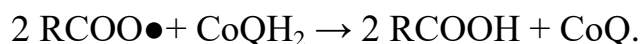


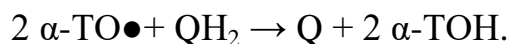
Рисунок 4 – Строение дыхательной цепи и механизм окислительного фосфорилирования

Установлено, что коэнзим Q_{10} , помимо вышеперечисленных функций является антиоксидантом (Чапидзе Г.Э., Капанадзе С.А. [и др.], 2006; Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008; Rodick T.C., Seibels D.R., Babu J.R. [et al.], 2018). Антиоксидантное действие его определяется восстановленной формой –

убихинолом (CoQH_2). Реакция нейтрализации свободных радикалов восстановленным коферментом Q выглядит следующим образом:



Убихинон способствует восстановлению антиоксидантной активности витамина E (α -токоферол, α -ТОН), регенерируя токофероксильные радикалы:



Так как коэнзим Q_{10} может, как поступать с пищей, так и синтезироваться самостоятельно организмом, его относят к витаминоподобным соединениям. Известно, что у взрослого здорового человека запас коэнзима Q_{10} составляет примерно 2 г и при снижении этого уровня за счет уменьшения поступления с пищей, так и нарушениях внутреннего синтеза, существует потребность в компенсации убихинона приблизительно по 500 мг / 1 раз в 4 дня для восстановления работы ферментативной системы организма. Существует предположение о том, что применение биологически активных добавок содержащих коэнзим Q_{10} для поддержания баланса должно составлять 30-100 мг/сутки, а при условии терапевтического назначения дозировка может быть увеличена до 1200 мг/сутки, например, при совместном приеме со статинами (Bonakdar R.A., Guarneri E., 2005; Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008).

Еще одной из причин снижения концентрации убихинона в организме может быть как возраст, так и наличие ряда заболеваний, например, болезнь Альцгеймера и Паркинсона. Необходимо отметить то, что хронические заболевания дыхательных путей, нарушение работы эндокринной системы (болезнь Базедова), воспалительные заболевания печени также способствуют снижению концентрации коэнзима Q_{10} в организме (Макарова Т.П., Батыршина С.В., Данилова Н.И., 2011).

Необходимо сказать о том, уже на протяжении 30 лет изучают влияние убихинона на работу сердечно-сосудистой системы. При проведении клинических исследований у тысяч людей с кардиологическими патологиями был выявлен дефицит убихинона. Обнаружено, что при снижении на 25 % уровня коэнзима Q_{10} в клетках сердечной мышцы нарушается биоэнергетический метаболизм,

приводящий к дефициту энергии, а при снижении на 75 % - происходит гибель клетки вовсе (Harper C.R., Jacobson T.A., 2002; Rosenfeldt F.L., Pepe S., Linnane A. [et al.], 2002; Аронов Д.М., 2004; Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008; Ebrahimi A., Esfahani S.A., Hosseini S. [et al.], 2021).

В клинической практике достаточно широко описано применение коэнзима Q₁₀ с целью восстановления работы клеточного энергообмена. Например, Питер Харальд Лангсьоен с коллегами провели исследование, в котором был назначен коэнзима Q₁₀ в дозировке 75-600 мг/сутки 424 пациентам, имевшим различные патологии сердечно-сосудистой системы. По окончании исследования ими было установлено статистически значимое улучшение миокардиальной функции (Zozina V.I., Covantev S., Goroshko O.A. [et al.], 2018). Кроме этого, авторы говорят о том, что коэнзим Q₁₀ является безопасным и эффективным средством, способствующим достигать необходимые клинические результаты, но позволяющим снизить суммарные затраты на лечение (Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008).

Кроме этого, Питер Харальд с группой авторов провели исследование, в котором указали на возможность развития статин-ассоциированной кардиомиопатии на фоне длительного приема препаратов группы статины. В своем наблюдении они регистрировали изменения, происходящие у пациентов с сердечной недостаточностью при отмене приема статинов и введении коэнзима Q₁₀ в форме убихинола. По окончании исследования авторы пришли к нескольким выводам: при отмене статинов пациенты испытывают сердечную недостаточность наряду с другими побочными эффектами статиновой терапии и применение только коэнзима Q₁₀ не может эффективно коррелировать происходящие процессы. В связи с этим, Питер Харальд Лангсьоен говорит о необходимости проведения проспективного рандомизированного исследования на основании ретроспективных данных (Langsjoen P.H., Langsjoen J.O., Langsjoen A.M., 2019).

Из данных литературы известно, что биохимические эффекты убихинона направлены на увеличение выработки в митохондриях энергии, коррекцию

работы компонентов дыхательной цепи и на уменьшение воздействия окислительного стресса. Существует гипотеза о том, что применение коэнзима Q_{10} до момента наступления стрессового состояния активно регенерирует клетки миокарда, в то время как применение этого же вещества после стресса, не достигает значимой эффективности. В корреляционном анализе Свенда Оге Мортенсена, направленном на сопоставление снижения уровня убихинона и тяжестью недостаточности кровообращения, на основании достоверных данных сделано заключение о целесообразности включения коэнзима Q_{10} в терапию лечения больных хронической сердечной недостаточности (Ключников С.О., Гнетнева Е.С., 2008; Di Lorenzo A., Iannuzzo G., Parlato A. [et al.], 2020).

Кроме этого, Мортенсен совместно с коллегами провели мета-анализ «Q-Symbio», в которой вошли более 10 двойных слепых, плацебо-контралируемых, рандомизированных исследований по использованию убихинона в терапии хронической сердечной недостаточности (цит. по Mortinsen S.A., 2003). Авторы отмечали, что у 90% участвующих улучшение общего состояния и повышение переносимости физической нагрузки, а также снижение частоты поступления на госпитализацию.

Имеются данные об успешном применении коэнзима Q_{10} при синдроме MELAS (митохондриальная энцефалопатия с лактат-ацидозом и инсультоподобными эпизодами), который относится к классическим митохондриальным заболеваниям, связанных с точечной мутацией митохондриальной ДНК (Berbel-Garcia A., Barbera-Farre J.R., Etesam J.P. [et al.], 2004), что в результате приводит к нарушениям I-комплекса дыхательной цепи (Neerghen V., Chalasani A., Wainwright L. [et al.], 2017).

В одной из работ Паулины Филипек и соавторов описан клинический случай, в котором говорилось о том, что у пациента с диагнозом «синдром MELAS» результаты мышечных митохондриальных ферментов демонстрировали выраженную митохондриальную гиперполиферацию и частичный блок дыхательной цепи (NADH коэнзим-Q-редуктаза) (Filipek P.A., Juranek J., Smith M. [et al.], 2003). Для коррекции митохондриальных нарушений в терапию включили

убихинон, после чего было зафиксировано улучшением клинического состояния пациента.

Дж. Кайкконен и К. Ньюиссёнен в своем исследовании установили, что коэнзим Q₁₀ – это эффективный плазменный антиоксидант, способствующий регенерации плазменного альфа-токоферола. А. Ф. Газдик и А. Гвоздякова у больных с бронхиальной астмой провели анализ крови, в котором было отмечено существенное снижение уровня кофермента Q₁₀ и альфа-токоферола, в то время как уровень малонового диальдегида был повышен относительно результатов здоровых добровольцев (цит. по Леонтьева И.В., 2007; Ключников С.О., Гнетнева Е. С., 2007).

Существует мнение, что коэнзим Q₁₀ оказывает воздействие на энергетический обмен в тканях мышц больных полиомиелитом, невзирая на то, что механизм данного эффекта не имеет объяснения. Вероятным может быть влияние кофермента Q₁₀ как на периферическое кровообращение в мышцах, так и митохондриальное фосфорилирование за счет своих антиоксидантных свойств (Singh R.V., Shinde S.N., Chopra R.K. [et al.], 2000).

В литературе имеются клинические доказательства того, коэнзим Q₁₀ способствует снижению токсичности лекарственных средств, которые оказывают ингибирующее действие на дыхательную цепь митохондрий, на участке переноса электронов между коэнзимом Q и b, c. Д. Ярусси и соавторами в рандомизированном исследовании установлено, что введение в терапию 100 мг/сутки кофермента Q₁₀ способствовало снижению толщины стенок межжелудочковой перегородки лишь у группы контроля при кардиотоксичной терапии антрациклиновыми антибиотиками у детей с острым лимфобластным лейкозом и неходжкинской лимфомой (McGowan J.V., Chung A., Maulik R. [et al.], 2017).

Имеется определенный опыт в педиатрии по включению коэнзима Q₁₀ в терапию лечения нарушений ритма сердца. В исследовании принимали участие дети, у которых с помощью электрокардиографии были выявлены нарушения процессов реполяризации миокарда. Больные получали коэнзима Q₁₀ в виде

лекарственного препарата «Кудесан» на протяжении одного месяца. По окончании исследования у 70 % детей было отмечено улучшение и нормализация процессов реполяризации миокарда, что подтверждало положительный эффект от приема лекарственного препарата. Кроме этого, авторы исследования подчеркивали то, что ни у одного из пациентов не было отмечено усугубления ST-T нарушений, однако на фоне приема «Кудесана» частота сердечных сокращений достоверно оставалось неизменной (Школьникова М.А., 2002; Леонтьева И.В., 2007; Османов И.М., Сухоруков В.С., Каламбет Е.И., 2011).

В исследовании Ключникова С.О. и соавторов было описано применение «Кудесана» детьми в возрасте от 3 до 7 лет, которые часто болели. По окончании исследования авторами отмечено, что употребление лекарственного препарата способствовало нормализации механизмов вегетативной регуляции и стабилизации клеточного энергетического обмена (Ключников С.О., Гнетнева Е.С., Накостенко Т.Н., Сухоруков В.С., 2007).

Необходимо отметить, что в литературе имеются сведения о том, что у детей и подростков, страдающих головными болями (мигренью) отмечается дефицит убихинона. Группой авторов из США проведено исследование, в котором первоначально установлено, что у детей, жалующихся на приступы мигрени, действительно кофермент Q находится в дефиците. Пациентам был назначен курсовой прием коэнзима Q₁₀ (по 1-3 мг/кг один раз в сутки), по окончании которого отмечено повышение уровня коэнзима Q₁₀, снижение приступов мигрени (Hershey A.D., Powers S.W., Vockell A.B. [et al.], 2007). После этого в 2005 году в Швейцарии проведено рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование, отражающее возможность применения коэнзима Q₁₀ в лечении мигрени у взрослых (Sandor P.S., Di Clemente L., Coppola G. [et al.], 2005).

Итак, данные современной литературы отражают то, что убихинон очень важен в процессах клеточного энергетического обмена, так как способен выполнять коферментную функцию и проявлять антиоксидантные свойства. А также имеются убедительные исследования, посвященные применению коэнзима

Q₁₀ при различных заболеваниях, как у детей, так и у взрослых в лечебных и профилактических целях.

1.3. Липоевая кислота: структура, биохимические функции, применение в медицине

Липоевая кислота является биологически активным веществом, считавшееся ранее витаминоподобным, но в настоящее время, относящееся к витаминам с лекарственными свойствами, и встречающееся под названиями: липамид, тиоктовая кислота, α-липоевая кислота, витамин N. На фармацевтическом рынке липоевая кислота представлена рядом лекарственных препаратов активно назначаемых в терапии: Альфа-липоевая кислота, Липоевая кислота, Берлитион 300, Тиоктацид, Тиолепта и другие.

Липоевая кислота (3-(4-карбоксивбутил)-1,2-дителиолан, тиоктовая кислота) по химическому строению является тиопроизводным одноосновной валериановой кислоты (рисунок 5).

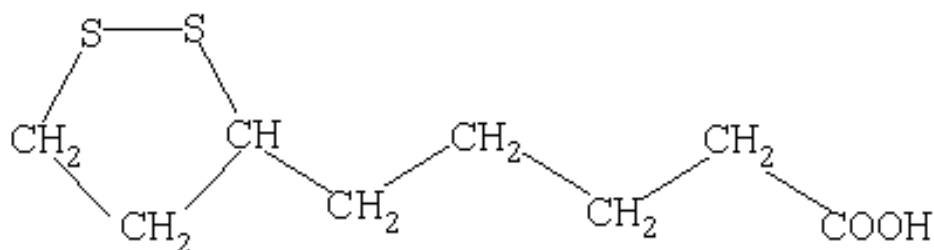


Рисунок 5 – Химическая структура липоевой кислоты

В связи с тем, что липоевая кислота является естественным метаболитом, она участвует во многих физиологических процессах, связанных с обменом веществ, и поэтому представляет собой эффективное средство метаболической фармакотерапии. Она имеет широкий спектр биологического и фармакологического действия.

В 1937 году ученые обнаружили бактерии, содержащее соединение, в последствие, названное как липоевой кислотой (Gomes M.B., Negrato C.A., 2014).

Впервые об антиоксидантных свойствах липоевой кислоты заговорили в 1939 году. Бактериолог Irwin C. Gunsalus (1948 г.) при проведении исследования отметил, что при условии отсутствия в среде «пируват оксидатного фактора» рост аэробных бактерий не наблюдается (Cronan J.E., 2016). Однако в 1951 году биохимиками во главе с Lester Reed из экстракта говяжьей печени было выделенного в виде кристаллов вещество, которое в 1952 году получило название «альфа-липоевая кислота» (Юзвенко Т.Ю., Тарасенко С.А., Марченко О.В., 2019).

Основная функция липоевой кислоты заключается в аэробном метаболизме пировиноградной кислоты. В цикле трикарбоновых кислот она осуществляет функцию кофермента при окислительном декарбоксилировании пирувата до ацетил-коэнзима А и альфа-кетоглутаровой кислоты до сукцинил-коэнзима А (Маевский Е.И., Гришина Е.В., Розенфельд А.С., 2000; Нельсон Д., Кокс М., 2017) (рисунок 6).

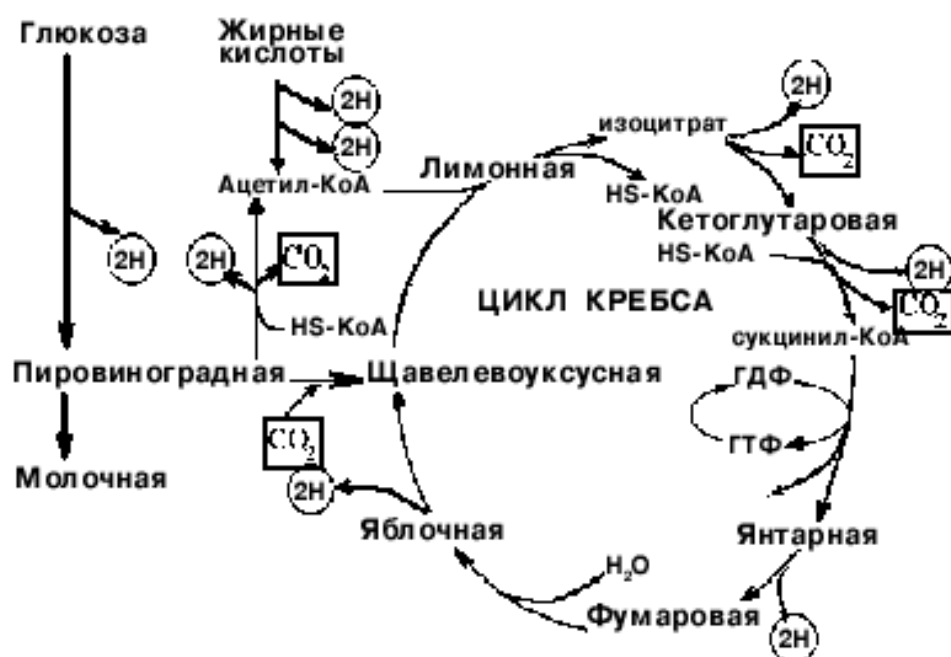
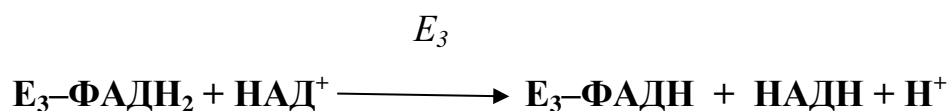
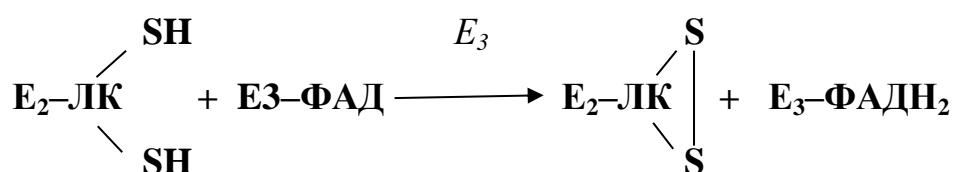
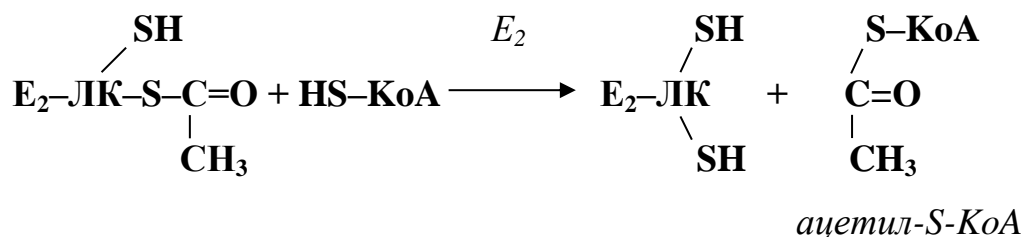
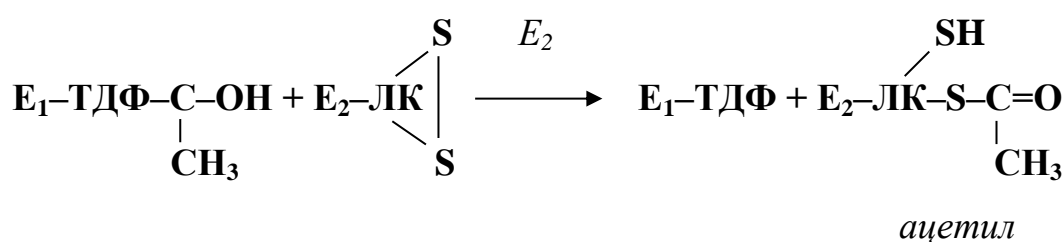
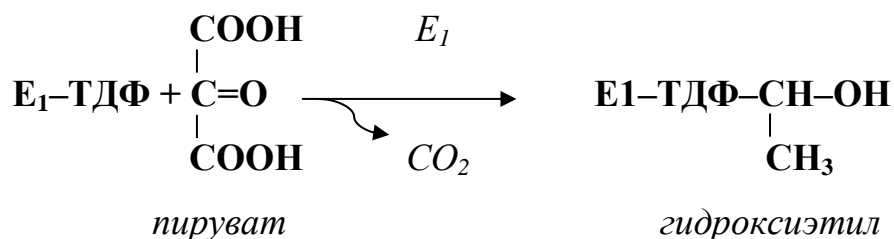


Рисунок 6 – Цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот)

В пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК) входят три фермента: пируватдекарбоксилаза (E₁), дигидролипоилтрансацилаза (E₂), дигидролипоилдегидрогеназа (E₃), пять коферментов: тиаминдифосфат (ТДФ),

липоевая кислота (ЛК), флавинадениндинуклеотид (ФАД), никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺), кофермент А (КоА) и регуляторные субъединицы: протеинкиназа и фосфопротеинфосфатаза.



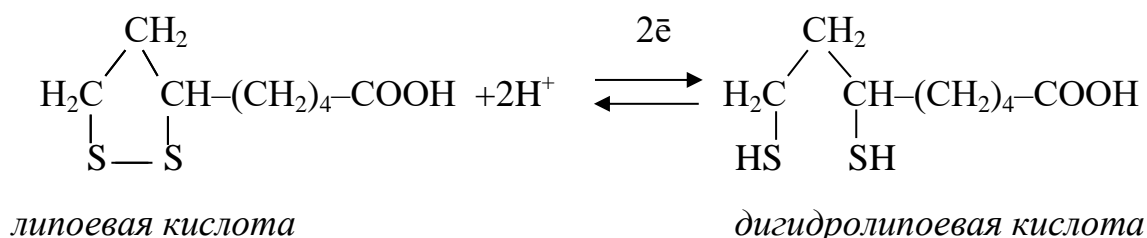
Именно таким образом, протекает процесс активного декарбоксилирования пирувата до ацетил-КоА (Нельсон Д., Кокс М., 2017).

Липоевая кислота занимает одно из важных мест в обмене липидов, что связано с его положительным липотропным действием. Липотропное действие

липоевой кислоты заключается в трансферте ацетата и жирных кислот из цитозоля в митохондриальный матрикс, с целью дальнейшего окисления за счет повышения выработки коэнзима А (цит. по Шульпекова Ю.О., Ивашкин В.Т., 2000). Важно отметить, что липоевая кислота снижает концентрацию холестерина и насыщенных жирных кислот в крови, за счет сдвига спектра липидов в сторону ненасыщенных жирных кислот.

В энергетическом обмене липоевая кислота активно выводит из жирового депо организма жир с последующей утилизацией, а также она увеличивает усвоение аминокислоты глицин, стимулирует синтез глюкозы и белка в клетках печени.

Липоевая кислота обладает антиоксидантными и коферментными функциями за счет возможности существования в двух формах: окисленной (-S-S-) и восстановленной (SH-) (Бустаманте Дж., Лодж Дж., Маркочи А., 2001; Щербак А.В., 2001):



Для восполнения количественного содержания в организме глутатиона, витаминов С и Е, отвечающих за антиоксидантную защиту, используется донор электронов – дигидролипоевая кислота (ДГЛК). При разрушении мембран клеток ДГЛК осуществляет восстановление витамина Е, который в свою очередь, является защитником мембраны от пероксидных радикалов.

Липоевая кислота способствует увеличению концентрации восстановленного глутатиона в Т-клеточных лимфоцитах и эритроцитах (Anthony R.M., MacLeay J.M., Jewell D.E. [et al.], 2021). Пероральный прием липоевой кислоты в дозе 150 мг/кг в сутки на протяжении 2х месяцев у крыс существенно увеличивает уровень глутатиона в крови и печени (Stankovic M.N., Mladenovic D.,

Ninkovic M. [et al.], 2014). Данный эффект проявляется как за счет уменьшения окисления глутатиона, так и его синтеза. Таким образом, восстановление липоевой в дигидролипоевую кислоту обеспечивает постоянное снижение концентрации внеклеточного цистина и увеличения уровня внутриклеточного цистеина, которая является основной частью глутатитона (Молчанова О. В., Кочкаров В.И. [и др.], 2012; Anthony R.M., MacLeay J.M., Jewell D.E. [et al.], 2021).

Окисленная и восстановленная форма липоевой кислоты способна захватывать и нейтрализовать свободные радикалы. Необходимо отметить, что липоевая кислота образует комплексы с тяжелыми металлами (марганец, цинк, кадмий, свинец, кобальт, никель, железо) и способствует выведению из тканей ртути, меди и мышьяка (Gregus Z., Stein A., Klaassen C.D. [et al.], 1992; El Barky A.R., Hussein S.A., Mohamed T.M., 2017; Аметов А.С., Косян А.А., 2020).

В 1966 году в Германии у пациентов с диабетической полиневропатией и циррозом печени был выявлен сниженный уровень α -липоевой кислоты, в связи с чем в терапию лечения данных больных была включена липоевая кислота (Agathos E., Tentolouris A., Eleftheriadou I. [et al.], 2018). А в исследованиях по сахарному диабету было доказано, что применение α -липоевой кислоты стимулирует улучшение кровообращения по нерву и усиливает проводимость нервного сигнала (Coppey L.J., Gellett J.S., Davidson E.P. [et al.], 2001; Аметов А.С., Косян А.А., 2020).

Таким образом, полученные результаты подтверждают эффективность использования α -липоевой кислоты в терапии диабетической полиневропатии.

α -липоевая кислота входит в схемы лечения заболеваний центральной нервной системы, за счет способности ингибировать миграцию Т-клеток. Помимо этого, α -липоевая кислота подавляет клеточную активность, которая обусловлена иммунным ответом, стимуляцией цАМФ-каскада и способностью ингибировать активность интерлейкинов. При заболевании Альцгеймера в фибробластах наблюдается оксидативный стресс, связанный с дисфункцией митохондрий, поэтому в терапии применяют α -липоевую кислоту (Holmquist L., Stuchbury G.,

Verbaum K. [et al.], 2007), которая усиливая митохондриальные функции активизирует нейропротекторные возможности (Liu J., 2008).

Нейропротекторные свойства липоевой кислоты реализуются, за счет способности усиливать в головном мозге выработку ацетилхолина путем активации холинацетилтрансферазы и повышения продукции ацетил-коэнзима А. Благодаря нейропротекции липоевой кислоты происходит снижение церебрального оксидативного стресса и синтез индуцибельной синтетазы оксида азота (Maczurec A., Hager K., Kenklies M. [et al.], 2008). В клинических исследованиях пациентам с диагнозом Альцгеймера липоевую кислоту назначали в дозе 600 мг/сутки на протяжении от 1 года до 4 лет. При анализе результатов проведенного исследования отмечено замедление прогресса заболевания при легкой степени деменции относительно пациентов, как получавших терапию с применением ингибиторов ацетилхолинэстеразы, так и не получающих лечение вообще (Hager K., Kenklies M., McAfoose J. [et al.], 2007).

В клинико-биохимическом исследовании Гридасовой Р.А. и соавторами было показано введение «Тиоктацида БВ» (липоевой кислоты) в терапию повторного инфаркта миокарда привело к снижению уровня лактата в эритроцитах, что в свою очередь способствовало уменьшению метаболического ацидоза. На основании изменений концентрации суммарных метаболитов азота, уменьшении активности гранулоцитарной эластазы и соотношении окисленных/резистентных к окислению фракций липопротеинов, автор высказывает предположение о снижении выраженности, как воспалительных процессов, так и процессов, приводящих к ремоделированию коронарных сосудов и миокарда (цит. по Гридасова Р.А., Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Коваленко Т.Д., 2012)

Процессы, приводящие к развитию атеросклероза, напрямую связаны с окислением липопротеидов низкой плотности с дальнейшим образованием свободных радикалов и депонированием холестерина. С 1992 года публикуют результаты клинических исследований, где описана способность липоевой кислоты уменьшать ишемические процессы и реперфузионное порреждение миокарда и головного мозга. В этих же исследованиях описывают синергизм

действия α -липоевой кислоты с витаминами Е и С, что приводило к снижению свободно-радикального окисления липопротеинов низкой плотности (Abdelhalim M.A. K, Qaid H. AY [et al.], 2020).

Существуют экспериментальные данные, в которых липоевая кислота у лиц, инфицированных ВИЧ, увеличивает уровень глутатиона на 30–70 %, тем самым способствуя восстановлению структурно функциональной активности гепатоцита, что связано с индукцией дефицита восстановленного глутатиона вирусом иммунодефицита человека (Jariwalla R., Lalezari J., Cenko D. [et al.], 2008). Помимо этого, липоевая кислота в острый и хронический периоды инфицирования клетки способствует ингибированию репликации вируса. *In vitro* α -липоевая кислота в комбинации с азатиоприном демонстрирует синергичный противовирусный эффект, приводящий к более сильному ингибированию репликации вируса, чем каждый из препаратов индивидуально (Baur A., Harrer T., Peukert M. [et al.], 1991; Молчанова О. В., Кочкаров В.И. [и др.], 2012).

Кроме этого, согласно литературным данным, в последние несколько десятилетий наблюдается повышенный интерес к свойствам липоевой кислоты. В результатах клинических исследований демонстрируется способность окислительно-восстановительной пары липоевая/дигидролипоевая кислоты препятствовать размножению вирусов (Cure E., Cure S.M., 2020) и гибели тимоцитов и стимулировать образование Т-хелперов (El Barky A.R., Hussein S.A., Mohamed T.M., 2017), предотвращать процессы, приводящие к развитию катаракты (Dhavane S.S., Musale S.K., Pagar H.J. [et al.], 2020), защищать почки от повреждающего влияния аминогликозидов (Darwish Mohamed Y.A., Abd El-Lateef Abd El-Lateef S., 2018). Кроме этого, липоевая кислота снижает токсическое воздействие химиотерапевтических препаратов, применяющихся при лечении онкологических заболеваний, и защищает при облучениях клетки костного мозга от свободнорадикального повреждения (Feuerecker B., Pirsig S., Seidl C. [et al.], 2012; Молчанова О. В., Кочкаров В.И. [и др.], 2012).

Еще одним из интересных фактов является то, что в клиническом исследовании у больных с нарушением обоняния вследствие вирусных инфекций

верхних дыхательных путей при применении липоевой кислоты у 60% исследуемых наблюдали улучшение поствирусной обонятельной дисфункции (Hummel T., Neilmann S., Huttenbriuk K.B., 2002).

Итак, проведенный анализ литературы подтвердил широкое применение липоевой кислоты в комплексных терапиях различных этиологий, что, безусловно связано с ее антиоксидантным действием как в сосудистом русле, так и в клеточных структурах различных органов. С помощью применения липоевой кислоты, возможно, повлиять на воспаления, апоптоз, микроциркуляцию тканей, эндотелиальную дисфункцию, активацию нейротрансмиттеров, метаболические процессы. Все это позволяет рассматривать ее препараты как потенциально эффективное лекарственное средство в комплексной терапии заболеваний различной этиологии.

Таким образом, после проведенного анализа литературы можно сделать вывод о том, что на сегодняшний день остается актуальной разработка методик лекарственных терапий не только направленных на снижение уровня холестерина, но и на профилактику возможных осложнений при длительных статинотерапиях. В настоящем исследовании поставлена целевая задача, определить возможность и целесообразность использования в качестве метаболического корректора убихинона (кофермент Q₁₀) и липоевую кислоту.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Краткая характеристика экспериментального материала

Исследования проведены на 210 беспородных крысах-самцах в возрасте 12 месяцев с массой 300-350 грамм в соответствии с разработанным и представленным на рисунке 7 дизайном.

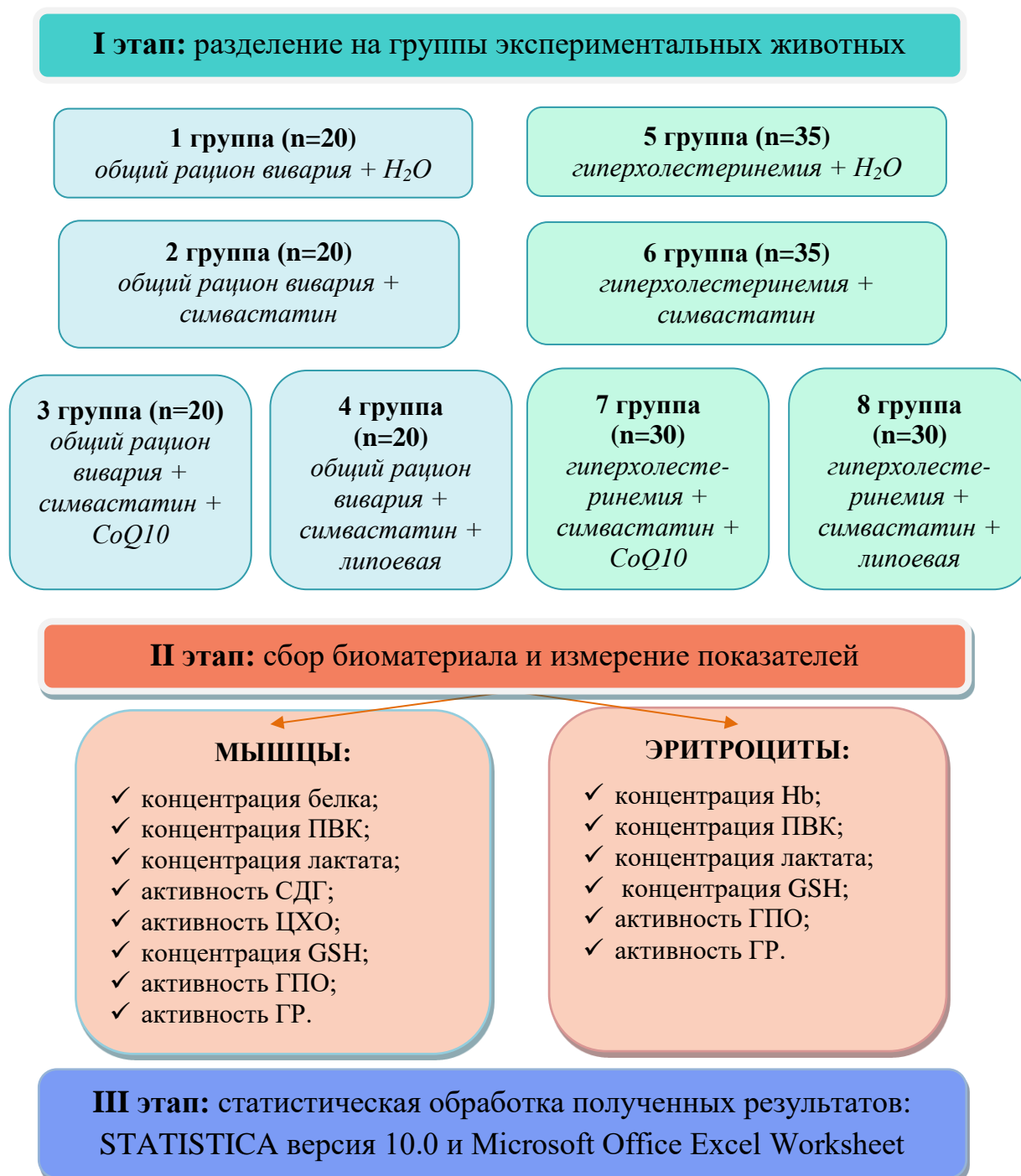


Рисунок 7 – Дизайн исследования

Экспериментальные животные находились в стационарных условиях филиала РостГМУ на кафедре общей и клинической биохимии №1 (заведующая кафедрой – д.б.н., профессор Микашинович З.И.).

Все работы проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», с «Правилами проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации» утвержденными Министерством здравоохранения РФ» от 29.12.1998 г. (ОСТ 42-511-99) и с нормами, утвержденными приказом Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.08.1977 г. "О мерах по дальнейшему совершенствованию форм работы с использованием экспериментальных животных" (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также согласно санитарным правилам от 29.08.2014 г. СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

Для эксперимента были отобраны здоровые животные надлежащего вида. Световой день составлял не менее 12 часов. Для питания использовали либо сбалансированный корм для грызунов, либо свежеприготовленный рацион в соответствии с целями проводимого эксперимента. Вода у животных находилась в свободном доступе, поступая из поилок. Ежедневно поддерживалась чистота в клетках, а генеральную уборку проводили один раз в неделю.

Для выполнения цели и задач диссертационного исследования использовали гиполипидемический препарат симвастатин являющийся статином первого поколения – «Зокор[®], 20 мг» (Мерк Шарп и Доум Лтд. (Великобритания), ОАО «АКРИХИН» (Россия)). В качестве средств корректирующих побочные эффекты симвастатина выбраны липоевая кислота – «Тиоктацид[®] БВ, 600 мг» (МЕДА Фарм ГмбХ и Ко.КГ (Германия), МЕДА Мануфакчуриг ГмбХ (Германия)) и убихинон (кофермент Q₁₀): – «Кофермент Q10 (CoQ10), 30 мг» Виталайн (США).

В процессе эксперимента животные были разделены на восемь групп:

Первая группа – 20 животных, которых содержали на общем рационе вивария (контрольная группа);

Вторая группа – 20 животных, которых содержали на общем рационе вивария, получавших в течение 2-х месяцев «Зокор[®], 20 мг» по 0,001 г / 100 г массы один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд;

Третья группа – 20 животных, которых содержали на общем рационе вивария, получавших в течение 2-х месяцев «Зокор[®], 20 мг» в терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 0,001 г / 100 г) и биологическую активную добавку «Кофермент Q10, 30 мг» в рекомендуемой терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 3 мг / 100 г) один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд;

Четвертая группа – 20 животных, которых содержали на общем рационе вивария, получавших в течение 2-х месяцев «Зокор[®], 20 мг» в терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 0,001 г / 100 г) и «Тиоктацид[®] БВ, 600 мг» в терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 0,857 мг / 100 г) один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд;

Пятая группа – 35 животных, у которых индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемию путем содержания на рационе, обогащенном животными жирами и легко усваиваемыми углеводами в течение 3-х месяцев. Их кормили манной кашей, сваренной на воде таким образом, что на 1 кг крупы добавляли 2 кг тростникового сахара и 2 кг топленого сливочного масла, при этом индивидуально каждому животному давали 50 г белого несоленого свиного сала в сутки, при достижении целевого уровня холестерина равного $3,83 \pm 0,31$ ммоль/л брали в эксперимент (контроль $2,2 \pm 0,2$ ммоль/л) (патент на изобретение № 2733693 от 06.10.2020 г.);

Шестая группа – 35 животных, у которых индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемию (также как и у пятой группы), получавшие в течение 2-х месяцев симвастатин (Зокор[®], 20 мг) по 0,001 г / 100 г массы один раз в сутки в

виде водной суспензии через пищеводный зонд (группа сравнения) (патент на изобретение № 2632624 от 06.10.2017 г.);

Седьмая группа – 30 животных, у которых индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемию (также как и у пятой группы), получавшие в течение 2-х месяцев симвастатин (Зокор[®], 20 мг) в терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 0,001 г / 100 г) и «Тиоктацид[®] БВ, 600 мг» в терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 0,857 мг / 100 г) один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд (экспериментальная группа);

Восьмая группа – 30 животных, у которых индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемию (также как и у пятой группы), и получавшие в течение 2-х месяцев симвастатин (Зокор[®], 20 мг) в терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 0,001 г / 100 г) и биологически активную добавку «Кофермент Q10, 30 мг» в терапевтической дозировке в пересчете на 100 г массы (по 3 мг / 100 г) один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд (экспериментальная группа).

Животным контрольной группы вводили 1 мл воды дистиллированной через пищеводный зонд один раз в сутки в течение одного месяца для чистоты эксперимента.

Все манипуляции выполнялись согласно этическим принципам «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой от 18.03.1986 г. в Страсбурге, подтвержденной от 15.06.2006 г., а также проведение экспериментального исследования с использованием животных было согласовано и одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол от 20.10.2016 г. № 17/16): животных декапитировали под действием эфирного наркоза.

2.2. Биохимические методы исследования

Биохимические изменения у исследуемых крыс оценивали по комплексу показателей, включающих анализ интегрального состояния углеводного обмена, ферментов дыхательной цепи (II и VI комплексов), а также системы глутатиона.

2.2.1. Фракционирование субклеточных структур мышцы и эритроцитов

Выделение митохондрий клеток скелетных мышц производили после декапитирования. У крысы быстро вырезали мышцы задних конечностей, используя охлажденные стерильные хирургические инструменты, и помещали их в ледяную среду. Вырезанные части мышц отмывали в ледяной среде выделения, взвешивали и измельчали ножницами и помещали в среду выделения (0,1 М КСl, 1 мМ MgCl₂, 0,05 М Tris-HCl, pH 7,4) в соотношении 1:4 (1 г + 4 мл среды). Далее смесь гомогенизировали в течение одной минуты и полученные гомогенаты помещали в центрифугу на 10 мин. при 600 g. Осадок, содержащий обломки клеток, ядра и миофибриллы, отбрасывали; надосадочную жидкость центрифугировали в течение 5 мин. при 2000 g для более полного удаления миофибрилл. Полученный супернатант фильтровали через 4 слоя марли и центрифугировали 10 мин. при 9000 g. К осадку митохондрий добавляли среду выделения, содержащую 0,1 % бычий сывороточный альбумин, осторожно ресуспендировали и хранили на льду для определения содержания белка и активности ферментов (Егорова М.В., Афанасьев С.А., 2011).

Эритроциты получали из крови, стабилизированной гепарином (10 ед./мл), отделяли от лейкоцитов и тромбоцитов в 3 % желатиновом растворе с последующим центрифугированием в течение 15 мин. при 320 g. После отделения плазмы и верхнего слоя клеток эритроциты отмывали охлажденным физиологическим раствором (2-3 раза). Для получения плотного осадка и определения субстратов, отмытые эритроциты центрифугировали при 640 g в течение 30 минут, приготавливали гемолизат (1:20) для определения активности ферментов.

2.2.2. Определения содержания метаболитов гликолиза

Учитывая высокую лабильность содержания субстратов энергетического обмена в тканях, все операции, связанные с фиксацией и последующей гомогенизацией проводили на холоду при 4 °С, используя охлажденные растворы необходимых реактивов.

Концентрацию *пировиноградной кислоты (ПВК)* определяли колориметрически при $\lambda=440$ нм по методу, приведенному в описании Камышниковой В.С (2009). Безбелковый экстракт получали воздействием 10 % раствора трихлоруксусной кислоты с последующей обработкой его 2,4-дифенилгидразином (2,4-ДНФГ) и последующей фотометрией смеси. Для повышения точности способа и ускорения его в реакционную смесь, содержащую 2,4-ДНФГ, вносили водный раствор щелочи. Результаты выражали в мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов или мг белка в мышцах.

Содержание *молочной кислоты (лактата)* определяли методом спектрофотометрии при $\lambda=590$ нм (СФ U-2900) по реакции с пара-оксидифенилом, описанной Даниловой Л.А (2003). Результат выражали в мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов или мг белка в мышцах.

Содержание *гемоглобина (Hb)* определяли в гемолизате спектрофотометрическим методом на СФ U-2900 при $\lambda=540$ нм в присутствии аммиачного раствора по методу, описанному Лугановой И.С. и Блиновым М.Н. (1975). Концентрацию гемоглобина выражали в г/мл гемолизата.

Определение концентрации *восстановленного глутатиона (GSH)* осуществляли по методу Ellman G.L. (1959) с использованием 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты) (ДТНБ, реактив Элмана), в ходе которой образуется окрашенное соединение с максимумом поглощения при длине волны $\lambda=412$ нм (СФ U-2900). Концентрацию восстановленного глутатиона выражали в мкмоль/г Hb или мг белка в мышцах (Микашинович З.И. [и др.], 2004).

Определение концентрации *общего белка* проводили по методу Lowry (1953). Метод основан на образовании продукта синего цвета в результате протекания двух самостоятельных реакций: 1 – биуретовой реакции с ионами меди (II) в

щелочной среде; 2 – восстановление фосфорно-молибденовой и фосфорно-вольфрамовой кислот в составе реактива Фолина аминокислотами тирозином и триптофаном, входящими в структуру белка. Результаты выражали в мг/мл гомогената.

2.2.3. Определение активности ферментов дыхательной цепи и системы глутатиона

Для определения активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы использовали суспензию митохондрий, выделенную из скелетных мышц.

Активность *цитохромоксидазы (ЦХО)* определяли в реакции с диметил-п-фениленом на спектрофотометре U-2900 при $\lambda=550$ нм по принципу метода Р.С. Кривченковой (1977), предложенного в описании З.И. Микашинович (1989). Результаты выражали в нмоль/мг белка в мин.

Активность *сукцинатдегидрогеназы (СДГ)* определяли спектрофотометрически (СФ U-2900) при $\lambda=420$ нм по принципу метода Nordmann et al. (1957), предложенного в описании З.И. Микашинович (1989). Метод основан на использовании тетразолиевого синего ($C_{40}H_{32}O_2Cl_2$) и феназинметасульфата для создания системы переноса электронов от субстрата дегидрогеназной реакции к соли тетразолия с образованием формазана. Активность фермента выражали в нмоль/мг белка в мин.

Активность *глутатионпероксидазы (ГПО)* определяли спектрофотометрически (СФ U-2900) при $\lambda=412$ нм по методу, предложенному Даниловой Л.А. (2003). Метод основывается на способности ГПО катализировать реакцию взаимодействия восстановленного глутатиона с гидроперекисью третичного бутила. Активность фермента при этом может быть оценена по изменению содержания восстановленного глутатиона в пробах с помощью цветной реакции с дитиобиснитробензойной кислотой. Активность данного фермента выражали в мкмоль израсходованного в реакции субстрата на г Нв или мг белка в мин.

Активность *глутатионредуктазы (ГР)* определяли спектрофотометрически по скорости окисления НАДФН+Н методом Юсуповой Л.Б. (1989) при $\lambda=340$ нм на спектрофотометре U-2900. Активность фермента выражали в мкмоль превращения НАДФН+Н на мг Нв или мг белка в мин. (Данилова Л.А., 2003).

2.3. Статистическая обработка экспериментальных данных

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением средней арифметической, ошибки средней с использованием пакета прикладной программы STATISTICA версия 10.0 и Microsoft Office Excel Worksheet (Герасимов А.Н., 2007).

О достоверности отличий учитываемых показателей сравниваемых групп судили по величине t-критерия Стьюдент, при ненормальности распределения – U критерия Манна-Уитни. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЖИВОТНЫХ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СИМВАСТАТИНА

Для выявления биохимических изменений в скелетной мышце у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина «Зокор[®], 20 мг» были проанализированы четыре группы.

В группу 1 входили 20 крыс-самцов, получавших натуральные и брикетированные корма. Для рассмотрения биохимических изменений в мышечной ткани при приеме лекарственного препарата «Зокор[®], 20 мг» создана группа 2, включающая в себя 20 крыс-самцов, содержащихся на натуральных и брикетированных кормах и получавшая симвастатин «Зокор[®], 20 мг». В группу 3 входили 35 крыс-самцов, у которых моделировали эссенциальную гиперхолестеринемию, путем содержания их в течение трех месяцев на специальном рационе. В группу 4 вошли 35 крыс-самцов, у которых была индуцирована эссенциальная гиперхолестеринемия и получавшие лекарственный препарат «Зокор[®], 20 мг».

3.1. Длительное введение симвастатина (Зокор[®])

У группы животных, содержащихся на натуральных, брикетированных кормах и получавших симвастатин «Зокор[®], 20 мг», отмечены следующие биохимические изменения в скелетных мышцах (таблица 1, рисунок 8).

Таблица 1 – Биохимические изменения показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина ($M \pm m$, p)

Показатели \ Группы	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 2 n=20 (симвастатин)
ПВК, мкмоль/мг белка	2,25±,16	0,4±0,04 p<0,001
Лактат, мкмоль/мг белка	3,96±0,45	10,02±1,21 p<0,001
СДГ, нмоль/мг белка	2,14±0,23	2,32±0,24 p>0,05
ЦХО, нмоль/мг белка	0,0039±0,0006	0,0048±0,0004 p>0,05
GSH, мкмоль/мг белка	28,10±4,52	36,27±3,53 p>0,05
ГПО, мкмоль/мг белка	13,14±0,77	7,74±0,73 p<0,001
ГР, мкмоль/мг белка	0,023±0,004	0,032±0,003 p>0,05

Примечание: p – степень достоверности относительно группы 1, при $p \leq 0,05$ изменения достоверны.

В мышечной ткани животных, получавших симвастатин, зафиксировано снижение концентрации ПВК на 82,22 % ($p < 0,001$) и значительное увеличение лактата на 153,03 % ($p < 0,001$) относительно группы 1. Полученные результаты указывают на превалирование анаэробного гликолиза и, следовательно, снижение макроэргического баланса клетки.

Анализ активности ферментов энергетического обмена отражал незначительное повышение активности СДГ на 8,41 % ($p > 0,05$) и активности ЦХО на 23,08 % ($p > 0,05$) относительно группы контроля. Динамика активности

ферментов отражает тенденцию к активации II и IV комплексов дыхательной цепи.

Обращает внимание то, что в исследуемой группе были выявлены разнонаправленные изменения активности глутатионзависимых ферментов: понижение ГПО на 41,1 % ($p < 0,001$), повышение ГР на 39,13 % ($p > 0,05$), а концентрация GSH повысилась на 29,07 % ($p > 0,05$) относительно группы контроля.

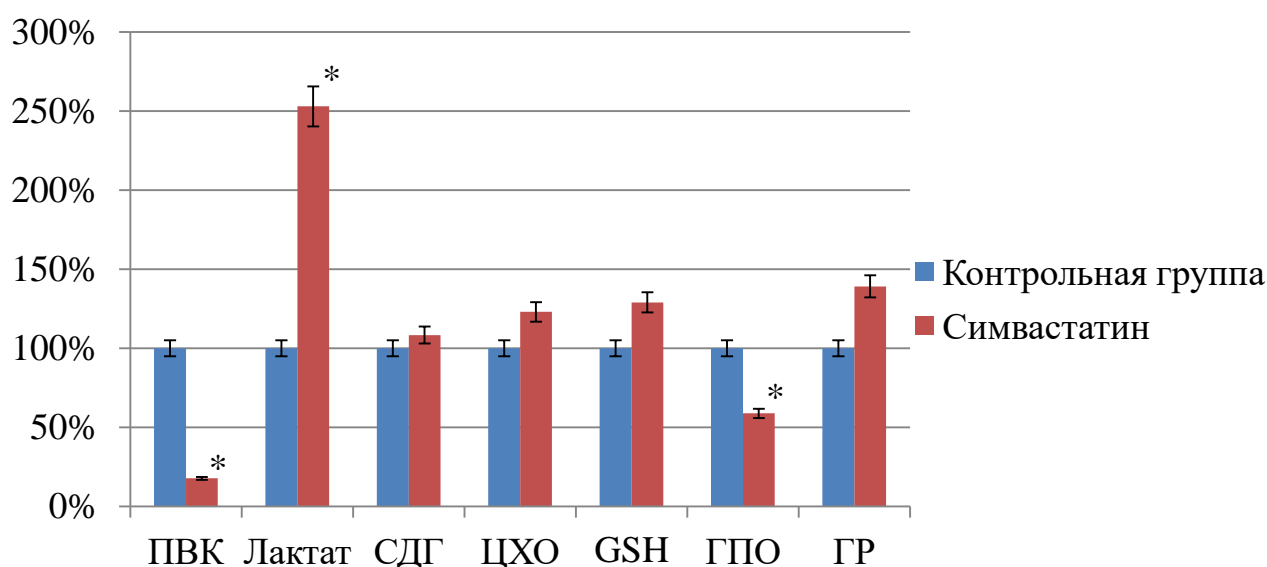


Рисунок 8 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

На основании полученных результатов, можно полагать, что такой метаболический ответ мышечной ткани животных отражает развитие биохимических изменений, характерных для адаптивных перестроек при приеме симвастатина в условиях изменения соотношения аэробных и анаэробных процессов в сторону последних. Полученные данные согласуются с ранее полученными результатами в нашей лаборатории и могут рассматриваться как признаки гипоксии (Белюсова Е.С., Микашинович З.И., Коваленко Т.Д., 2014).

3.2. Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией

У группы животных с эссенциальной гиперхолестеринемией в скелетных мышцах зафиксированы изменения, отображенные в таблице 2.

Таблица 2 – Биохимические изменения в мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией

Показатели \ Группы	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 3 n=35 (гиперхолестериновая диета)
ПВК, мкмоль/мг белка	2,25±,16	7,15±0,71 p<0,001
Лактат, мкмоль/мг белка	3,96±0,45	6,86±0,66 p<0,001
СДГ, нмоль/мг белка	2,14±0,23	2,43±0,26 p>0,05
ЦХО, нмоль/мг белка	0,0039±0,0006	0,0036±0,0003 p>0,05
GSH, мкмоль/мг белка	28,10±4,52	96,72±6,68 p<0,001
ГПО, мкмоль/мг белка	13,14±0,77	6,56±0,66 p<0,001
ГР, мкмоль/мг белка	0,023±0,004	0,047±0,004 p<0,001

Примечание: p – степень достоверности относительно показателей группы 1, при p≤0,05 изменения достоверны.

У группы животных с эссенциальной гиперхолестеринемией произошло статистически значимое повышение уровня лактата на 73,23 % (p<0,001) и уровня ПВК на 217,78 % (p<0,001) по отношению к группе 1 (рисунок 9). Такое

значительное повышение уровня лактата и ПВК можно рассматривать, как результат накопления недоокисленных продуктов, что способствует формированию метаболического ацидоза.

При анализе активности ферментов энергетического обмена в митохондриях выявлено, что активность ЦХО и СДГ почти не отличалась от значений группы контроля.

Разнонаправленные изменения активности ферментов глутатионового звена антиоксидантной защиты обнаружены в мышцах испытуемых животных с эссенциальной гиперхолестеринемией. Активность глутатионпероксидазы снизилась на 50,08 % ($p < 0,001$) на фоне значительного роста активности показателей глутатионредуктазы – на 104,35 % ($p < 0,001$) и концентрации восстановленного глутатиона – на 244,20 % ($p < 0,001$) относительно контрольной группы.

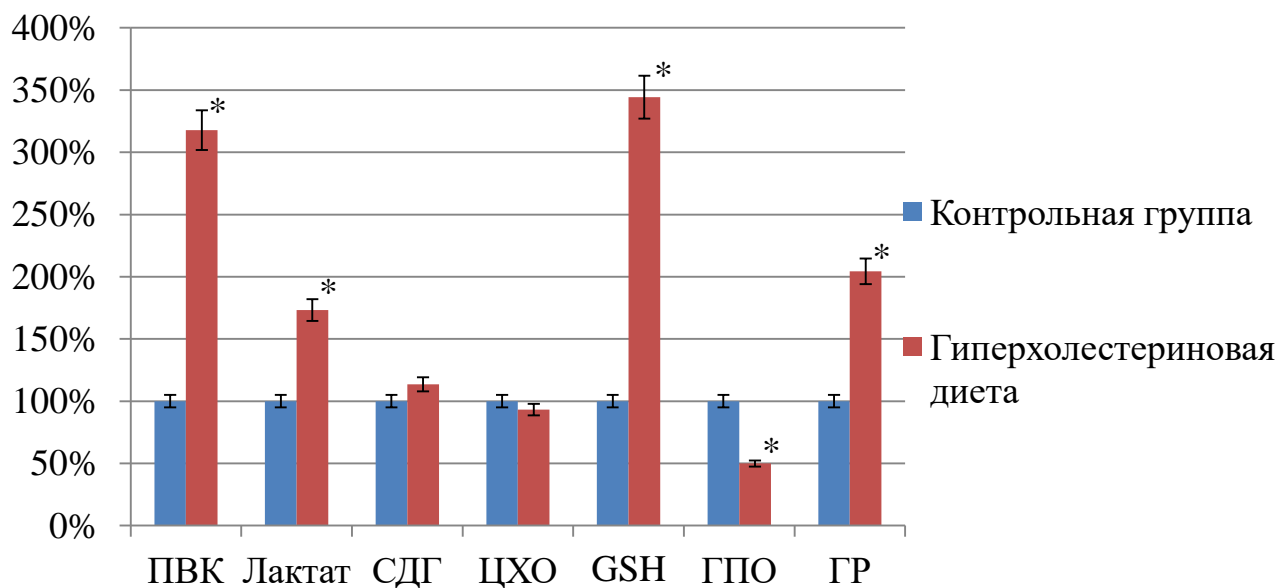


Рисунок 9 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

Таким образом, содержание экспериментальных животных на высоко жировом рационе способствует нарушению антиоксидантной защиты. Это

документировано нарушением митохондриального окисления и угнетением ГПО, что ведет к накоплению свободных радикалов. Анализ изменений в системе глутатиона при моделировании эссенциальной гиперхолестеринемии свидетельствует о нарушении глутатионового баланса, что может способствовать формированию окислительного стресса.

3.3. Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина (Зокор[®])

Изменения биохимических показателей, отраженные в таблице 3 зафиксированы у испытуемых животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина «Зокор[®], 20 мг».

Таблица 3 – Биохимические изменения в мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина (M±m, p)

Группы Показатели	Группа 1 n= 20 (контрольная группа)	Группа 2 n= 20 (симвастатин)	Группа 3 n= 35 (гиперхолесте- риновая диета)	Группа 4 n= 35 (гиперхолесте- риновая диета + симвастатин)
ПВК, мкмоль/мг белка	2,25±,16	0,4±0,04 p<0,001	7,15±0,71 p<0,001	3,36±0,25 p<0,001, p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Лактат, мкмоль/мг белка	3,96±0,45	10,02±1,21 p<0,001	6,86±0,66 p<0,001	4,63±0,49 p>0,05 p ₁ >0,001 p ₂ <0,001

Группы Показатели	Группа 1 n= 20 (контрольная группа)	Группа 2 n= 20 (симвастатин)	Группа 3 n= 35 (гиперхолесте- риновая диета)	Группа 4 n= 35 (гиперхолесте- риновая диета + симвастатин)
СДГ, нмоль/мг белка	2,14±0,23	2,32±0,24 p>0,05	2,43±0,26 p>0,05	0,78±0,06 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
ЦХО, нмоль/мг белка	0,0039±0,0006	0,0048±0,0004 p>0,05	0,0036±0,0003 p>0,05	0,0011±0,0002 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
GSH, мкмоль/мг белка	28,10±4,52	36,27±3,53 p>0,05	96,72±6,68 p<0,001	48,43±3,21 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
ГПО, мкмоль/мг белка	13,14±0,77	7,74±0,73 p<0,001	6,56±0,66 p<0,001	2,56±0,27 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
ГР, мкмоль/мг белка	0,023±0,004	0,032±0,003 p>0,05	0,047±0,004 p<0,001	0,030±0,001 p>0,05 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05

Примечание: p – степень достоверности относительно группы 1; p₁ – степень достоверности относительно группы 3; p₂ – степень достоверности относительно группы 2, при p≤0,05 изменения достоверны.

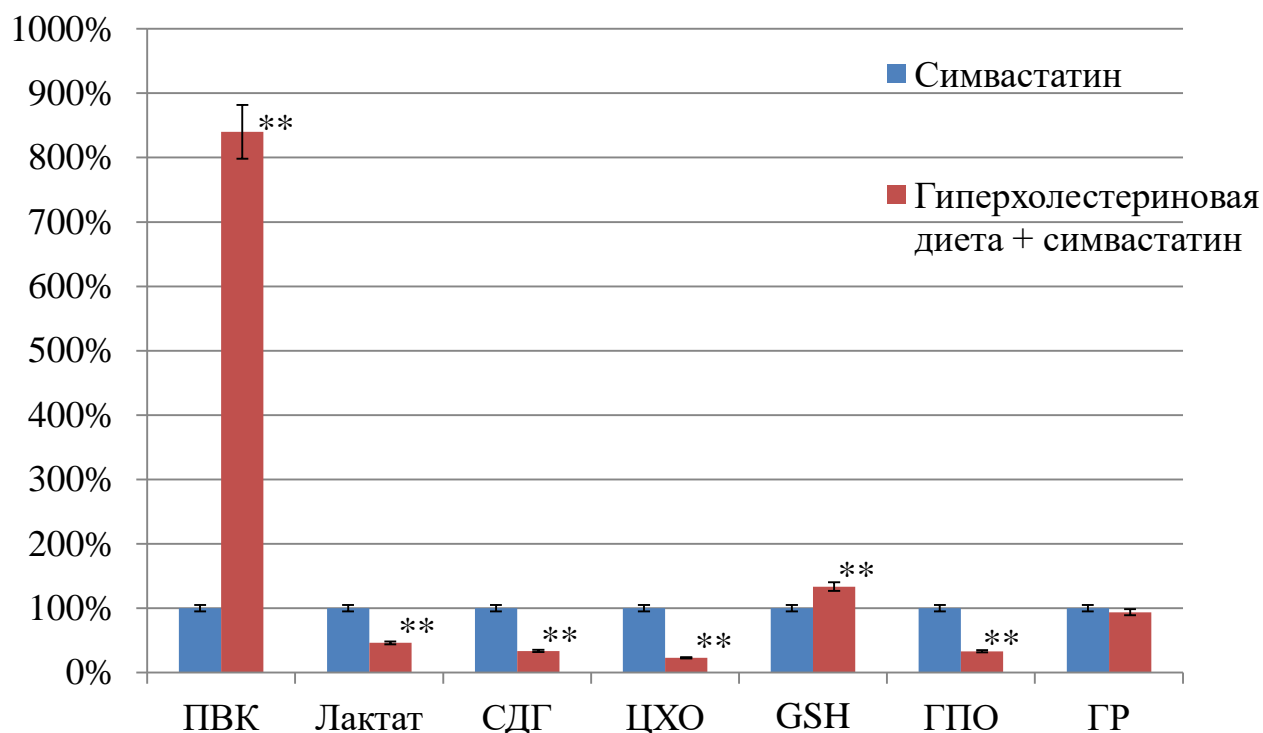


Рисунок 10 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина относительно группы, получавшей симвастатин

Примечание: ** - достоверно относительно группы, получавшей симвастатин (в процентах)

У животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина относительно группы, получавшей симвастатин (рисунок 10) зафиксировано резкое увеличение ПВК на 740 % ($p_2 < 0,001$) и снижение концентрации лактата на 53,79 % ($p_2 < 0,001$). Полученные данные относительно лактата и пирувата при сравнении этих групп подтверждают наличие недоокисленных продуктов гликолиза, свидетельствующие о развитии нарушений окислительных процессов в мышечной ткани.

Кроме этого, у группы «гиперхолестеринемия + симвастатин» относительно группы «симвастатин» также выявлено уменьшение активности цитохромоксидазы на 66,38 % ($p_2 < 0,001$) и сукцинатдегидрогеназы на 77,08 % ($p_2 < 0,001$).

При сравнении полученных результатов группы, содержащейся на гиперхолестериновой диете и получавшей симвастатин, по отношению к группе «симвастатин» отмечено снижение активности ГПО на 66,93 % ($p_2 < 0,001$) и ГР на 6,25 % ($p_2 > 0,05$), а уровень GSH увеличился на 33,53 % ($p_2 < 0,05$).

Снижение активности глутатионпероксидазы, может быть связано с тем, что основным механизмом, направленным на сохранение внутриклеточной антиокислительной активности, является окисление SH-групп глутатиона.

На рисунке 11 предоставлено сравнение результатов биохимических показателей мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин, по отношению к контрольной группе.

В гомогенате мышц испытуемых животных группы «гиперхолестеринемия + симвастатин» обнаружено относительно контрольной группы увеличение концентрации ПВК на 49,33 % ($p < 0,001$), а лактата на 16,92 % ($p > 0,05$).

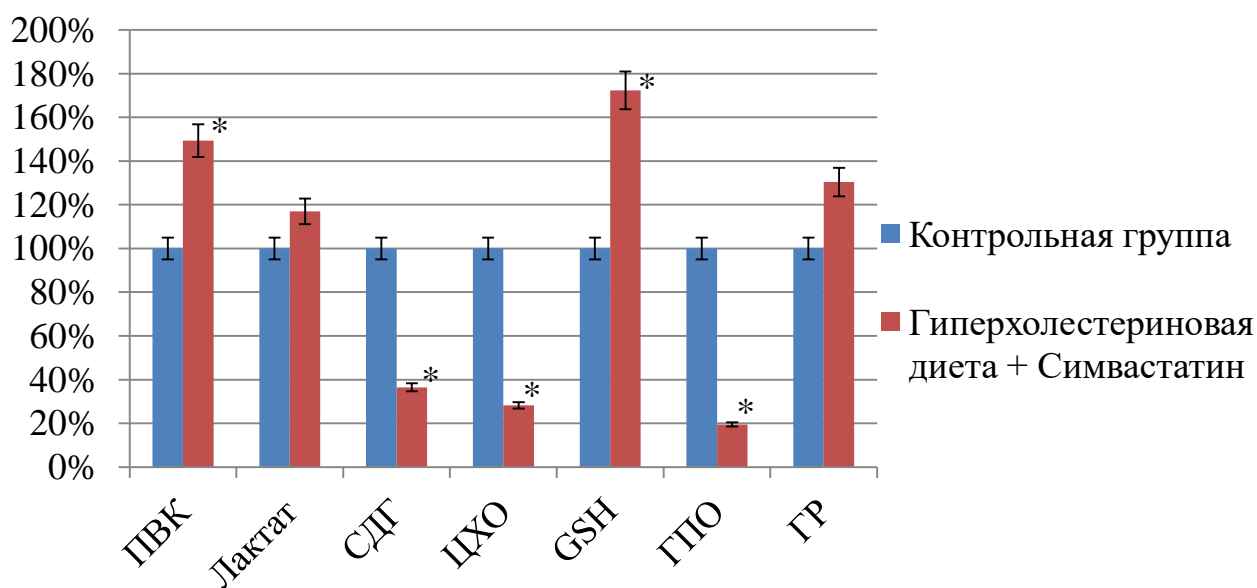


Рисунок 11 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

В митохондриях группы животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при продолжительном применении симвастатина зарегистрировано существенное уменьшение активности ЦХО на 71,79% ($p < 0,001$) и СДГ на 63,55% ($p < 0,001$) относительно группы контроля. Такие изменения могут быть связаны с ингибирующим воздействием повышенной концентрации лактата, который способен вступать в реакции межмолекулярной дегидратации и образовывать комплексы с мембранными фосфолипидами, а также снижать поступление кислорода в клетку (Сторожук П.Г., 2011).

Эти данные подтверждают имеющееся мнение Ланкина В.З. о том, что статины могут рассматриваться как прооксиданты в определенных внутриклеточных условиях (Ланкин В.З. [и др.], 2007).

При сравнении полученных результатов группы, содержащейся на гиперхолестериновой диете и получавшей симвастатин, с показателями животных контроля отмечено снижение активности ГПО на 80,52 % ($p < 0,001$), увеличение ГР на 30,43 % ($p > 0,05$) и уровня GSH на 72,35 % ($p < 0,001$).

Снижение активности глутатионпероксидазы, может быть связано с тем, что основным механизмом, направленным на сохранение внутриклеточной антиокислительной активности, является окисление тиольных групп глутатиона.

При сравнительном анализе группы 4 (животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин) по сравнению с группой 3 (животных с гиперхолестеринемией) установлено уменьшение концентрации ПВК на 53,01 % ($p_1 < 0,001$) и лактата на 32,51 % ($p_1 > 0,001$) (рисунок 12). Необходимо обратить внимание на то, что, несмотря на сохраняющийся режим питания, включение симвастатина в качестве терапии привело к понижению концентрации и ПВК, и лактата.

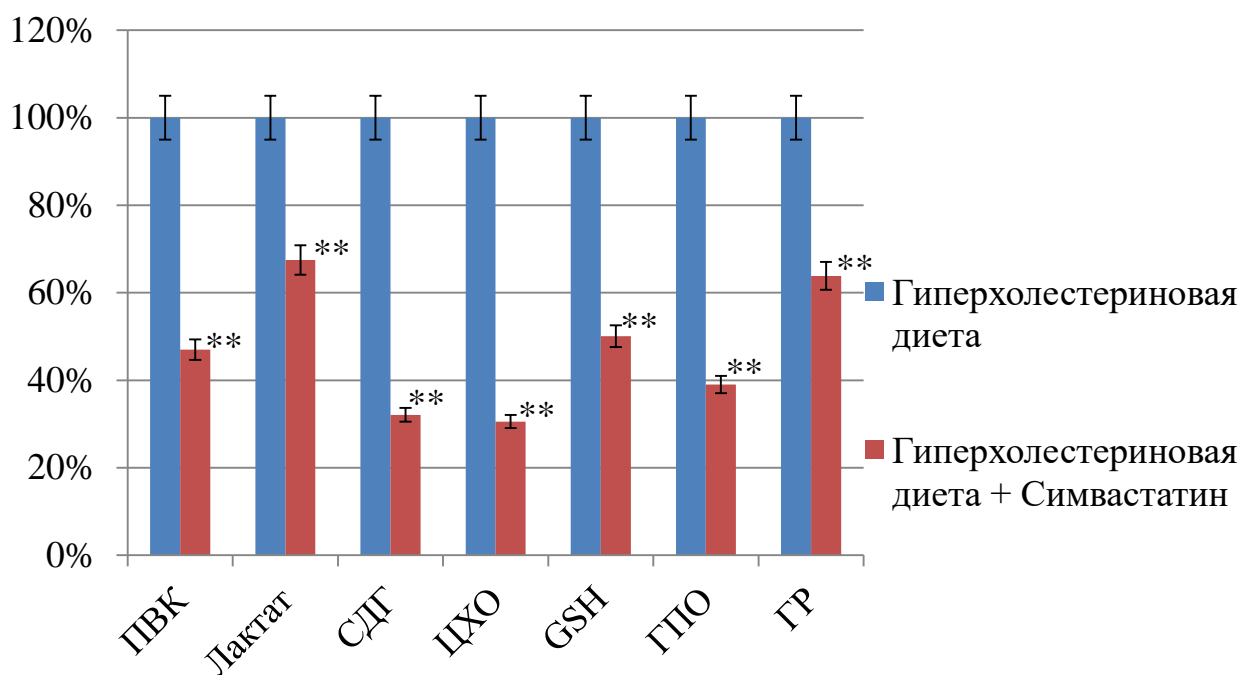


Рисунок 12 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией

Примечание: ** - достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией (в процентах)

Помимо этого, у животных группы 4 в митохондриях отмечено понижение активности СДГ на 67,90 % ($p_1 < 0,001$) и ЦХО на 69,44 % ($p_1 < 0,001$) по отношению к группе сравнения.

В источниках литературы имеются противоречащие друг другу данные о нарушениях биосинтеза убихинона при введении высоких доз статинов. В связи с этим, можно предположить, что выявленное понижение активности ЦХО и СДГ может быть связано с дефицитом коэнзима, осуществляющего коллекторную функцию и обеспечивающего полноценное окисление NAD- и FAD-зависимых субстратов (Микашинович З.И., Новодержкина Ю.Г., Белоусова Е.С., 2007).

У крыс с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина в процессе проведения эксперимента выявлено уменьшение активности глутатионзависимых ферментов: ГПО на 60,98 % ($p_1 < 0,001$), ГР на

36,17 % ($p_1 < 0,001$) и концентрации GSH на 49,93 % ($p_1 < 0,001$) относительно показателей группы сравнения. Судя по полученным данным, характер изменений активности ГПО и ГР направлен на усиление защитной роли GSH и как установлено угнетение активности (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 2009).

Анализ биохимических изменений у животных с моделированной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина, выявил различную динамику показателей относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией. При введении в рацион лекарственного препарата «Зокор[®], 20 мг» концентрации ПБК и лактата постепенно снижаются, но по отношению к контрольной группе остаются повышенными.

Активность ферментов энергетического обмена значительно снизилась не только по отношению к группе с эссенциальной гиперхолестеринемией, но и контрольной.

Динамика активности показателей глутатионзависимых ферментов у животных с индуцированной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина значительно снизились относительно группы сравнения. Однако необходимо отметить, что по отношению к контрольной группе даже после приема симвастатина активность GSH и ГР оставалась повышенной, а активность ГПО значительно снижена.

Полученные результаты проведенного эксперимента обосновывают целесообразность их использования как модели для разработки и апробации различных схем метаболической коррекции внутриклеточных сдвигов, происходящих при гиперхолестеринемии и длительном применении симвастатина.

Таким образом, исходя из вышеизложенного, можно утверждать, что снижение уровня холестерина на фоне статинового воздействия связано с угнетением активности ферментов дыхательной цепи, усилением анаэробной направленности обменных процессов, что уменьшает энергетический потенциал митохондрий миоцитов. Глутатионовое звено реагирует на длительную терапию статинами неоднозначно. Патогенетически важным является тот факт, что после

лечения статинами уровень GSH возрастает, а активность ГПО угнетается относительно результатов полученных у группы с гиперхолестеринемией без лечения.

Выделение «критических точек» в ключевых участках обмена обосновывает целесообразность внесения в программу дальнейших исследований веществ, точкой приложения, действия которых являются биоэнергетические реакции.

ГЛАВА 4

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЖИВОТНЫХ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СИМВАСТАТИНА В СОЧЕТАНИИ С УБИХИНОНОМ

На основании данных эксперимента проведенного в лаборатории кафедры общей и клинической биохимии №1 ранее, и данных литературы, можно предположить, что одним из факторов патогенеза статиновой миопатии может быть дефицит коэнзима Q₁₀, сопровождающийся нарушением биоэнергетических процессов (Микашинович З.И., Белоусова Е.С., 2016). Однако в литературе имеются противоречивые данные об изменении уровня убихинона при приеме статинов, как в клинических условиях, так и в условиях эксперимента. При этом, согласно результатам клинических исследований, применение экзогенного CoQ₁₀ не приводило к улучшению клинического состояния пациентов со статиновой миопатией (Драпкина О.М., Чернова Е.М., Корнеева О.Н., 2012).

4.1. Группа, получавшая длительное время симвастатин (Зокор[®]) и убихинон (Кофермент Q₁₀)

В таблице 4 отражены изменения обменных процессов у животных при длительном введении симвастатина «Зокор[®], 20 мг» и «Кофермента Q₁₀, 30 мг».

Таблица 4 – Биохимические изменения показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ (M±m, p)

Группы Показатели	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 2 n=20 (симвастатин)	Группа 3 n=20 (симвастатин + кофермент Q ₁₀)
ПВК, мкмоль/мг белка	2,25±,16	0,40±0,04 p<0,001	0,34±0,03 p<0,001 p ₁ >0,05
Лактат, мкмоль/мг белка	3,96±0,45	10,02±1,21 p<0,001	6,72±0,67 p<0,001 p ₁ <0,05
СДГ, нмоль/мг белка	2,14±0,23	2,32±0,24 p>0,05	2,41±0,21 p>0,05 p ₁ >0,05
ЦХО, нмоль/мг белка	0,0039±0,0006	0,0048±0,0004 p>0,05	0,0033±0,0003 p>0,05 p ₁ <0,001
GSH, мкмоль/мг белка	28,10±4,52	36,27±3,53 p>0,05	25,81±2,51 p>0,05 p ₁ <0,001
ГПО, мкмоль/мг белка	13,14±0,77	7,74±0,73 p<0,001	14,88±1,22 p>0,05 p ₁ <0,001
ГР, мкмоль/мг белка	0,023±0,004	0,032±0,003 p>0,05	0,023±0,002 p≥0,05 p ₁ <0,001

Примечание: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p₁ – степень достоверности относительно группы, получавшей симвастатин, при p≤0,05 изменения достоверны.

Как следует из полученных результатов, при сравнении группы, получавшей симвастатин в комплексе с коферментом Q₁₀ по отношению к контрольным животным (рисунок 13), выявлены значимые изменения: снижение концентрации ПВК на 84,89 % (p<0,001) и увеличение лактата на 69,7 % (p<0,001). Опираясь на полученные результаты, можно предположить активацию анаэробного гликолиза. Известно, что значительное накопление лактата может приводить к развитию осложнений связанных с мышечной тканью: миопатии, рабдомиолиз и др.

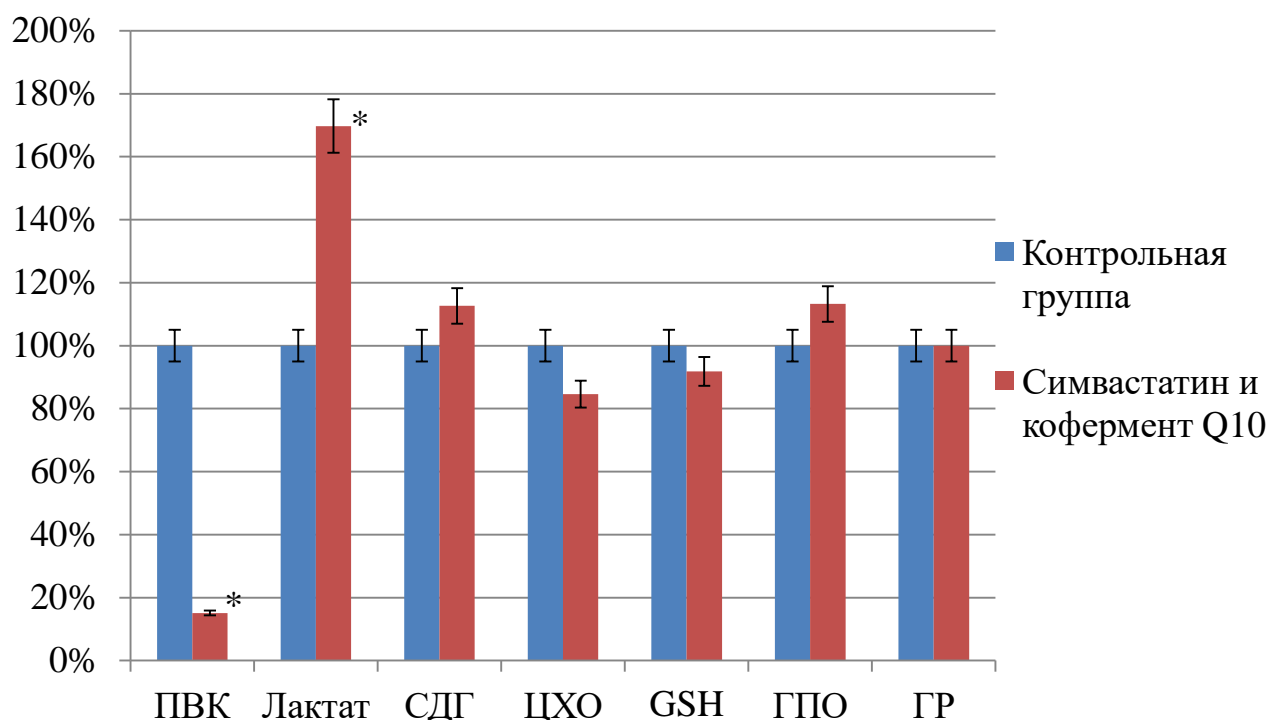


Рисунок 13 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

В митохондриях установлены следующие изменения: тенденция к уменьшению активности ЦХО на 15,38 % (p>0,05) и увеличению СДГ на 12,62 % (p>0,05) по отношению к группе 1, указывающие на формирование нарушений в дыхательной цепи митохондрий.

При наблюдении за активностью глутатионзависимых ферментов также не обнаружено существенных изменений: регистрировалось недостоверное снижение содержания GSH на 8,15 % ($p > 0,05$), повышение активности ГПО на 13,24 % ($p > 0,05$), а активность ГР осталась без изменения по отношению к показателям контрольной группы.

Таким образом, не установлено существенного влияния убихинона (кофермента Q₁₀) на метаболические процессы после введения статинов. Что можно рассматривать как адаптивные перестройки вызванные коферментом Q₁₀.

При сравнении с группой животных, получавших только симвастатин, зарегистрированы данные, отраженные на рисунке 14. Концентрация ПВК практически не изменилась на 15 % ($p_1 > 0,05$), а концентрация лактата достоверно снизилась на 32,93 % ($p_1 < 0,05$), что свидетельствует об уменьшении развития кислородной недостаточности.

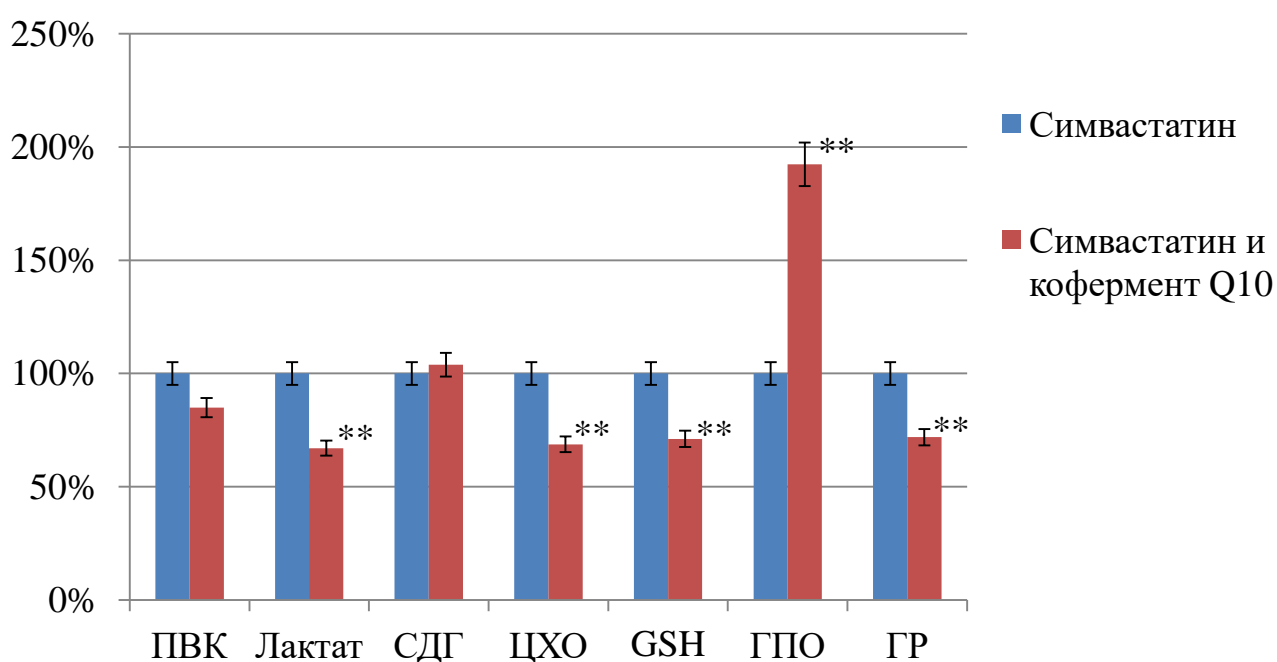


Рисунок 14 – Динамика показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ относительно группы получавшей симвастатин

Примечание: ** - достоверно относительно группы, получавшей симвастатин (в процентах)

При рассмотрении показателей активности ферментов энергетического обмена, в группе «симвастатин + кофермент Q₁₀» обнаружено снижение активности ЦХО на 31,25 % ($p_1 < 0,001$), а СДГ достоверно не отличалось относительно группы «симвастатин». Резкое снижение активности цитохромоксидазы говорит о значимом нарушении работы комплекса IV, что можно рассматривать как специфическую реакцию митохондрий в условиях избытка убихинона (кофермента Q₁₀).

Кроме этого, в рассматриваемой экспериментальной группе выявлено достоверное снижение активности GSH на 28.84 % ($p_1 > 0,001$) и ГР на 28,13 % ($p_1 > 0,001$), а так же резкое повышение активности ГПО на 92,25 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы сравнения. Увеличение активности ГПО возможно связано с антиоксидантными свойствами убихинона, а также свидетельствует о снижении интенсивности прооксидантных процессов.

Биохимические изменения, происходящие при введении убихинона можно расценивать в целом как тенденцию, направленную на восстановление окислительно-восстановительных процессов и усиление аэробной фазы метаболизма на фоне действия симвастатина, хотя баланс лактат/пируват остается нарушенным у группы, получавшей рацион вивария, симвастатин и кофермент Q₁₀.

4.2. Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном сочетанном введении симвастатина (Зокор[®]) и убихинона (Кофермент Q₁₀)

Результаты биохимические изменения показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Биохимические изменения показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ (M±m, p)

Группы Показатель	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 4 n=35 (гиперхолестериновая диета)	Группа 5 n=35 (гиперхолестериновая диета + симвастатин)	Группа 6 n=30 (гиперхолестериновая диета + симвастатин + кофермента Q ₁₀)
ПВК, мкмоль/мг белка	2,25 ± 0,16	7,15±0,71 p<0,001	3,36±0,25 p<0,001	0,36 ± 0,03 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Лактат, мкмоль/мг белка	3,96 ± 0,45	6,86±0,66 p<0,001	4,63±0,49 p>0,05	13,64 ± 1,33 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
СДГ, нмоль/мг белка	2,14 ± 0,23	2,43±0,26 p>0,05	0,78±0,06 p<0,001	2,01 ± 0,26 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
ЦХО, нмоль/мг белка	0,0039 ± 0,0006	0,0036±0,000 3 p>0,05	0,0011±0,0002 p<0,001	0,0031±0,0004 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001

Группы Показатель	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 4 n=35 (гиперхолес- териновая диета)	Группа 5 n=35 (гиперхолес- териновая диета + симвастатин)	Группа 6 n=30 (гиперхолес- териновая диета + симвастатин + кофермента Q ₁₀)
GSH, мкмоль/мг белка	28,10 ± 4,52	96,72±6,68 p<0,001	48,43±3,21 p<0,001	39,19 ± 3,63 p>0,05 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05
ГПО, мкмоль/мг белка	13,14 ± 0,77	6,56±0,66 p<0,001	2,56±0,27 p<0,001	6,54 ± 0,67 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
ГР, мкмоль/мг белка	0,023 ± 0,004	0,047±0,004 p<0,001	0,030±0,001 p>0,05	0,036 ± 0,003 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05

Примечание: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p₁ – степень достоверности относительно группы 4; p₂ – степень достоверности относительно группы 5, при p≤0,05 изменения достоверны.

На рисунке 15 графически отражено сравнение животных, содержащихся на гиперхолестериновой диете и получавшие симвастатин в сочетании с коферментом Q₁₀, и группы, содержащейся на гиперхолестериновой диете. Как видно из рисунка было выявлено значительные изменения: понижение концентрации ПВК на 94,97 % (p₁<0,001) и повышение уровня лактата на 98,83 % (p₁<0,001). Выявленные изменения отражают тенденцию к снижению

интенсивности аэробных процессов за счет аллостерического влияния ключевых метаболитов по принципу отрицательной обратной связи.

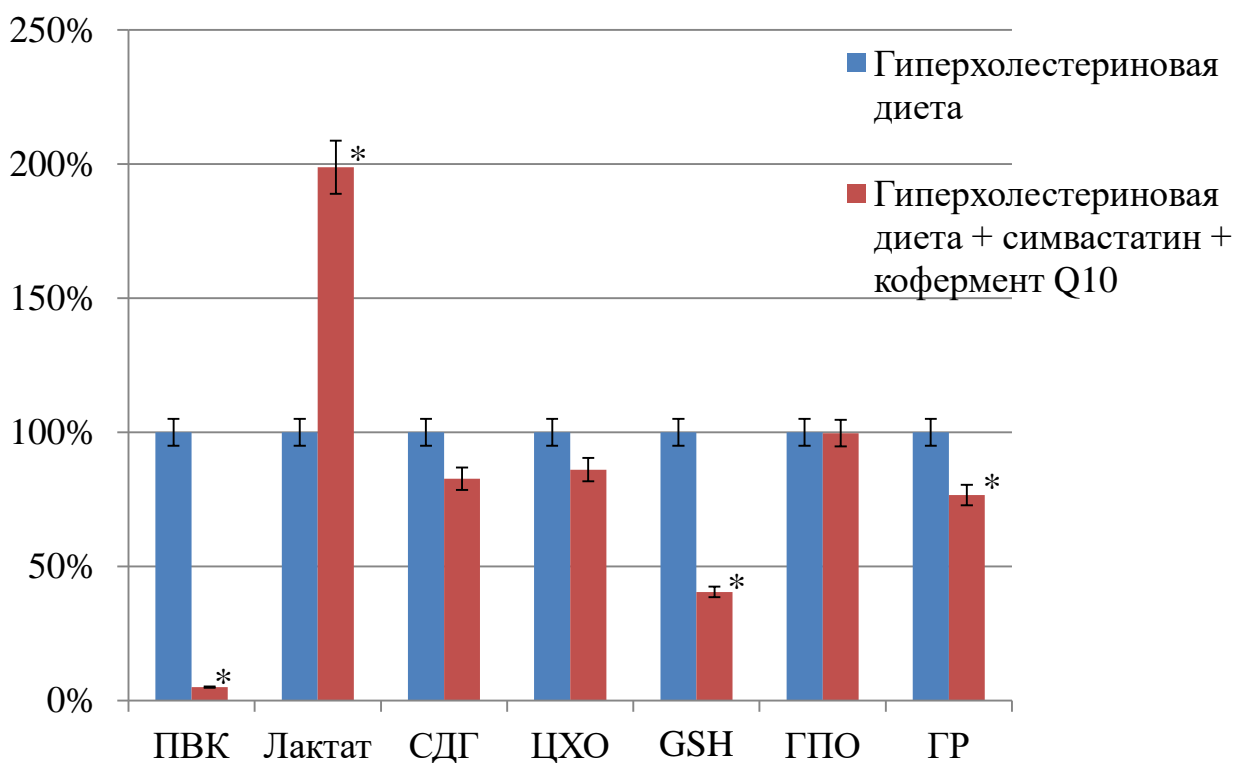


Рисунок 15 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией
Примечание: * - достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией
 (в процентах)

При сопоставлении результатов ферментов, отвечающих за энергетический обмен в митохондриях, у группы животных, содержащиеся на гиперхолестериновой диете и получавшие симвастатин в сочетании с коферментом Q₁₀, установлено небольшое понижение активности от значений группы, содержащейся на гиперхолестериновой диете: ЦХО на 17,28 % ($p_1 > 0,05$) и СДГ на 13,89 ($p_1 > 0,05$).

При рассмотрении активности ферментов глутатионового звена антиоксидантной защиты у экспериментальной группы, было выявлено снижение GSH на 59,48 % ($p_1 < 0,001$) и ГР на 23,40 % ($p_1 < 0,05$), а ГПО не изменился по отношению к группе с эссенциальной гиперхолестеринемией.

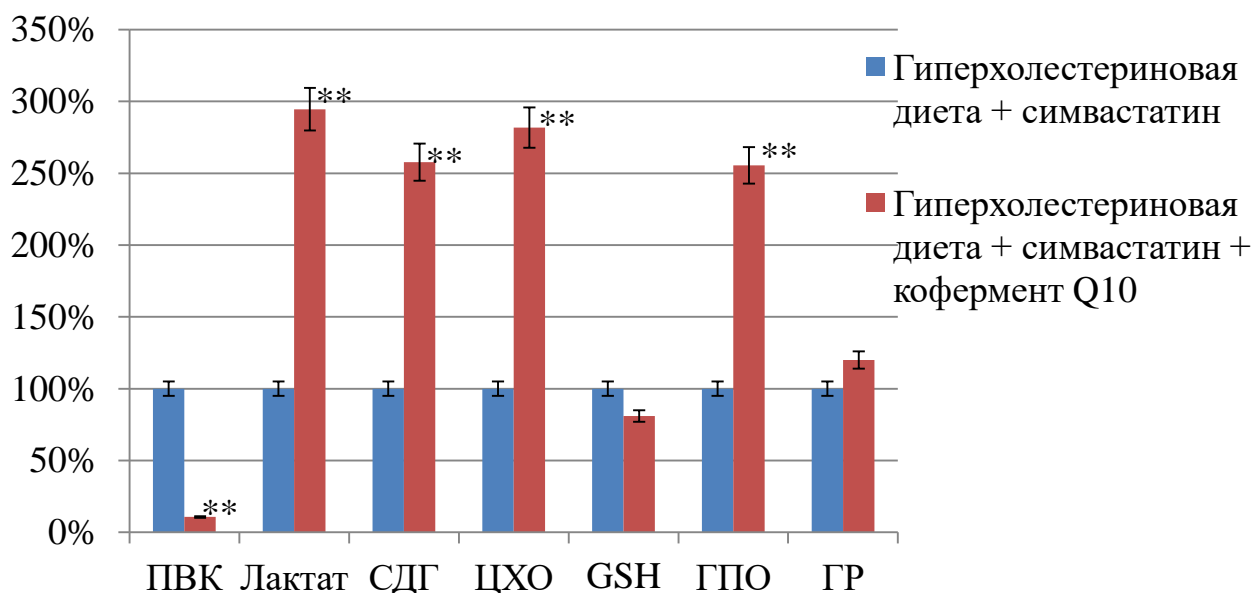


Рисунок 16 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией получавшей симвастатин

Примечание: * - достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин (в процентах)

Анализ показателей в мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин в комплексе с коферментом Q₁₀ (группа 6), обнаружено уменьшение уровня ПВК на 89% ($p_2 < 0,001$), в то время как уровень лактата повысился по сравнению с показателями группы 5 на 194,6 % ($p_2 < 0,001$) (рисунок 16).

Определяя активность ферментов, участвующих в энергетическом обмене, выявлено значительное повышение активности СДГ на 157,69% ($p_2 < 0,001$) и ЦХО на 181,82% ($p_2 < 0,001$) относительно группы сравнения.

Кроме этого, выявлено значительное повышение активности ГПО на 155,47 % ($p_2 < 0,001$), сопровождающиеся небольшим ростом активности ГР и понижением уровня GSH относительно показателей группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин.

Сравнивая полученные результаты групп контроля и животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и коферментом Q₁₀ (рисунок 17) выявлено снижение уровня ПВК на 84 % ($p < 0,001$), тогда как уровень лактата увеличился относительно показателей на 244,44 % ($p < 0,001$).

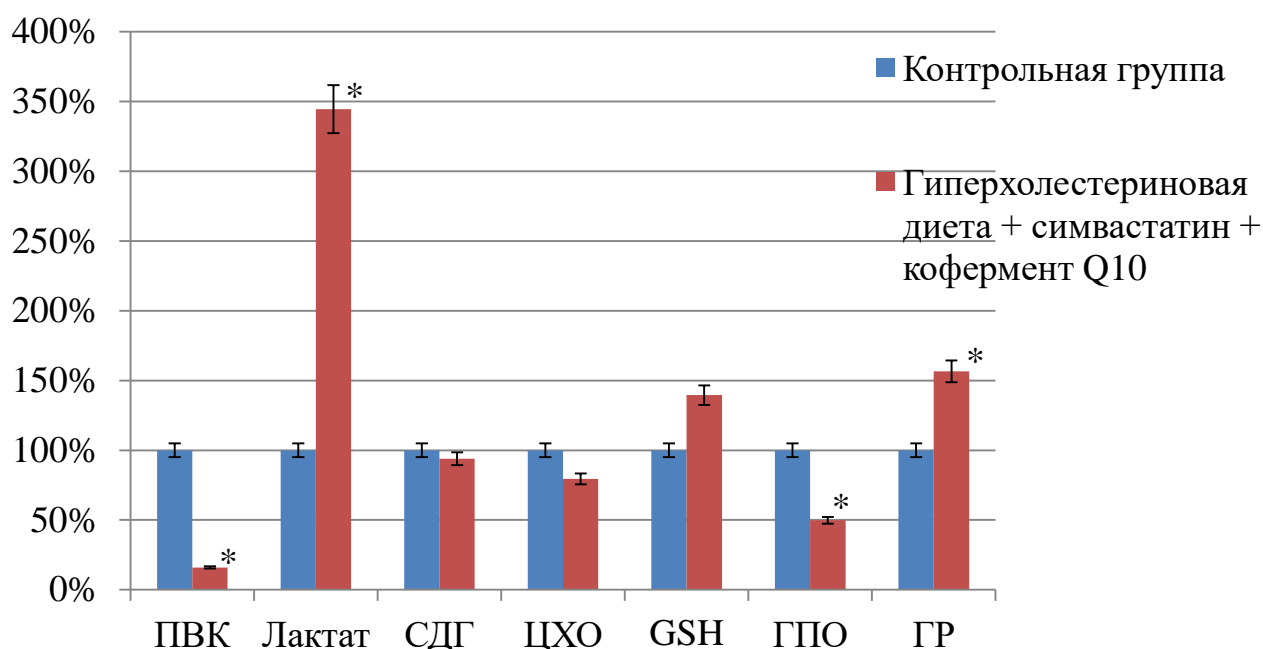


Рисунок 17 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и кофермент Q₁₀ относительно контрольной группы

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

Относительно показателей группы контроля активность ферментов ЦХО и СДГ достоверно не отличалась.

Активность ГПО оставалась сниженной на 50,23% ($p < 0,001$), активность ГР была увеличена на 56,52 % ($p < 0,05$), а содержание GSH на 39,47% ($p > 0,05$) по отношению к показателям контрольной группы.

Введение симвастатина в сочетании с убихиноном способствовало повышению активности СДГ и ЦХО до значений контрольной группы. Можно полагать, что убихинон, выполняя челночную функцию на сукцинат-зависимом участке дыхательной цепи, опосредованно способствует повышению эффективности аэробного метаболизма за счет окисления FAD-зависимых субстратов и подтверждает роль СДГ как защитного механизма в экстремальных условиях.

Повышение активности ГПО и снижение уровня GSH, может быть обусловлено антиоксидантными свойствами самого убихинона. Повышение активности митохондриальных ферментов после сочетанного введения симвастатина с убихиноном, надо полагать, частично устраняет отрицательный аллостерический эффект на активность ГПО.

Таким образом, сочетание симвастатиновой терапии с добавлением CoQ₁₀ приводит к восстановлению работы дыхательной цепи на уровне СДГ – ЦХО, что способствует поддержанию запасов АТФ, необходимых, в том числе для сохранения баланса GSH/GSSG.

В тоже время активность ГПО, не достигающая данных контроля приводит к изменению гомеостатического контроля, что документируется сохранением повышенного уровня глутатиона. Это может быть связано с накоплением H₂O₂, ускоряющим поступление цистеина в клетку и вызывающим экспрессию генов, приводящей в конечном итоге к активации глутатионсинтетазы.

Все вышеотмеченные метаболические события происходят на фоне роста уровня молочной кислоты и уменьшения содержания пирувата, что позволяет думать о снижении транспорта лактата в кровь и накоплении в мышечной клетке недоокисленных продуктов.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что введение CoQ₁₀ не нивелирует прооксидантное действие статина и влияние убихинона на обменные

процессы ограничивается оптимизацией работы дыхательной цепи на уровне СДГ, которая позволяет в аварийной ситуации обеспечивать и поддерживать мышечную деятельность.

Можно полагать, что комплексное введение статинов и CoQ₁₀ может быть эффективно для профилактики ранних нарушений структурно-функционального состояния мышц при реализации программы длительного приема агрессивных доз статинов.

В то же время сохраняющиеся нарушения в системе обмена глутатиона являются основанием для поиска адекватных метаболических корректоров, обладающих широким спектром действия.

ГЛАВА 5

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СКЕЛЕТНОЙ
МЫШЦЕ ЖИВОТНЫХ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ
ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ
СИМВАСТАТИНА В СОЧЕТАНИИ С ЛИПОВОЙ КИСЛОТОЙ

Согласно данным литературы, на сегодняшний день накоплен обширный материал по применению липоевой кислоты в качестве метаболического корректора при различных патологических состояниях (Гридасова Р.А., 2011).

5.1. Длительное введение симвастатина (Зокор®) и липоевой кислоты (Тиоктацид® БВ)

Биохимические изменения показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Биохимические изменения показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты ($M \pm m$, p)

Группы Показатели	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 2 n=20 (симвастатин)	Группа 3 n=20 (симвастатин + липоевая кислота)
ПВК, мкмоль/мг белка	2,25±,16	0,4±0,04 p<0,001	1,14±0,13 p<0,001 p ₁ <0,001
Лактат, мкмоль/мг белка	3,96±0,45	10,02±1,21 p<0,001	10,09±1,08 p<0,001 p ₁ >0,05

Группы Показатели	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 2 n=20 (симвастатин)	Группа 3 n=20 (симвастатин + липоевая кислота)
СДГ, нмоль/мг белка	2,14±0,23	2,32±0,24 p>0,05	4,17±0,40 p<0,001 p ₁ <0,001
ЦХО, нмоль/мг белка	0,0039±0,0006	0,0048±0,0004 p>0,05	0,0035±0,0003 p>0,05 p ₁ <0,05
GSH, мкмоль/мг белка	28,10±4,52	36,27±3,53 p>0,05	27,74±2,74 p>0,05 p ₁ >0,05
ГПО, мкмоль/мг белка	13,14±0,77	7,74±0,73 p<0,001	12,80±0,95 p>0,05 p ₁ <0,001
ГР, мкмоль/мг белка	0,023±0,004	0,032±0,003 p>0,05	0,054±0,005 p<0,001 p ₁ <0,001

Примечание: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p₁ – степень достоверности относительно группы, получавшей симвастатин, при p≤0,05 изменения достоверны.

У крыс, получавших при продолжительном введении симвастатина и липоевую кислоту наблюдали (рисунок 18): снижение концентрации ПВК на 49,33 % (p<0,001) и значимое повышение уровня лактата на 154,8 % (p<0,001) относительно группы контроля. Выявленные изменения говорят о накоплении молочной кислоты и преобладании анаэробного гликолиза.

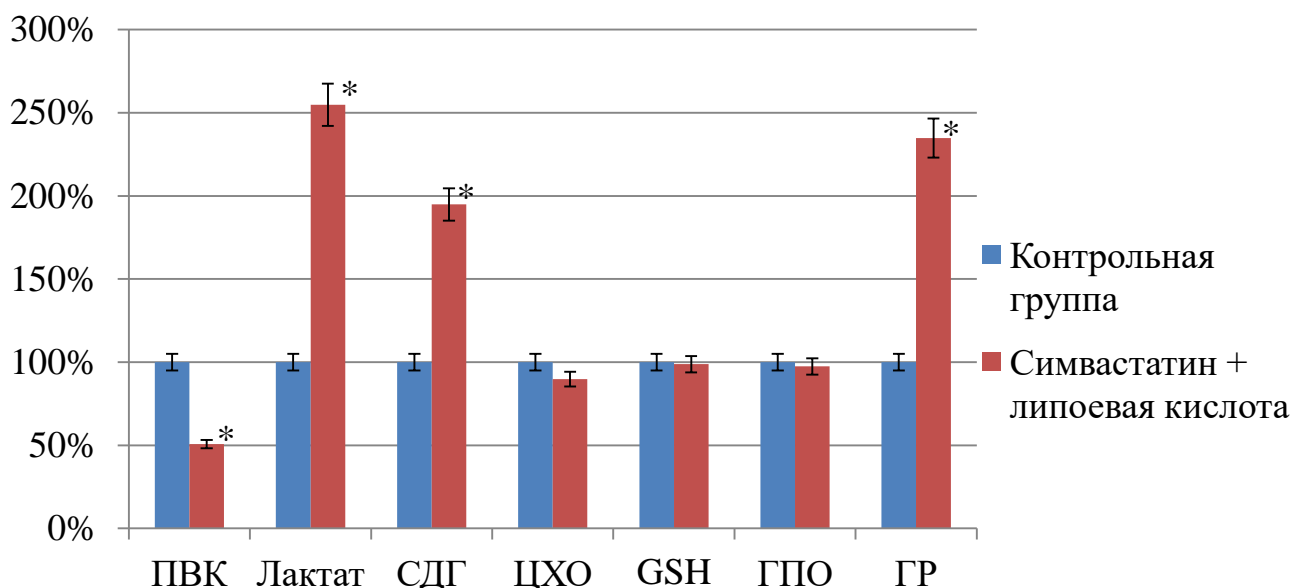


Рисунок 18 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

При определении активности ферментов энергетического обмена выявлено значительное повышение активности СДГ на 94,86 % ($p < 0,001$) и тенденция к уменьшению активности ЦХО на 10,26 % ($p > 0,05$) относительно контрольной группы. Принимая во внимание коферментную роль липоевой кислоты в реакциях дегидрирования, можно предположить, что при комплексном введении с симвастатином, она способствует устранению нарушений энергетического обмена и окислению молочной кислоты в пировиноградную, а также снижает выраженность метаболического ацидоза в сердечной мышце (Сторожук П.Г., 2011).

Кроме этого, в ходе эксперимента выявлено незначительное снижение GSH на 1,28 % ($p > 0,005$) и ГПО на 2,59 % ($p > 0,005$), в то время как концентрация ГР резко увеличилась на 134,78 % ($p < 0,001$) относительно показателей контроля. Значительное увеличение глутатионредуктазы можно расценивать как компенсаторное усиление систем антирадикальной защиты.

При сравнении полученных результатов группы «симвастатин + липоевая кислота» по отношению к группе «симвастатин» (рисунок 19) выявлено значительное повышение концентрации ПВК на 185 % ($p_1 < 0,001$), в то время как показатели лактата не отличались. Увеличение уровня ПВК может рассматриваться с одной стороны, как показатель снижения лактоацидоза, а с другой стороны, как показатель интенсивности окислительного распада глюкозы.

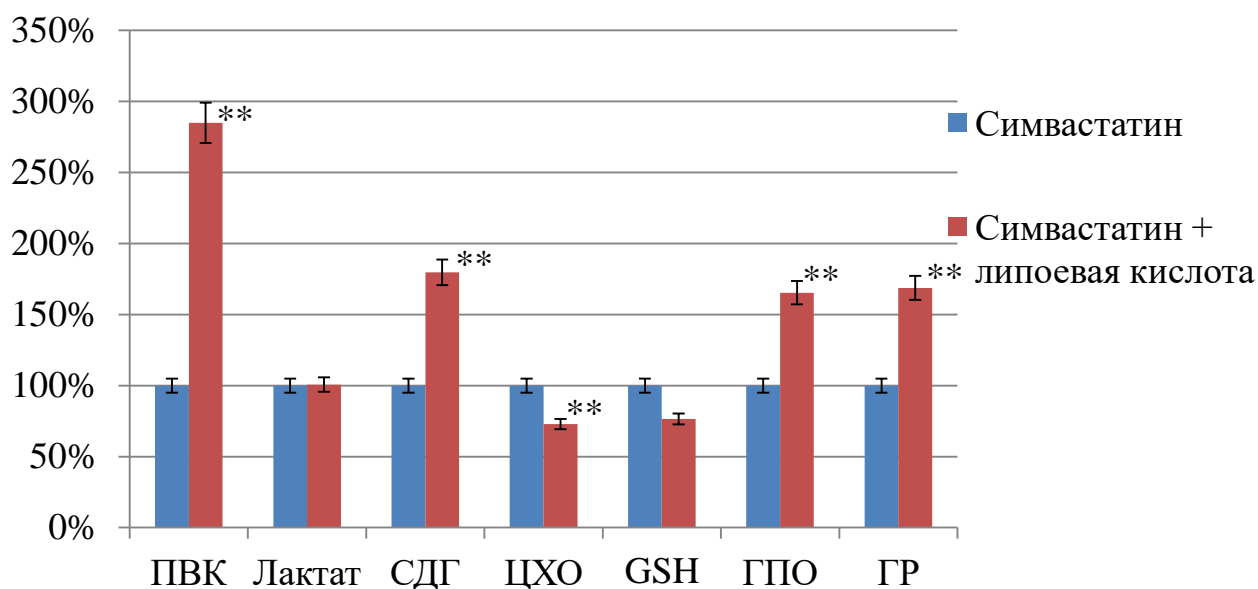


Рисунок 19 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты относительно группы, получавшей симвастатин

Примечание: ** - достоверно относительно группы, получавшей симвастатин (в процентах)

При определении в митохондриях активности ферментов энергетического обмена выявлено, что активность ЦХО снизилась на 27,08 % ($p_1 < 0,05$), а СДГ повысилась на 79,74 % ($p_1 < 0,001$) от показателей группы сравнения. Значительное увеличение активности сукцинатдегидрогеназы характерно для «аварийных» ситуаций и подтверждает формирование механизмов адаптации к гипоксии мышечной ткани.

При наблюдении за активностью ферментов глутатионового звена антиоксидантной защиты было зафиксировано: увеличение ГПО на 65,37 % ($p_1 < 0,001$) и ГР – на 68,75 % ($p_1 < 0,001$), а концентрация GSH имела тенденцию к понижению на 23,52 % ($p_1 > 0,05$) относительно группы сравнения. Высокая активность глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы демонстрируют активное использование восстановленного глутатиона в защитных биохимических реакциях, проходящих в мышечной ткани.

5.2. Группа с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном сочетанном введении симвастатина (Зокор[®], 20 мг) и липоевой кислоты (Тиоктацид[®] БВ)

В таблице 7 отображены установленные биохимические изменения показателей в мышечной ткани экспериментальных животных при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты.

Таблица 7 – Биохимические изменения показателей мышечной ткани животных при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты ($M \pm m$, p)

Группы Показатель	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 5 n=35 (гиперхолестериневая диета)	Группа 6 n=35 (гиперхолестериневая диета + симвастатин)	Группа 8 n=30 (гиперхолестериневая диета + симвастатин + липоевая кислота)
ПВК, МКМОЛЬ/МГ белка	2,25 ± 0,16	7,15±0,71 $p < 0,001$	3,36±0,25 $p < 0,001$	2,06±0,19 $p > 0,05$, $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Группы Показатель	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 5 n=35 (гиперхолес- териновая диета)	Группа 6 n=35 (гиперхолес- териновая диета + симвастатин)	Группа 8 n=30 (гиперхолес- териновая диета + симвастатин + липоевая кислота)
Лактат, мкмоль/мг белка	3,96 ± 0,45	6,86±0,66 p<0,001	4,63±0,49 p>0,05	7,13±0,76 p<0,001, p ₁ >0,05 p ₂ <0,05
СДГ, нмоль/мг белка	2,14 ± 0,23	2,43±0,26 p>0,05	0,78±0,06 p<0,001	3,83±0,49 p>0,001, p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
ЦХО, нмоль/мг белка	0,0039 ± 0,0006	0,0036±0,0003 p>0,05	0,0011±0,0002 p<0,001	0,0053±0,0001 p>0,001, p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
GSH, мкмоль/мг белка	28,10 ± 4,52	96,72±6,68 p<0,001	48,43±3,21 p<0,001	54,55±5,38 p<0,001, p ₁ <0,001 p ₂ >0,05
ГПО, мкмоль/мг белка	13,14 ± 0,77	6,56±0,66 p<0,001	2,56±0,27 p<0,001	20,10±2,13 p>0,001, p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
ГР, мкмоль/мг белка	0,023 ± 0,004	0,047±0,004 p<0,001	0,030±0,001 p>0,05	0,010±0,001 p>0,001, p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примечание: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p₁ – степень достоверности относительно группы 5; p₂ – степень достоверности относительно группы 6, при p≤0,05 изменения достоверны

На рисунке 20 графически изображено сравнение группы 8 (животные, содержащиеся на гиперхолестериновой диете и получавшие симвастатин и липоевую кислоту) и группы 5 (животные, содержащиеся на гиперхолестериновой диете) выявлено значительное снижение уровня ПВК на 71,19 % ($p_1 < 0,001$), в то время как уровень лактата незначительно увеличился, такие изменения свидетельствуют о преобладании анаэробного гликолиза.

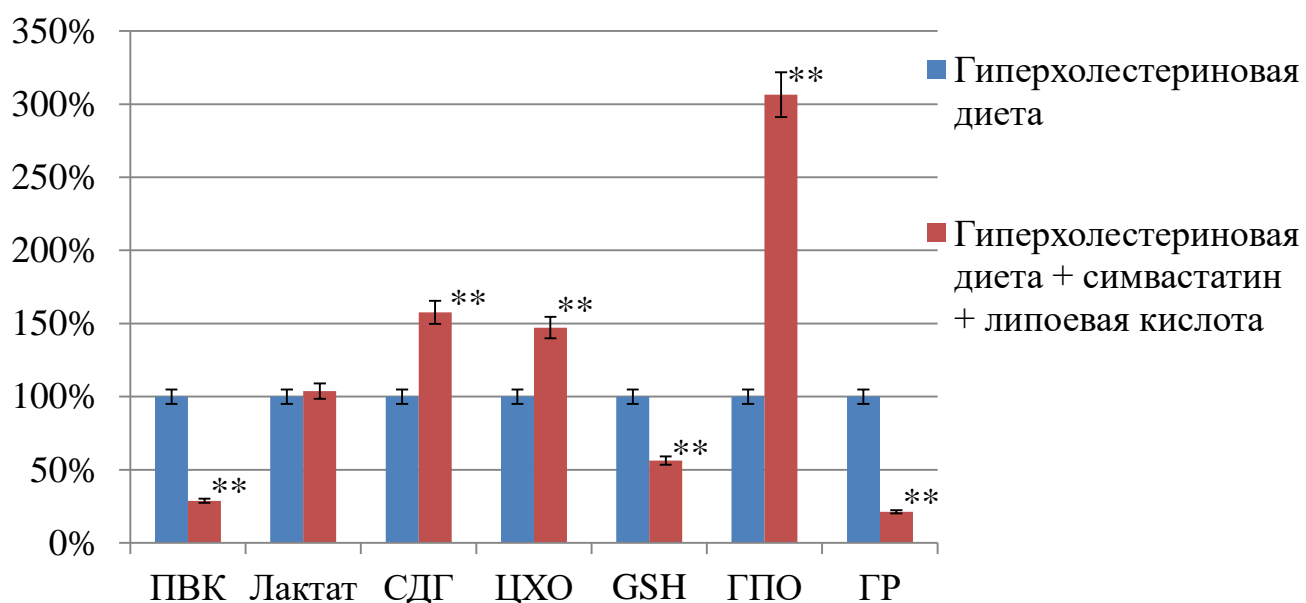


Рисунок 20 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты относительно группы с гиперхолестеринемией

Примечание: * - достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией
(в процентах)

При определении активности ферментов энергетического обмена в митохондриях отмечено увеличение активности СДГ на 57,61 % ($p_1 < 0,05$) и ЦХО на 47,22 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы 5. Выраженное увеличение активности данных показателей, указывает на тенденцию к усилению работы этого участка дыхательной цепи, направленных на сохранение запасов АТФ в клетках мышечной ткани.

При рассмотрении активности ферментов глутатионового звена антиоксидантной защиты выявлены разнонаправленные изменения: снижение уровня GSH на 43,60 % ($p_1 < 0,001$) и активности ГР на 78,72 % ($p_1 < 0,001$), относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, в то время как активность ГПО резко увеличилась на 206,40 % ($p_1 < 0,001$).

На рисунке 21 графически изображено сравнение группы 8 (животные, содержащиеся на гиперхолестериновой диете и получавшие симвастатин и липоевую кислоту) и группы 6 (животные, содержащиеся на гиперхолестериновой диете и получавшие симвастатин), где зафиксированы разнонаправленные изменения обмена кислорода: снижение уровня ПВК на 38,69 % ($p_2 < 0,001$), в то время как уровень лактата увеличился на 53,78 % ($p_2 < 0,05$), указывающие на превалирование анаэробного гликолиза.

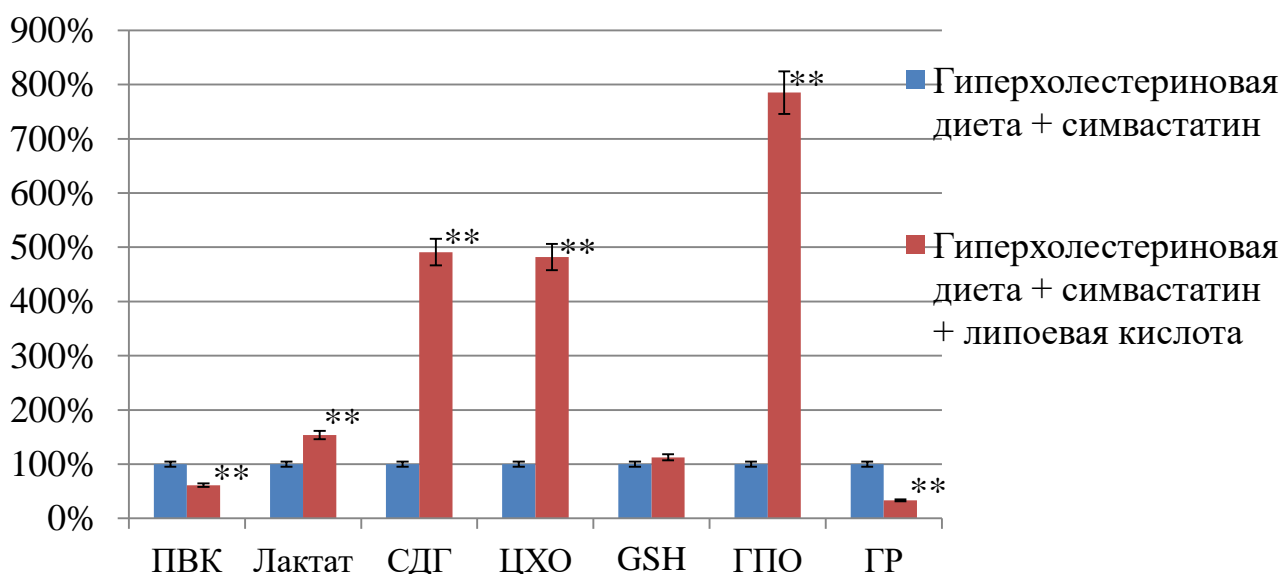


Рисунок 21 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты относительно группы с гиперхолестеринемией при сочетанном введении симвастатина

Примечание: ** - достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин (в процентах)

Активность ферментов энергетического обмена значительно увеличилась: ЦХО на 391,03 % ($p_2 < 0,001$) и СДГ на 381,82 % ($p_2 < 0,001$), относительно группы 6. Такое значимое увеличение активности свидетельствует об активации II и IV комплексов цепи окислительного фосфорилирования в митохондриях.

Анализ изменений активности ферментов антиоксидантной защиты продемонстрировал резкое увеличение активности ГПО на 685,16 % ($p_2 < 0,001$), снижение активности ГР на 66,67 % ($p_2 < 0,001$), а уровень GSH ($p_2 > 0,05$) не значительно увеличилась по отношению к группе животных с экспериментальной гиперхолестеринемией и получавших симвастатин.

При введении липоевой кислоты изменение показателей ферментов антиоксидантной защиты обмена можно интерпретировать, как включение SH-групп корректора в энергетическом обмене и снижение нагрузки на глутатионовое звено.

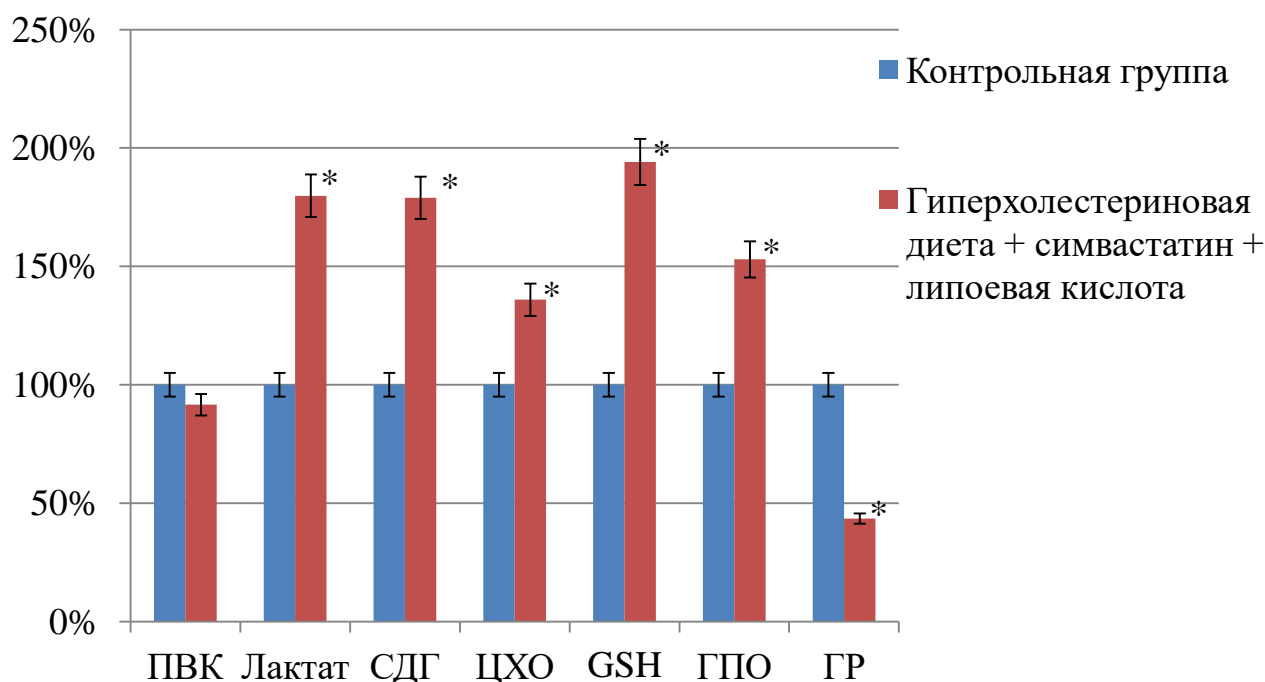


Рисунок 22 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты относительно контрольной группы

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

При сравнении животных, содержащихся на гиперхолестериновой диете и получавшие симвастатин и липоевую кислоту с группой контроля (рисунок 22) установлено незначительное снижение уровня ПВК на 8,44 % ($p > 0,05$), в то время как уровень лактата увеличился на 79,8 % ($p < 0,001$).

Повысилась активность СДГ на 78,97 % ($p > 0,001$) и активность ЦХО на 35,9 % ($p > 0,001$) относительно группы 1.

При этом активность ферментов глутатионзависимого звена была различна: увеличились показатели GSH на 94,13 % ($p < 0,001$) и ГПО на 52,97 % ($p > 0,001$), а ГР уменьшилась на 56,52 % ($p > 0,001$) по сравнению с данными группы контроля.

На основании полученных данных можно полагать, что липоевая кислота является эффективным корректором метаболических изменений при эссенциальной гиперхолестеринемии и длительном введении симвастатина.

Встраиваясь в метаболизм, липоевая кислота увеличивает эффективность аэробных процессов, усиливая обмен глюкозы, что демонстрируется увеличением соотношения пируват/лактат, и создает метаболическую картину, направленную на повышение эффективности окислительного фосфорилирования в митохондриях, о чем свидетельствует синхронная активация ЦХО и СДГ.

Обращает внимание выраженная активация ГПО, что подчеркивает антиоксидантные свойства липоевой кислоты. Известно, что липоевая кислота, связывая ионы железа, способна снижать риск образования веществ радикальной природы (Калиниченко С.Ю., Ворслов Л.О. [и др.], 2012).

ГЛАВА 6

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЭРИТРОЦИТАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ДО И ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ

Кровь представляет собой с одной стороны жидкую «соединительную» ткань, выполняющую транспорт кислорода и различных химических веществ, тем самым оказывая влияния на протекание биохимических процессов как в клетках отдельных органах, в том числе мышцах, так и в целом организме. С другой – представляет интерес органоспецифический метаболический ответ эритроцитов. Известно, что энергетические ресурсы эритроцитов восполняются за счет анаэробного гликолиза, но они способны продуцировать активные формы кислорода, поэтому представляет интерес выяснения роли эритроцитов как в формировании статиновой миопатии, так и в устранении побочных эффектов.

Учитывая, что биологическая полноценность эритроцитов зависит от системы обмена глутатиона, проведен анализ биохимических изменений механизмов защиты эритроцитов от гемолиза по показателям, характеризующим состояние системы обмена глутатиона и кислородного режима. Полученные результаты могут быть использованы для разработки новых технологий, профилактики и коррекции осложнений, вызванных длительным приемом статинов.

6.1. Метаболические изменения в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина (Зокор®)

Результаты, полученные при анализе экспериментальных групп, отражены в таблице 8.

Таблица 8 – Биохимические изменения в эритроцитах животных при эссенциальной гиперхолестеринемии и введении симвастатина ($M \pm m$, p)

Группы Показатели	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 2 n=20 (симвастатин)	Группа 5 n=35 (гиперхолес- териновая диета)	Группа 6 n=35 (гиперхолес- териновая диета + симвастатин)
ПВК, мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов	3,22±0,31	2,11±0,22 $p > 0,001$	1,4±0,15 $p < 0,001$	1,7±0,18 $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$
Лактат, мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов	5,0±0,53	9,22±0,94 $p < 0,001$	6,64±0,69 $p > 0,05$	18,27±1,79 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
GSH, мкмоль/г Hb	6,49±0,66	12,32±1,12 $p < 0,001$	8,5±0,86 $p > 0,05$	7,52±0,71 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
ГПО, мкмоль/ г Hb	12,27±1,3	12,35±1,19 $p > 0,05$	2,82±0,29 $p < 0,001$	1,57±0,16 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
ГР, мкмоль/ г Hb	0,49±0,05	6,34±0,61 $p < 0,001$	0,55±0,058 $p > 0,05$	0,38±0,04 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примечание: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p_1 – степень достоверности относительно группы с экспериментальной гиперхолестеринемией, при $p \leq 0,05$ изменения достоверны

В эритроцитах группы с эссенциальной гиперхолестеринемией относительно контроля (рисунок 23) выявлено снижение уровня ПВК на 56,52 % ($p < 0,001$) и повышение уровня лактата на 32,80 % ($p > 0,05$). Результаты свидетельствуют о преобладании аэробного гликолиза и начале развития лактат-ацидоза.

В эритроцитах группы «гиперхолестеринемия» при анализе активности ферментов глутатионового звена можно отметить снижение ГП на 77,02 % ($p < 0,001$), увеличение GSH на 30,97 % ($p > 0,05$) и ГР на 12,24 % ($p > 0,05$) относительно группы контроля. Важно отметить то, что в гомогенате мышечной ткани этих же групп была отмечена сходная динамика.

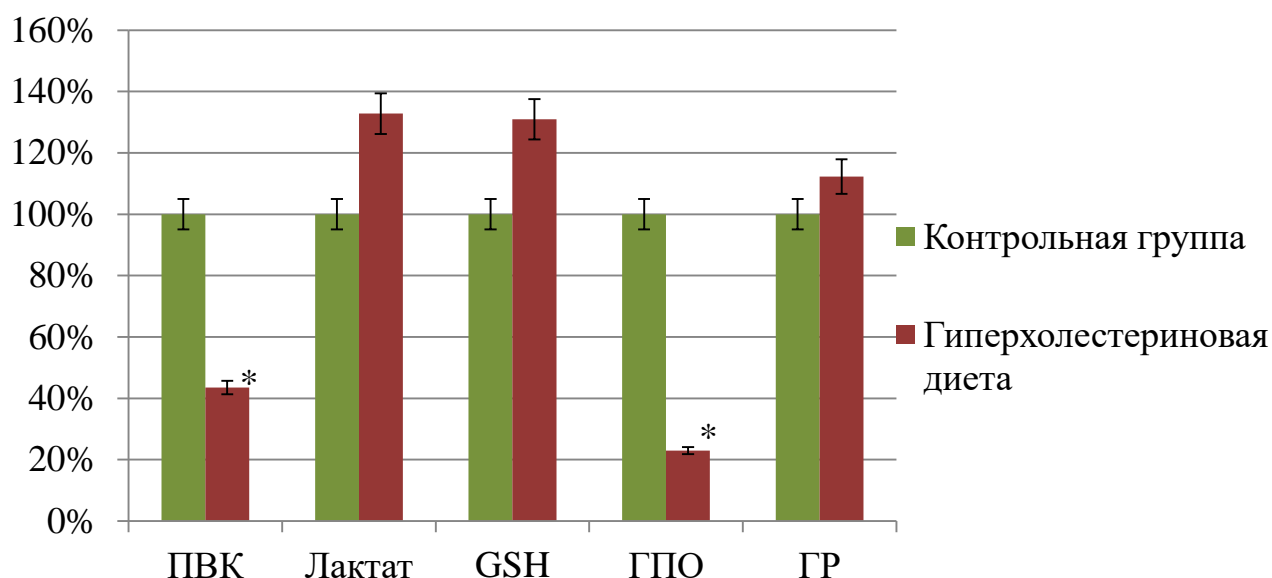


Рисунок 23 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

В связи с этим, можно утверждать о том, что у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, спровоцированной специальным рационом, происходит нарушение сбалансированной работы глутатионзависимых ферментов антиоксидантной защиты и уровня GSH, а нарушение соотношения лактат/пируват свидетельствует о развитии гипоксии.

При сравнении животных, находящихся на рационе вивария (питание сбалансированным кормом для грызунов), получавших симвастатин, и контрольной группы зафиксированы и отражены изменения на рисунке 24.

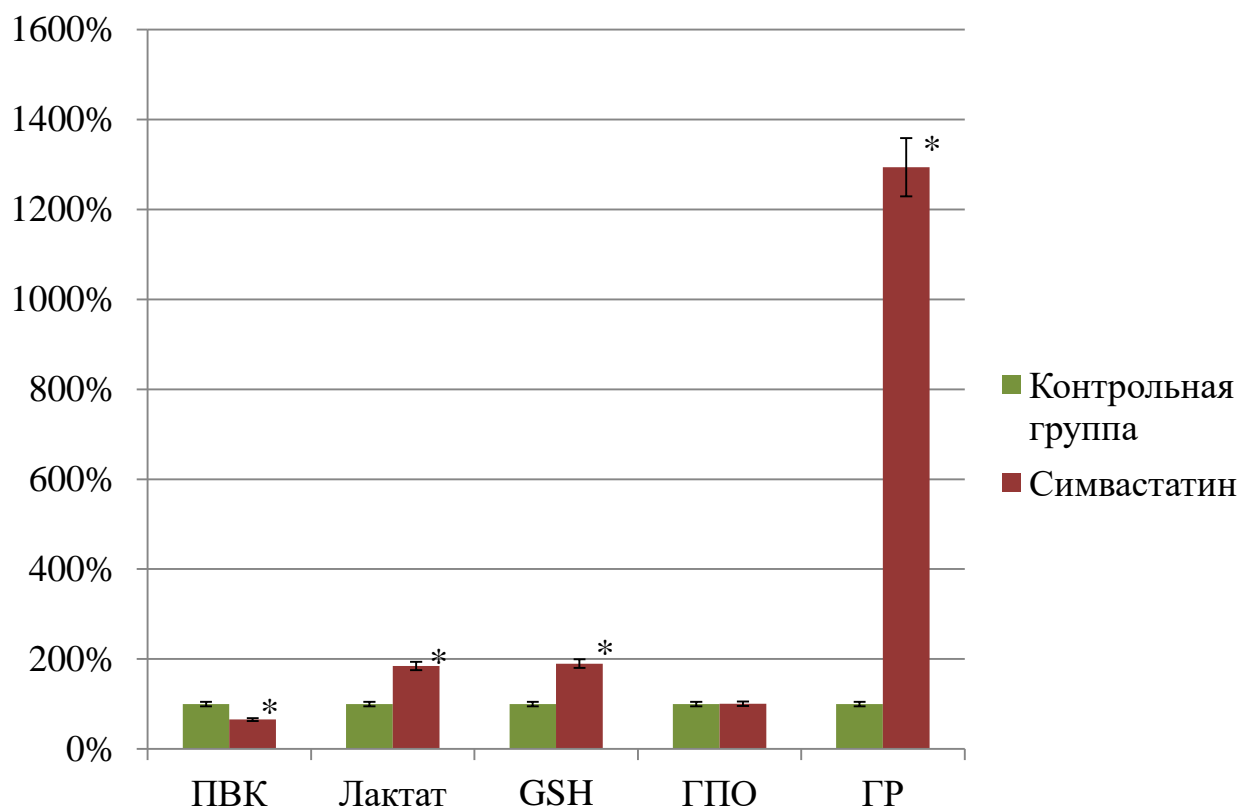


Рисунок 24 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных при длительном введении симвастатина относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

У группы животных, получавших симвастатин, выявлено снижение концентрации ПВК на 34,47 % ($p < 0,005$) и повышение концентрации лактата на 84,40 % ($p < 0,001$) относительно контрольной группы. Подобные изменения отмечены и в мышечной ткани, таким образом, подтверждается преобладание анаэробного гликолиза и нарушения энергетического обмена в клетках.

А при определении в этих же группах активности ферментов глутатионзависимого звена, отметили резкое увеличение ГР на 1193,88 % ($p < 0,001$) и накоплении GSH на 89,83% ($p < 0,001$), в то время как активность ГПО тождественно не отличалась от контроля. Полученные данные

отражают потребность миоцитов в восстановленном глутатионе, что можно рассматривать, как адаптивную перестройку, направленную на сохранение биологической полноценности эритроцитов.

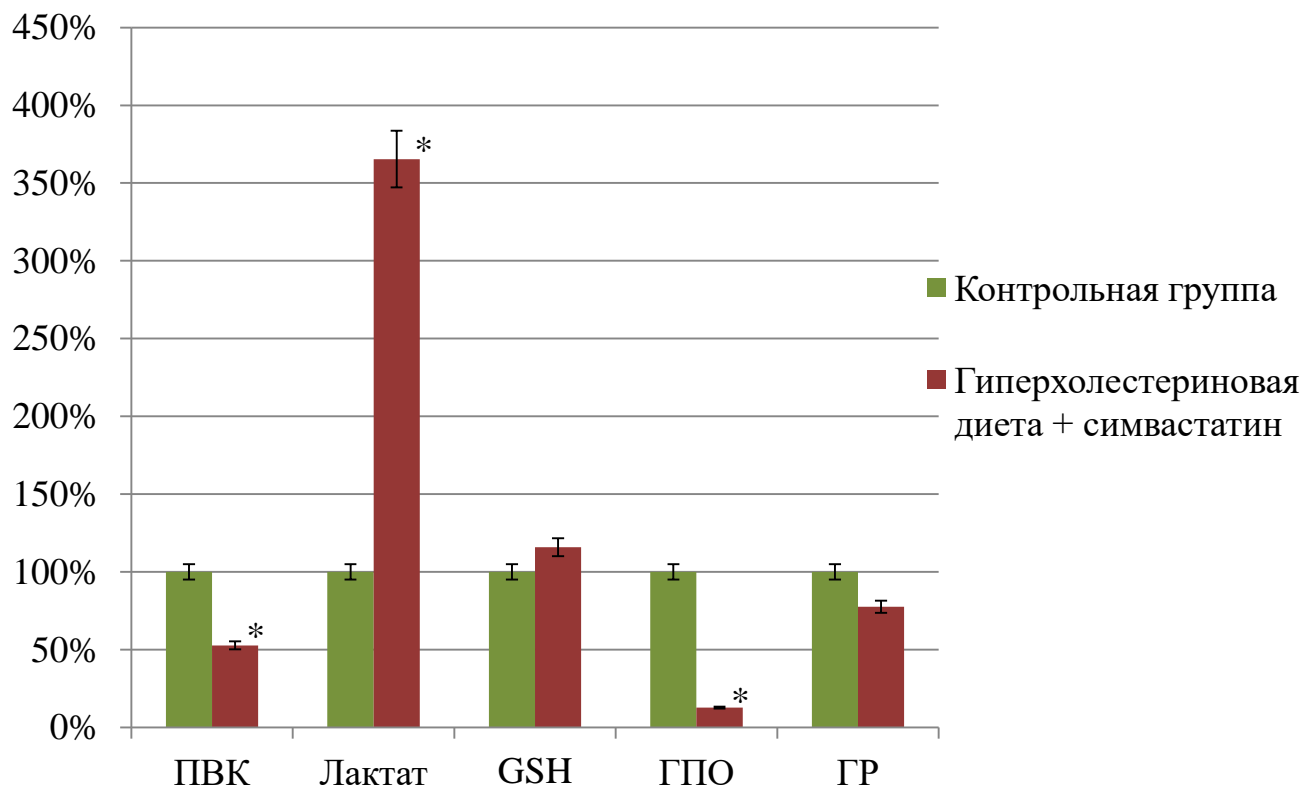


Рисунок 25 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симваcтадин относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

В эритроцитах группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симваcтадина (рисунок 25) по отношению к группе контроля выявлено снижение концентрации ПВК на 47,20 % ($p < 0,001$) и резкое увеличение лактата на 265,40 % ($p < 0,001$), что свидетельствует о наличии метаболического ацидоза.

Относительно антиоксидантной защиты в группе «гиперхолестеринемия + симваcтадин» отмечено незначительное увеличение активности GSH на 15,87 % ($p > 0,05$), в то время как резко снизилась активность ГПО на

87,20 % ($p < 0,001$) и ГР на 22,45% ($p > 0,05$) относительно контрольной группы. Полученные данные могут быть рассмотрены, как показатель разбалансировки компонентов антиоксидантной защиты в форменных элементах системы крови.

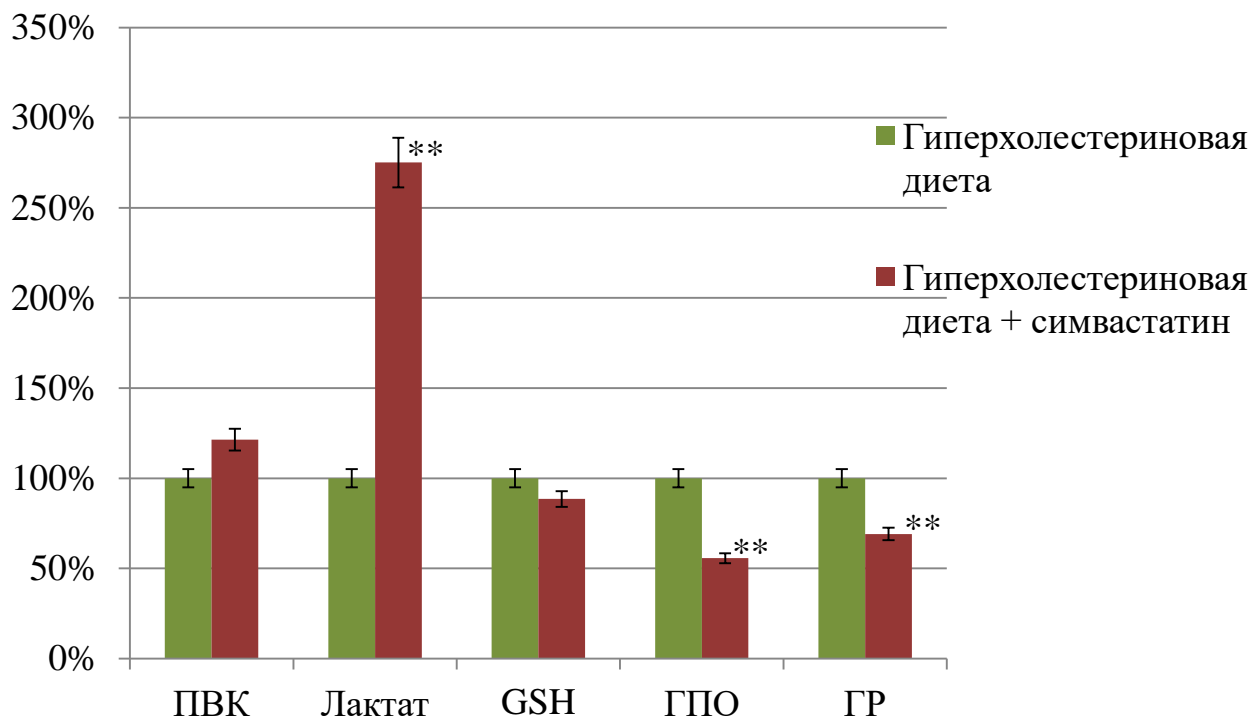


Рисунок 26 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией, получавших симвастатин относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией

Примечание: ** - достоверно относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин (в процентах)

При анализе группы «гиперхолестеринемия + симвастатин» относительно группы «гиперхолестеринемия» (рисунок 26) в эритроцитах установлено резкое увеличение концентрации лактата на 175,15 % ($p_1 < 0,001$) и ПВК на 21,43 % ($p_1 < 0,05$). Относительно ферментов антиоксидантной защиты наблюдали снижение активности ферментов глутатионзависимого звена: GSH на 11,53 % ($p_1 > 0,05$), ГР на 30,91 % ($p_1 > 0,05$) и ГПО на 44,33 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы «гиперхолестеринемия».

Полученные данные свидетельствуют о формировании метаболических блоков на уровне лактат/пируват, что отражает нарушение кислородтранспортной функции эритроцитов. Снижение уровня показателей антиоксидантной защиты, отражают возможность развития перекисного гемолиза, так как атерогенная дислипидемия обостряет процессы пероксидации и уменьшает активность эндогенной антиоксидантной защиты (Банзаракшеев В.Г., 2016).

6.2. Метаболические изменения в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина (Зокор®) в сочетании с убихиноном (Кофермент Q₁₀)

Результаты, полученные при анализе экспериментальных групп, отражены в таблице 9.

Таблица 9 – Биохимические изменения в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемии после длительного введения симвастатина в сочетании с убихиноном (M±m, p)

Группы Показатели	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 5 n=35 (гиперхолестеринемия)	Группа 6 n=35 (гиперхолестеринемия + симвастатин)	Группа 8 n=30 (гиперхолестеринемия + симвастатин + кофермент Q ₁₀)
ПВК, мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов	3,22±0,31	1,4±0,15 p<0,001	1,7±0,18 p<0,001 p ₁ >0,05	8,2±0,85 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Группы Показатели	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 5 n=35 (гиперхолес- териновая диета)	Группа 6 n=35 (гиперхолес- териновая диета + симвастатин)	Группа 8 n=30 (гиперхолес- териновая диета + симвастатин + кофермент Q ₁₀)
Лактат, мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов	5,0±0,53	6,64±0,69 p>0,05	18,27±1,79 p<0,001 p ₁ <0,001	3,06±0,29 p>0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
GSH, мкмоль/г Нв	6,49±0,66	8,5±0,86 p>0,05	7,52±0,71 p>0,05 p ₁ >0,05	25,8±2,66 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
ГПО, мкмоль/ г Нв	12,27±1,3	2,82±0,29 p<0,001	1,57±0,16 p<0,001 p ₁ <0,001	5,07±0,49 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
ГР, мкмоль/ г Нв	0,49±0,05	0,55±0,058 p>0,05	0,38±0,04 p>0,05 p ₁ <0,05	1,29±0,11 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примечание: p – степень достоверности относительно контрольной группы;
p₁ – степень достоверности относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, p₂ – степень достоверности относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина, при p≤0,05 изменения достоверны

Анализируя показатели эритроцитов крови в группе «гиперхолестеринемия + симвастатин + кофермент Q₁₀» (рисунок 27), зафиксировано значительное повышение уровня ПВК на 154,66 % ($p < 0,001$) и снижение уровня лактата на 38,80 % ($p < 0,001$) относительно группы контроля, что свидетельствует о преобладании аэробного гликолиза и является предпосылкой для восстановления окислительно-восстановительного потенциала клетки.

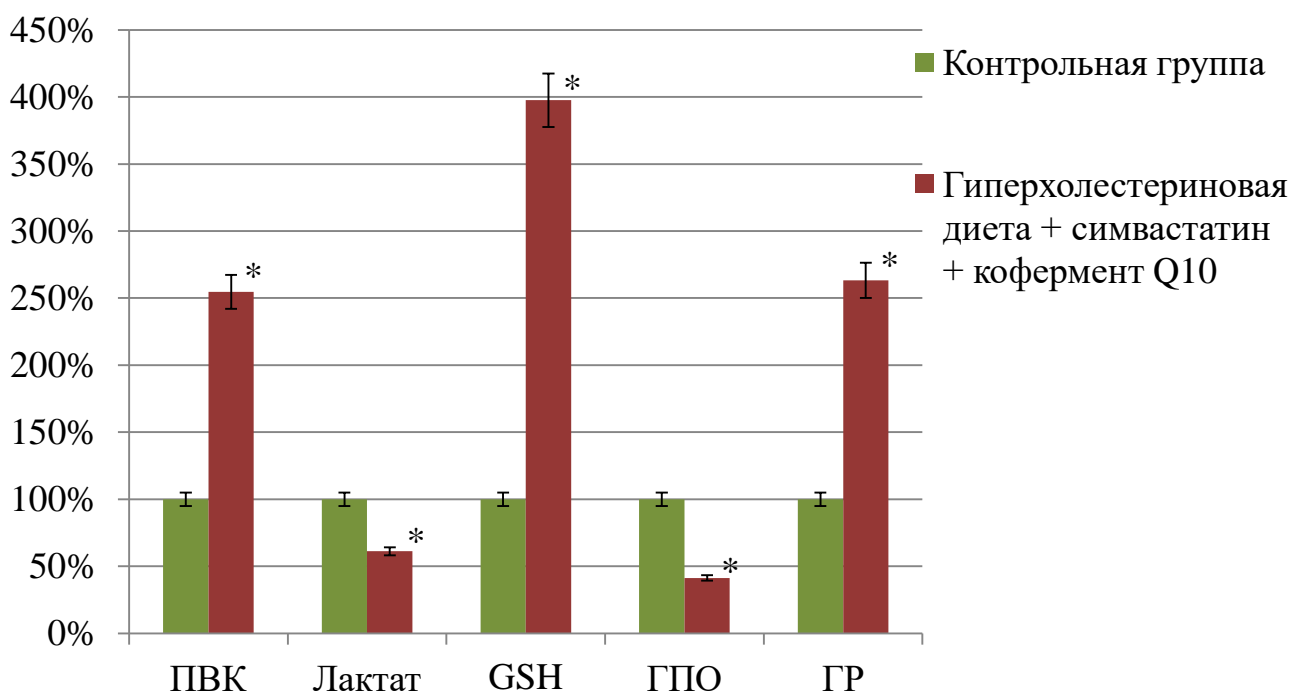


Рисунок 27 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин и кофермент Q₁₀ относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

А при определении активности ферментов глутатионового звена в крови у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин и кофермент Q₁₀, зафиксировано резкое повышение активности GSH на 297,53 % ($p < 0,001$) и ГР на 163,27 % ($p < 0,001$), а активность ГПО снизилась на 58,68 % ($p < 0,001$). Согласно Калининой Е.В. и соавторам, значительную роль в формировании адаптационного антиоксидантного ответа занимает повышение активности глутатионредуктазы, предназначенной для поддержания уровня

восстановленного глутатиона (Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р. [и др.], 2010).

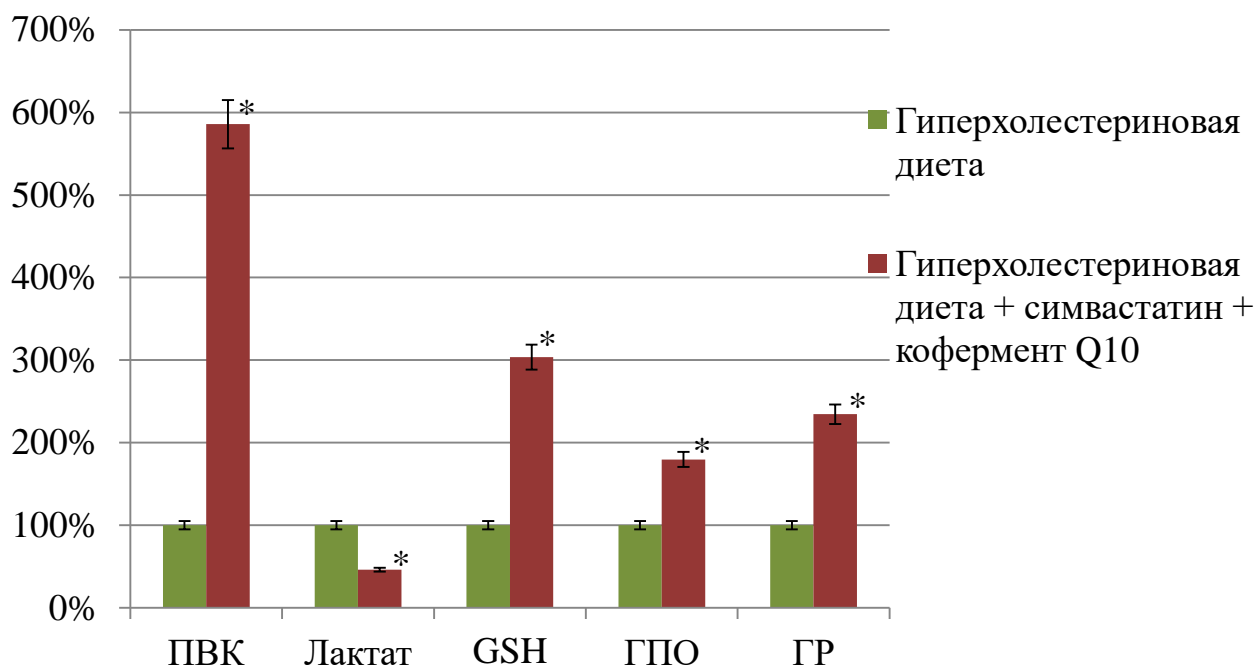


Рисунок 28 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симваостатина и кофермента Q₁₀

Примечание: * - достоверно относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией (в процентах)

Проводя анализ в крови животных группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симваостатин и кофермента Q₁₀ относительно группы с гиперхолестеринемией (рисунок 28) зафиксировано увеличение концентрации пировиноградной кислоты на 485,71 % ($p_1 < 0,001$) и снижение концентрации лактата на 53,92 % ($p_1 < 0,001$).

При рассмотрении показателей глутатионового звена антиоксидантной защиты в эритроцитах группы «гиперхолестеринемия + симваостатин + кофермент Q₁₀» отмечено значительное повышение активности всех ферментов: GSH на 203,53 % ($p_1 < 0,001$), ГР на 134,55 % ($p_1 < 0,001$) и ГПО на 79,79 % ($p_1 < 0,001$) по отношению к группе «гиперхолестеринемия».

Полученные данные у группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин в сочетании с коферментом Q₁₀, отражают тенденцию преобладания аэробного гликолиза. Повышение показателей активности ферментов антиоксидантной защиты можно охарактеризовать, как возрастание роли глутатионового звена в адаптации организма.

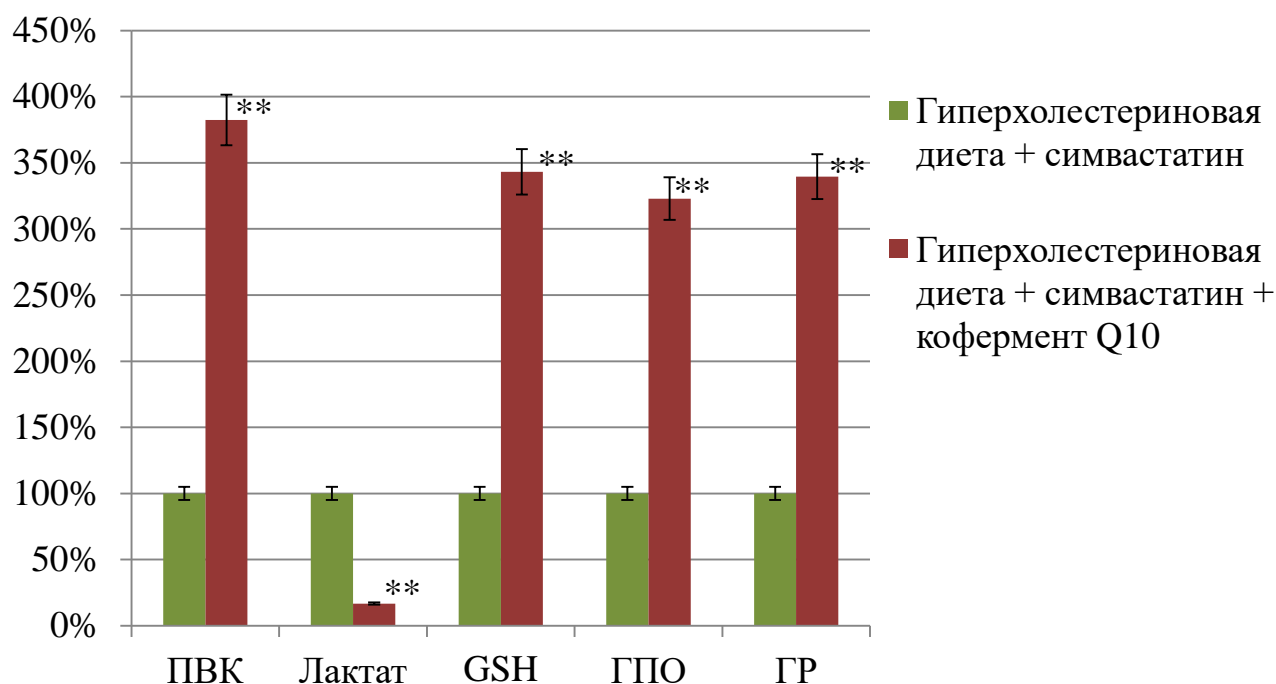


Рисунок 29 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией при одновременном применении симвастатина и кофермента Q₁₀ относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией получавшей только симвастатин

Примечание: ** - достоверно относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин (в процентах)

При проведении анализа эритроцитов крови в группе «гиперхолестеринемия + симвастатин + кофермент Q₁₀» (рисунок 29) зафиксировано значительное увеличение уровня ПВК на 382,35 % ($p_2 < 0,001$) и снижение уровня лактата на 83,25 % ($p_2 < 0,001$) по отношению к группе с эссенциальной гиперхолестеринемией получавшей симвастатин.

При определении активности глутатионзависимых ферментов относительно этих же групп выявлено значительное увеличение GSH на 243,09 % ($p_2 < 0,001$), ГПО на 222,93 % ($p_2 < 0,001$) и ГР на 239,47 % ($p_2 < 0,001$).

Таким образом, полученные результаты проведенного эксперимента свидетельствуют о стимуляции интенсивности аэробных процессов в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и метаболического корректора кофермента Q₁₀. Рассматривая динамику активности глутатионзависимых ферментов, можно предполагать о приспособлении и переходе на новый уровень антиоксидантной защиты.

В тоже время, необходимо отметить, что при анализе мышечной ткани наблюдалась противоположная динамика в системе лактат/пируват, с преобладанием анаэробной направленности обмена

Следовательно, полученные результаты указывают на неравнозначный эффект убихинона (кофермента Q₁₀) в мышцах и эритроцитах, что обосновывает необходимость расширения поиска метаболических корректоров с учетом выявленных блоков исследованных обменных процессов.

6.3. Метаболические изменения в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина (Зокор®) в сочетании с липоевой кислотой (Тиоктацид® БВ)

Результаты, полученные при проведении эксперимента, отражены в таблице 10.

Таблица 10 – Биохимические изменения показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемии после длительного введения симвастатина в сочетании с липоевой кислотой ($M \pm m$, p)

Группы Показатели	Группа 1 n=20 (контрольная группа)	Группа 5 n=35 (гиперхолестериневая диета)	Группа 6 n=35 (гиперхолестериневая диета + симвастатин)	Группа 7 n=30 (гиперхолестериневая диета + симвастатин + липоевая кислота)
ПВК, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	3,22±0,31	1,4±0,15 $p < 0,001$	1,7±0,18 $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	6,0±0,64 $p < 0,001, p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Лактат, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	5,0±0,53	6,64±0,69 $p > 0,05$	18,27±1,79 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	5,64±0,55 $p > 0,05, p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
GSH, мкмоль/г Hb	6,49±0,66	8,5±0,86 $p > 0,05$	7,52±0,71 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	15,5±1,51 $p < 0,001, p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
ГПО, мкмоль/ г Hb	12,27±1,3	2,82±0,29 $p < 0,001$	1,57±0,16 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	12,18±1,19 $p > 0,05, p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
ГР, мкмоль/ г Hb	0,49±0,05	0,55±0,058 $p > 0,05$	0,38±0,04 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,55±0,05 $p > 0,05, p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примечание: p – достоверно относительно контрольной группы; p_1 – достоверно относительно группы 5; p_2 – достоверно относительно группы 6, при $p \leq 0,05$ изменения достоверны

При сравнении показателей эритроцитов крови (рисунок 30) группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты отмечено повышение уровня ПВК на 86,34 % ($p < 0,001$) и незначительное уровня лактата на 17,80 % ($p > 0,05$) относительно группы контроля.

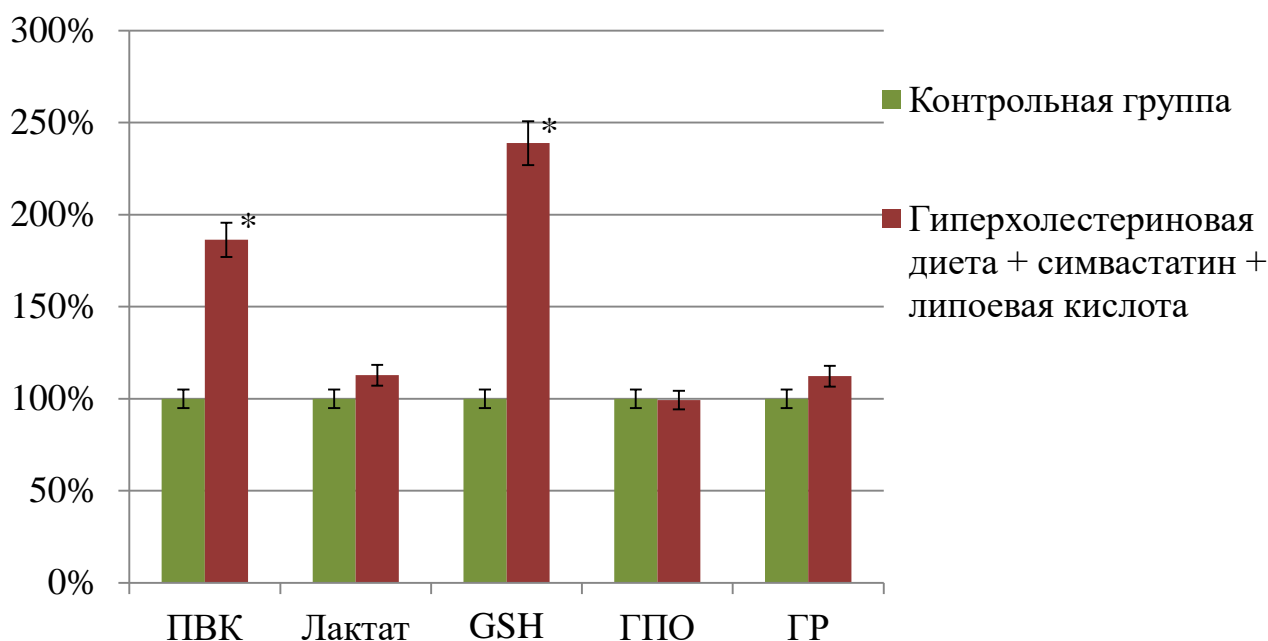


Рисунок 30 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин и липоевую кислоту, относительно группы контроля

Примечание: * - достоверно относительно контрольной группы (в процентах)

При анализе глутатионзависимых ферментов выявлено увеличение активности GSH на 138,83 % ($p < 0,001$) и ГР на 112,24 % ($p > 0,05$), а активность ГПО достоверна не отличалась от показателей контрольной группы.

Выявленное изменение соотношения уровня лактата и пирувата указывает на накопление пирувата за счет снижения содержания лактата, что может указывать на усиление вовлечения глюкозы в обмен эритроцитов. Наряду с этим изменения показателей ферментов глутатионового звена свидетельствуют о перестройках работы антиоксидантной защиты за счет высокого уровня восстановленного

глутатиона при нормализации активности ГПО, ответственной за устранения пероксидных соединений.

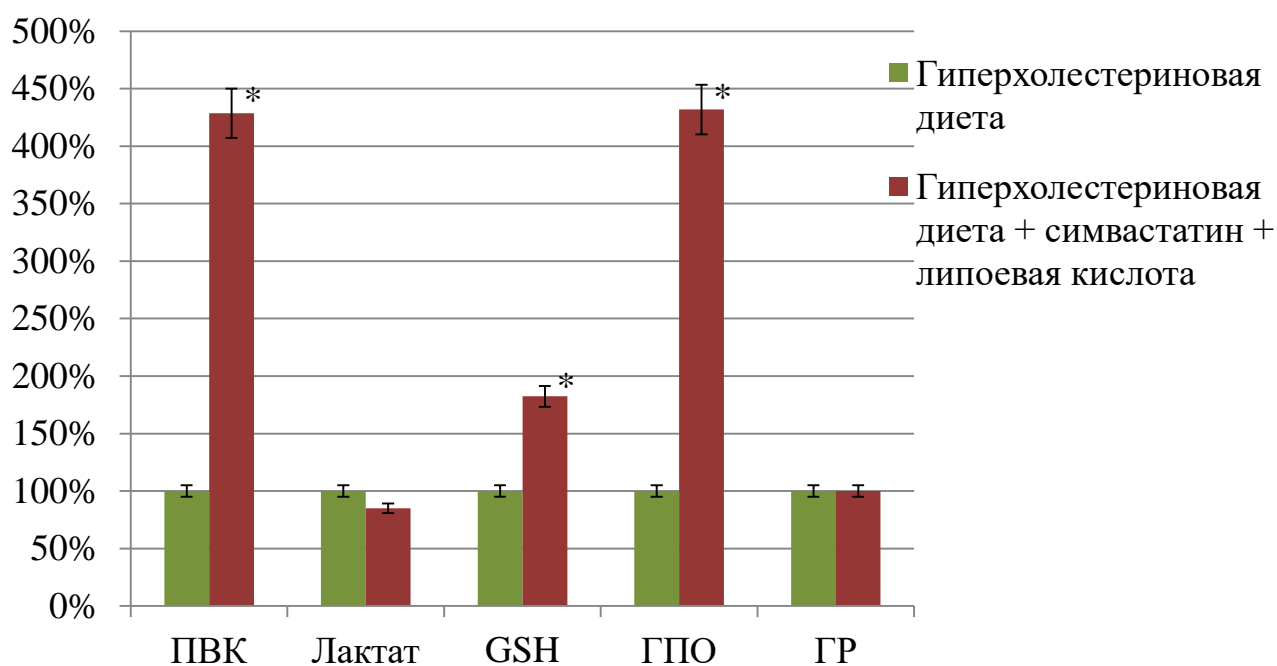


Рисунок 31 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты

Примечание: * - достоверно относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией (в процентах)

При анализе крови (рисунок 31) у группы «гиперхолестеринемия + симвастатин + липоевая кислота» зафиксировано значительное увеличение уровня ПВК на 328,57 % ($p_1 < 0,001$) на фоне нормализации уровня лактата относительно группы «гиперхолестеринемия».

Относительно активности показателей глутатионового звена антиоксидантной защиты у группы животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты установлен резкий рост активности ГПО на 331,91 % ($p_1 < 0,001$) и GSH на 82,35 % ($p_1 < 0,001$), в то время

как активность ГР достоверно не отличалась от группы с эссенциальной гиперхолестеринемией.

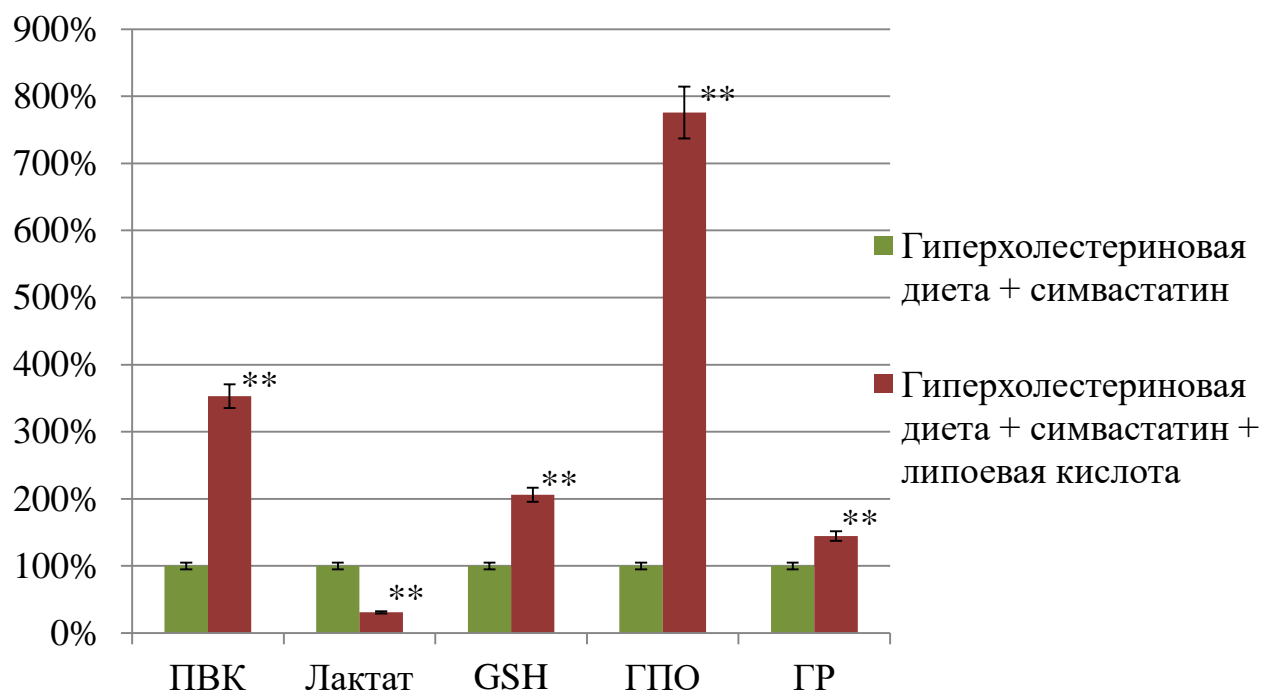


Рисунок 32– Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией при одновременном применении симвастатина и липоевой кислоты относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей только симвастатин

Примечание: ** - достоверно относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин (в процентах)

Однако, при сравнении эритроцитов крови (рисунок 32) у группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты по отношению к животным с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина было отмечено резкое увеличение уровня ПВК на 252,94 % ($p_2 < 0,001$) и снижение уровня лактата на 69,13 % ($p_2 < 0,001$).

При сопоставлении полученных результатов эксперимента относительно ферментов глутатионового звена у группы «гиперхолестеринемия + симвастатин + липоевая кислота» выявлено значительное повышение активности ГПО на

675,80 % ($p_2 < 0,001$), ГР на 44,74 % ($p_2 < 0,05$) и GSH на 106,80 % ($p_2 < 0,001$) относительно группы «гиперхолестеринемия + симвастатин».

Как видно из рисунка липоевая кислота оказывает существенное влияние на ключевые звенья метаболизма эритроцитов. Обращает внимание снижение лактатной нагрузки, судя по динамике уровня пирувата, а в сочетании со стимуляцией работы глутатионового звена антиоксидантной защиты можно рассматривать, как результат биохимической адаптации. Это, надо полагать, вносит свой вклад в обеспечение адекватного снабжения кислородом организма в аварийных условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Системный анализ отечественных и зарубежных статей показал, что чем больше в литературе накапливается материалов о благотворном действии статинов, тем все актуальнее и острее становится вопрос об их влиянии на организм при длительном применении. На сегодняшний день имеются лишь отдельные исследования, посвященные этому вопросу (Кобалава Ж.Д., Виллевалде С.В., Шаварова Е.К., 2007; Петров В.И., Смуцева О.Н., Соловкина Ю.В., 2012; Напалков Д.А., 2014; Rojas-Fernandez С.Н., Goldstein L.B., Levey A.I. [et al.], 2014; Thompson P.D., Panza G., Zaleski A., Taylor B., 2016; Румянцев Н.А., 2017). Одни авторы рассматривают положительное влияние статинов: гиполипидемический эффект, снижение эндотелиальной дисфункции артериальных сосудов, влияние на количество и качество приступов стенокардии, степень подавления пролиферации клеток гладкомышечной ткани, лечение моногенных и полигенных гиперхолестеринемией и т.д. (Сусеков А.В., Горнякова Н.Б., Зубарева М.Ю., 2010; Драпкина О.М., 2012; Титов В.Н., 2014; Ежов М.В., Сергиенко И.В. [и др.], 2016; Шальнова С.А., Деев А.Д. [и др.], 2016). Другие авторы исследуют развитие сопутствующих заболеваний на фоне статиновой терапии, таких как сахарный диабет, серьезные поражения печени, развитие когнитивной дисфункции на фоне статиновой терапии, миалгии и т.д. (Sattar N., Preiss D., Murray H.M. [et al.], 2010; Fernandez G., Spatz E.S., Jablecki C., Phillips P.S., 2011; Петров В.И., Смуцева О.Н., Соловкина Ю.В., 2012; Напалков Д.А., 2014; Rojas-Fernandez С.Н., Goldstein L.B., Levey A.I. [et al.], 2014; Bays H., Cohen D.E., Chalasani N., Harrison S.A., 2014; Banach M., Rizzo M., Toth P.P. [et al.], 2015; Thompson P.D., Panza G., Zaleski A., Taylor B., 2016; Румянцев Н.А., 2017). Иначе говоря, становится очевидным то, что решение этих проблем невозможно без исследований на клеточном и молекулярном уровнях.

Таким образом, перспективы применения статиновой терапии связаны не только с поиском безопасных способов снижения уровня холестерина, но и умением предотвращать и корректировать возможные осложнения.

В современной литературе не обнаружено материалов, указывающих на возможность комплексного лечения статинами в сочетании с природными метаболическими корректорами.

Согласно данным литературы, липоевая кислота является естественным метаболитом, участвующим в физиологических процессах, связанных с обменом веществ (Smith A.R., Shenvi S.V. [et al.], 2004; Mayr J.A., Feichtinger R.G. [et al.], 2014). А также она, обладая липотропным действием, снижает уровень холестерина и предотвращает развитие атеросклероза (Шульпекова Ю.О., Ивашкин В.Т., 2000).

В последнее время, в связи с ее обширным спектром биологического и фармакологического действия, активно изучают применение тиоктовой кислоты в медикаментозной терапии.

Интересно отличить, что антиоксидантное действие липоевой кислоты зарегистрировано в структурах различных органов и тканей. По-видимому, вследствие этого липоевая кислота улучшает микроциркуляцию тканей, уменьшает выраженность эндотелиальной дисфункции, активизирует работу нейротрансмиттеров, что является основополагающим фактором использования препаратов липоевой кислоты в комплексных терапиях воспалительных процессов и заболеваний различной этиологии.

Согласно данным литературы, убихинон принимает участие в синтезе АТФ, и является главным источником активных форм кислорода (Аронов Д.М., 2004; Нельсон Д., Кокс М., 2017). Коэнзим Q₁₀ является уникальным антиоксидантом, регенерирующимся соответствующей ферментной системой организма и его активность в 2 раза выше стандартного комплекса витаминов-антиоксидантов (Чапидзе Г.Э., Капанадзе С.А. [и др.], 2006; Rodick T.C., Seibels D.R., Babu J.R. [et al.], 2018).

Кроме этого, ранее была доказана значимая роль дефицита убихинона в развитии патологий со стороны сердечно-сосудистой системы (Rosenfeldt F.L., Pepe S., Linnane A. [et al.], 2002; Rosenfeldt F., Hilton D., Pepe S., Krum H., 2002; Аронов Д.М., 2004). В исследованиях также было описано применение КоQ₁₀ для

регенерации нарушений клеточного энергетического обмена и улучшения миокардиальной функции у пациентов с сердечнососудистыми патологиями (Zozina V.I., Covantev S., Goroshko O.A. [et al.], 2018).

Впервые в клинических исследованиях были получены факты, подтверждающие целесообразность применения убихинона при хронической сердечной недостаточности. В результате проведения мета-анализа, включающего 13 двойных слепых рандомизированных исследований было выявлено снижение функционального класса сердечной недостаточности у больных с гиперхолестеринемией и повышение переносимости физических нагрузок (Di Lorenzo A., Iannuzzo G., Parlato A. [et al.], 2020).

Рядом авторов отмечен положительный эффект применения коэнзима Q₁₀ в терапиях, направленных на коррекцию митохондриальных нарушений (Filipek P.A., Juranek J., Smith M. [et al.], 2003; Berbel-Garcia A., Barbera-Farre J.R., Etessam J.P. [et al.], 2004; Neergheen V., Chalasani A., Wainwright L. [et al.], 2017).

Таким образом, проанализировав отечественную и зарубежную научную литературу, необходимо отметить, что разработка наиболее эффективных методик комплексных терапий, направленных на снижение уровня холестерина на основе приема статинов, до сих пор является актуальной, также остается открытым вопрос профилактики потенциальных осложнений статиновых терапий.

Основываясь на известных фактах, на первом этапе исследования проведен анализ ключевых показателей метаболизма мышц и эритроцитов «гиперхолестеринемических» животных при длительном применении симвастатина.

Происходящие биохимические изменения оценивали по комплексу биохимических показателей субстратно-ферментных процессов основных энергетических циклов (ПВК и Лактат, ЦХО и СДГ), а также антиоксидантной защиты (GSH, ГР и ГПО).

Метаболические изменения при гиперхолестеринемии

У животных с индуцированной экспериментальной гиперхолестеринемией относительно контрольной группы в мышечной ткани отмечали одновременное повышение концентрации и ПВК на 217,78 % ($p < 0,001$), и лактата на

73,23 % ($p < 0,001$). В то время как в эритроцитах наблюдали снижение ПВК на 56,52 % ($p < 0,001$) и повышение лактата на 32,80 % ($p > 0,05$). Такие изменения отражают формирование лактат-ацидоза на фоне накопления недоокисленных продуктов, как в мышечной ткани, так и в эритроцитах.

Кроме этого, нарушения, выявленные в углеводном обмене на основании определения уровня соотношения лактат/пируват, указывают на развитие гипоксии, что подтверждает ранее полученные результаты исследования крови в условиях лаборатории (Микашинович З.И., Белоусова Е.С., 2016).

При анализе показателей антиоксидантной защиты у группы с эссенциальной гиперхолестеринемией отмечено синхронное снижение активности глутатионпероксидазы в мышечной ткани на 50,08 % ($p < 0,001$) и в эритроцитах на 77,02 % ($p < 0,001$). Активность глутатионредуктазы повысилась соответственно на 104,35 % ($p < 0,001$) и 112,24 % ($p < 0,001$), а концентрации восстановленного глутатиона увеличилась на 244,20 % ($p < 0,001$) и 30,97 % ($p > 0,05$) относительно данных группы контроля.

Итак, метаболические изменения, зафиксированные в группе «гиперхолестеринемия», отражают изменения глутатионового звена антиоксидантной защиты, которые, очевидно, являются реакцией на пищевой стресс и отражают тенденцию к активации защитных реакций, направленных на сохранение необходимых концентраций восстановленного глутатиона.

Метаболические изменения при гиперхолестеринемии и длительном введении симвастатина

После длительного введения симвастатина у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией в мышечной ткани наблюдали понижение концентраций ПВК на 53,01 % ($p_1 < 0,001$) и лактата на 32,51 % ($p_1 > 0,001$). В эритроцитах, наоборот, обнаружено увеличение лактата на 175,15 % ($p_1 < 0,001$) и ПВК на 21,43 % ($p_1 < 0,05$) относительно группы «гиперхолестеринемия», что указывает на активацию гликолиза, который в эритроцитах является основным источником АТФ и регулятором кислород-транспортной функции за счет изменения рН-среды.

Избыточное количество молочной кислоты может нарушать структурно-функциональную полноценность клеточных мембран, образуя комплексы с фосфолипидами, и тем самым нарушая поступление кислорода в клетку (Сторожук П.Г., 2011). Изменения рН в свою очередь влияют на активность антиоксидантных процессов, сохраняющих функциональную полноценность эритроцитов.

Проводя анализ глутатионзависимых ферментов антиоксидантной защиты у групп с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин, в митохондриях выявлено снижение активности ГПО ($p_1 < 0,001$), увеличение активности ГР ($p_1 > 0,05$) и уровня GSH ($p < 0,001$) относительно группы контроля. При анализе этих же показателей в эритроцитах установлено также снижение активности ГПО ($p < 0,001$), но в отличие от данных в мышечной ткани достоверно уменьшается активность ГР ($p > 0,05$). Уровень GSH ($p > 0,05$) имеет тенденцию к росту сравнительно с контрольной группой. Полученные результаты отражают процесс разбалансировки глутатионзависимых ферментов в исследуемых тканях.

В митохондриях животных группы «гиперхолестеринемия + симвастатин» установлено значительное снижение активности СДГ на 67,90 % ($p_1 < 0,001$) и ЦХО на 69,44 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией. Угнетение активности ферментов дыхательной цепи II и IV комплексов могут отражать нарушение коллекторной функции CoQ. В связи с этим, уменьшается поставка протонов H^+ в дыхательную цепь, что чревато развитием кислородной недостаточности (Микашинович З.И., Новодержкина Ю.Г., Белоусова Е.С., 2007).

При анализе глутатионзависимых ферментов антиоксидантной защиты в группах с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин, как в мышцах, так и в эритроцитах выявлено достоверное снижение активности ГПО ($p < 0,001$), что указывает на пониженную способность ГПО ликвидировать активные формы кислорода. Известно, что ГПО и ГР у интактных животных активно способствует регуляции перекисного окисления липидов, усиливая защитную роль восстановленного глутатиона. Обращает внимание то, что в

мышцах в большей степени, чем в эритроцитах накапливается GSH, возможно за счет ГР, но не реализуется в глутатионпероксидазной реакции. В эритроцитах способность восстанавливать глутатион в глутатионредуктазной реакции достоверно снижена и, по-видимому, защитная роль на фоне угнетения ГПО не реализуется. Полученные результаты подтверждают данные о нарушении хода кислородзависимых процессов, полученных Е.В. Виноградовой (2020), показавших, что эритроциты усиливают образование 2,3-ДФГ, что подтверждает наличие гипоксии.

Таким образом, длительное введение симвастатина животным с эссенциальной гиперхолестеринемией сопровождается неоднозначными сдвигами в мышцах и эритроцитах на уровне ключевых метаболитов гликолиза. Разнонаправленные изменения уровня пирувата отражают разную функциональную значимость этого субстрата в эритроцитах и мышцах. Резкое увеличение лактата по сравнению с исходными данными в эритроцитах свидетельствуют о высокой чувствительности клеток красной крови к изменению кислородного режима. Показатели антиоксидантной защиты, полученные в эритроцитах, указывают на прооксидантное действие симвастатина дисбалансирующего глутатионзависимые ферменты, что согласуется с результатами работ Ланкина В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г. и др. (2007), тогда как в мышцах разбалансировка глутатионзависимого звена выражена в меньшей степени.

Сравнительный анализ изменений метаболических процессов в мышечной ткани и эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при комплексном введении симвастатина с убихиноном и с липоевой кислотой

У животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, при сочетанном введении симвастатина и убихинона (кофермента Q₁₀), в мышечной ткани выявлено критическое снижение уровня ПВК ($p_2 < 0,001$), в то время как уровень лактата ($p_2 < 0,001$) увеличился (примерно в 2 раза) относительно показателей группы сравнения (с гиперхолестеринемией, получавшие симвастатин).

Необходимо отметить, что также данная тенденция наблюдалась и относительно контрольной группы.

В группе с эссенциальной гиперхолестеринемией при одновременном введении симвастатина и липоевой кислотой, относительно группы сравнения можно отметить понижение уровня ПВК на ($p_2 < 0,001$), тогда как уровень лактата ($p_2 < 0,05$) повысился, но в меньшей степени (в 1,5 раза), чем у животных, получавших в качестве метаболического корректора убихинон. При сравнении результатов с группой контроля не выявили достоверных изменений, можно лишь отметить меньшую тенденцию к снижению уровня ПВК ($p > 0,05$), на фоне повышения уровня лактата ($p < 0,001$).

В эритроцитах группы «гиперхолестеринемия + симвастатин + кофермент Q₁₀» отмечен существенный рост уровня ПВК в 4 раза ($p_2 < 0,001$) при снижении уровня лактата ($p_2 < 0,001$) относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин. В сравнении с группой контроля также установлено увеличение уровня ПВК в 1,5 раза ($p < 0,001$) при небольшом снижении уровня лактата ($p < 0,001$).

При рассмотрении полученных результатов у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при сочетанном введении симвастатина с липоевой кислоты по отношению к группе сравнения в эритроцитах установлено повышение уровня ПВК в 2,5 раза ($p_2 < 0,001$), а уровень лактата ($p_2 < 0,001$) заметно снизился. Однако при сопоставлении показателей с группой контроля зафиксировано увеличение уровня ПВК ($p < 0,001$) и незначительное снижение уровня лактата ($p > 0,05$).

У экспериментальных групп, получавших как убихинон, так и липоевую кислоту накапливается пируват, а избыточное его количество в мышцах может отражать приспособительные изменения, запуская процесс окислительного декарбоксилирования, тем самым способствуя возобновлению окислительно-восстановительного потенциала клетки и ускорению насыщения кислородом тканей.

В мышцах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и убихинона (кофермент Q₁₀) зафиксировано повышение активности ГПО в 2,5 раза ($p_2 < 0,001$), на фоне незначительного повышения активности ГР ($p_2 > 0,05$) и уменьшения уровня GSH ($p_2 > 0,05$) относительно результатов группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин. Однако при сопоставлении показателей с результатами группы контроля активность ГПО ($p < 0,001$) снизилась, а активность ГР ($p < 0,05$) и уровень GSH ($p > 0,05$) были увеличены.

При анализе ферментов глутатионзависимого звена в эритроцитах крыс с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина в комплексе с липоевой кислотой отмечено значительное увеличение активности ГПО в 7 раз ($p_2 < 0,001$), на фоне небольшого повышения активности ГР ($p_2 < 0,001$) и уровня GSH относительно группы, получавшей симвастатин без метаболического корректора. Полученные результаты могут объясняться защитой пула глутатиона от окисления, за счет вступающих в реакции SH-групп липоевой кислоты, усиливая глутатионпероксидазную реакцию, уменьшающей уровень радикальных соединений. Накопление перекисей, в частности H₂O₂ ускоряет поступление цистеина в клетку, усиливая экспрессию генов синтеза GSH и активируя глутатионсинтетазу.

В эритроцитах животных с индуцированной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин и убихинон (кофермент Q₁₀) относительно группы контроля отмечено увеличение уровня GSH в 3 раза ($p < 0,001$) и ГР в 1,5 раза ($p < 0,001$), в то время как активность ГПО понизилась ($p < 0,001$). Полученные данные подтверждают немаловажную значимость глутатионредуктазы, повышение активности которой, направленно на поддержание уровня глутатиона восстановленного для формирования адаптационного антиоксидантного ответа в эритроцитах, что также согласуется с мнением с Калининой Е.В. и соавторами (2010).

У группы с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина в сочетании с липоевой кислотой в мышцах установлено увеличение уровня GSH в

1,5 раза ($p < 0,001$) и незначительное повышение ГР ($p > 0,05$), в то время как активность ГПО достоверно не отличалась от показателей группы контроля. При сравнении результатов экспериментальной группы относительно животных с гиперхолестеринемией, получавших симвастатин, зафиксировано значимое увеличение активности ГПО в 6,5 раз ($p_2 < 0,001$), при небольшом повышении активности ГР ($p_2 < 0,001$) и уровня GSH ($p_2 < 0,001$).

Сукцинатдегидрогеназа (II комплекс) и цитохромоксидаза (IV комплекс) являются кислородзависимыми ферментами митохондриальной дыхательной цепи и играют важную роль в процессах во взаимосвязи электронно-транспортной и окислительно-фосфорилирующей систем аэробного метаболизма.

В мышцах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при введении симвастатина и убихинона (кофермента Q₁₀), обнаружено увеличение активности СДГ в 1,5 раза ($p_2 < 0,001$) и ЦХО практически в 2 раза ($p_2 < 0,001$) относительно группы сравнения. Необходимо отметить, что комплексное введение симвастатина и убихинона способствовало восстановлению показателей активности СДГ и ЦХО до значений контрольной группы.

У группы с эссенциальной гиперхолестеринемией при комплексном введении симвастатина с липоевой кислотой были повышены показатели активностей СДГ ($p > 0,001$) и ЦХО ($p > 0,001$) по сравнению с данными контроля, а относительно группы, получавшей только симвастатин, оба показателя выросли практически в 4 раза ($p_2 < 0,001$). Данные результаты являются подтверждением особой роли липоевой кислоты в «активации» ситуации, направленной на окислительное фосфорилирование в митохондриях.

Таким образом, введение естественных метаболитов животным с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном применении симвастатина отражает динамику роста уровня лактата и тенденцию к снижению уровня ПВК, что позволяет говорить о превалировании анаэробного гликолиза и постепенном накоплении недоокисленных продукт в мышечной ткани. Необходимо отметить, судя по полученным данным, липоевая кислота наиболее эффективно снижает

уровень лактоацидоза, чем кофермент Q₁₀, что создает условия для поддержания окислительного фосфорилирования в митохондриях миоцитов (рисунок 33).

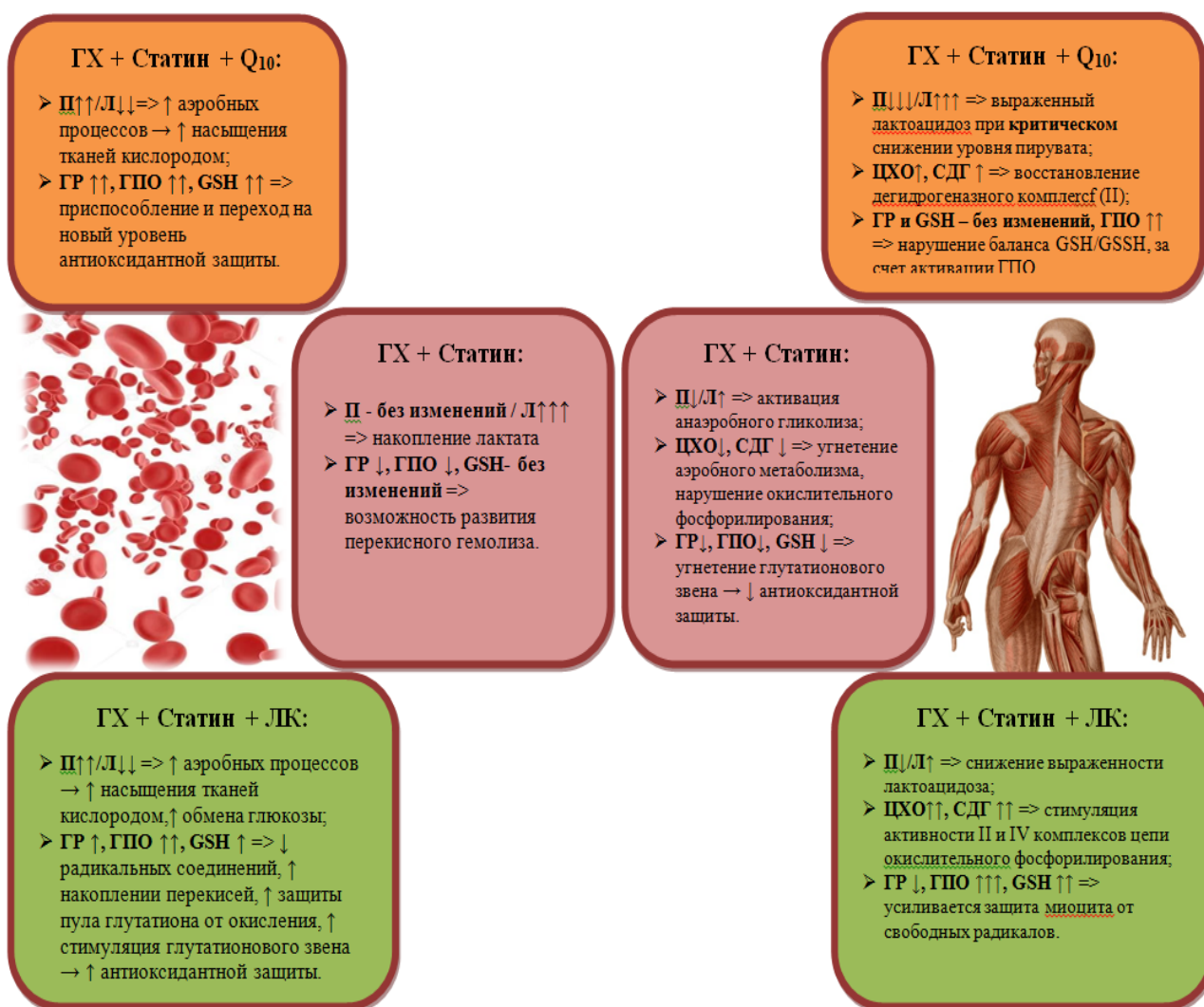


Рисунок 33 – Схема влияния липоевой кислоты и убихинона на метаболизм мышечной ткани и эритроцитов при длительном приеме симвастатина

Существенно отметить, что в эритроцитах липоевая кислота способствует накоплению GSH, активирует ГПО и в меньшей степени ГР, что позволяет полагать, что этот корректор повышает функциональную активность этих клеток, защищая от окислительной деструкции.

Кроме того, комплексное введение симвастатина и с убихиноном, и с липоевой кислотой понижает тяжесть прооксидантного действия статина, за счет активации на уровне II и IV комплексов, входящих в схему дыхательной цепи, что

позволяет в экстремальной ситуации стабилизировать и сохранять мышечную деятельность.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Продолжительное (в течение 3х месяцев) содержание животных на углеводно-жировой диете способствует росту содержания холестерина, накоплению конечных продуктов гликолиза в мышцах. Показатели активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы не изменены по сравнению с группой контроля. В эритроцитах обнаружено снижение уровня пировиноградной кислоты, повышение содержания лактата и глутатиона на фоне синхронного уменьшения активности глутатионпероксидазы и увеличения активности глутатионредуктазы, как в мышцах, так и эритроцитах.

2. После введения симвастатина «гиперхолестеринимичным» животным наряду с нормализацией уровня холестерина, в мышцах и эритроцитах снижается содержание глутатиона и активность глутатионзависимых ферментов по сравнению с предыдущей группой. В эритроцитах соотношение пируват/лактат сдвинуто за счет резкого накопления лактата. В митохондриях мышц выявлено угнетение активности работы дыхательной цепи на участке сукцинатдегидрогеназа – цитохромоксидаза.

3. В мышцах животных после введения убихинона наблюдается увеличение активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы достигающее контрольных значений. В эритроцитах уровень восстановленного глутатиона превышает данные предшествующей группы, тогда как в мышцах наблюдается снижение содержания субстрата. Активность глутатионпероксидазы синхронно в мышцах и эритроцитах растет, но остается ниже контрольных значений.

4. В группе животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после введения симвастатина и липоевой кислоты в мышцах регистрируется высокий уровень восстановленного глутатиона и активность глутатионпероксидазы по сравнению с предыдущими группами, достигающие в эритроцитах контрольных величин.

5. При введении липоевой кислоты в эритроцитах уровень лактата практически не отличался от контрольных величин, тогда как после введения убихинона был ниже данных группы сравнения и контроля. При включении в

терапию метаболитов регистрировалось увеличение восстановленного глутатиона в меньшей степени, выраженной в группе с липоевой кислотой. После введения убихинона активность глутатионредуктазы была резко увеличена по сравнению с предыдущими группами, а после введения липоевой кислоты не отличалась от контрольных величин. Соответственно активность глутатионпероксидазы в группе с убихиноном имела тенденцию к росту, а после введения липоевой кислоты активность фермента нормализовалась.

6. Метаболическая картина, складывающаяся при действии убихинона или липоевой кислоты, позволяет выделить информативные звенья, отражающие специфические особенности каждого корректора: в митохондриях мышц на фоне убихинона нормализуется активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, тогда как при введении липоевой кислоты регистрируется их активация; при нормализации уровня пирувата уменьшается степень лактоацидоза, в большей степени выраженная после введения липоевой кислоты. Изменения глутатионового звена, сбалансированы в большей степени при введении в комплекс липоевой кислоты, создающей оптимальные условия для устойчивой адаптации к длительному воздействию статинов в мышцах.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии (патент на изобретение № 2733693 от 06.10.2020 г.) может использоваться в клинической диетологии для углубленного анализа особенностей нарушения обменных процессов у пациентов с гиперхолестеринемией и разработки рационов питания. А также при проведении медико-биологических испытаний новых диетических продуктов, направленных на борьбу с дислипидемиями.

2. Способ оптимизации кислородзависимых процессов при длительном введении симвастатина животным с использованием липоевой кислоты (патент на изобретение № 2741689 от 28.01.2021 г.) может быть применен для коррекции нарушений про- и антиоксидантного статуса, а также для улучшения энергетического обеспечения метаболических процессов, повышающих адаптационный потенциал организма.

3. Результаты диссертационной работы могут быть использованы для разработки стандартов доклинических испытаний терапевтических схем с целью профилактики и лечения осложнений статиновой терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

2,3-ДФГ	– 2,3-дифосфоглицерат
2,4-ДНФГ	– 2,4-дифенилгидрозином
5,5-ДТНБК	- 5,5-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты
CoQ ₁₀	– кофермент Q ₁₀ (убихинон)
FAD, ФАД	– флавинадениндинуклеотид
GSH	– восстановленный глутатион
GSSG	– окисленный глутатион
Hb	- гемоглобин
NAD ⁺ , НАД ⁺	– никотинамидадениндинуклеотид
SH-группы	– сульфгидрильные группы
апоВ-100	– белок аполипопротеина гена
АТФ	– аденозинтрифосфорная кислота
ВИЧ	– вирус иммунодефицита человека
ГМГ-КоА	– 3-гидрокси-3-метилглутатрил кофермент А
ГМГ-КоА-редуктаза	– гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза
ГПО	– глутатионпероксидаза
ГР	– глутатионредуктаза
ГХС	– семейной гиперхолестеринемии
ДГЛК	– дигидролипоевая кислота
КоА	– кофермент ацетилирования
ЛК	– липоевая кислота
ЛПВП	– липопротеины высокой плотности
ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	– липопротеины очень низкой плотности
ЛППП	– липопротеины промежуточной плотности
НАДФН	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленная форма

ПВК	– пировиноградная кислота
СДГ	– сукцинатдегидрогеназы
ТДФ	– тиаминдифосфат
цАМФ	– циклический аденозинмонофосфат
ЦХО	– цитохромоксидазы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексанян Л.А. Статины и «бремя» цивилизации: доказанная выгода при атеросклеротических заболеваниях / Л.А. Алексанян, Е.Г. Силина // Русский медицинский журнал. – 2011. – Т.19, №4. – С. 186-190.
2. Аметов А.С. Роль и место нарушенного окислительно-восстановительного баланса в развитии диабетической невропатии и антиоксидантные эффекты альфа-липоевой кислоты / А.С. Аметов, А.А. Косян // Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение. – 2020. – Т. 9, № 2. – С.70-79.
3. Аронов Д.М. Применение Коэнзима Q10 в кардиологической практике / Д.М. Аронов // РМЖ. – 2004. – Т. 12, № 15. – С. 905-909.
4. Банзаракшеев В.Г. Патофизиологическое обоснование результатов моделирования атерогенной дислипидемии у крыс / В.Г. Банзаракшеев // Acta Biomedica Scientifica. – 2016. – Т. 1 № 3. – С. 33-36.
5. Белоусова Е.С. Признаки риска развития миопатии, вызванной длительным приёмом симвастатина (Зокора) / Е.С. Белоусова, З.И. Микашинович, Т.Д. Коваленко // Фундаментальные исследования. – 2014. - № 5. – С. 1197-1200.
6. Бельских Э.С. Современные представления о патогенезе и подходах к коррекции митохондриальной дисфункции / Э.С. Бельских, В.И. Звягина, О.М. Урясьев // Наука молодых – Eruditio Juvenium. – 2016. –№1. – С. 104-112.
7. Бонь Е.И. Роль митохондрий в энергетике клетки и характеризующие ее молекулярные маркеры / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович // Оренбургский медицинский вестник. – 2019. – №1 (25). – С. 47-52.
8. Бустаманте Дж. Метаболизм альфа-липоевой кислоты в печени при различных формах патологии / Дж. Бустаманте, Дж. Лодж, А. Маркочи // Международный медицинский журнал. – 2001. – № 2. – С. 133-141.

9. Виноградова Е.В. Молекулярные механизмы статиновой миопатии : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.01.04 / Виноградова Елена Викторовна. – Краснодар, 2020. – 23 с.
10. Герасимов А.Н. Медицинская статистика: учеб. пособие. – М.: Мед. информ. агентство, 2007. – 480 с.
11. Гиляревский С.Р. Изменение подходов к лечению больных атеросклерозом в 2017 году: сохраняется ли роль статинов? / С.Р. Гиляревский, М.В. Голшмид, И.М. Кузьмина // РМЖ. – 2017. – № 14. – С. 1061-1066.
12. Гордеев И.Г. Перспективы применения статинов: обзор современных исследований / И.Г. Гордеев, Е.О. Таратухин // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2016. – № 6. – С. 398-403.
13. Горошко О.А. Значение редокс-статуса коэнзима Q10 как биомаркера окислительного стресса / О.А. Горошко, Л.М. Красных, В.Г. Кукес, В.И. Зозина // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2019. – № 9(3). – С. 146-152.
14. Гридасова Р.А. Влияние тиоктацида БВ на показатели липидного обмена у больных с ишемической болезнью сердца, перенесших инфаркт миокарда / Р.А. Гридасова // Материалы Российского национального конгресса кардиологов. Приложение I к журналу «Кардиоваскулярная терапия и профилактика». – 2011. – № 6. – С. 82-83.
15. Гридасова Р.А. Оценка клинической эффективности липоевой кислоты у пациентов с постинфарктным кардиосклерозом / Р.А. Гридасова, З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, Т.Д. Коваленко // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2012. – № 1. – С. 57-61.
16. Губергриц Н.Б. Статины в гепатологии: добро или зло? / Н.Б. Губергриц, Н.В. Ларева, А.Е. Ключков. – М.: Форте принт, 2014. – 36 с.
17. Доценко Н.Я. Эффективность комбинированной гиполипидемической терапии у пациентов с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью / Н.Я. Доценко, С.Н. Малахова // Листопад-грудень. – 2008. – №9(125-126). – С. 78-81.

18. Драпкина О.М. Статины - визитная карточка кардиолога / О.М. Драпкина // *Consilium Medicum*. – 2012. – № 5. – С. 28-31.
19. Драпкина О.М. Статины и миопатия: молекулярные механизмы / О.М. Драпкина, Е.М. Чернова, О.Н. Корнеева // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2012. – Т. 8, № 3. – С. 469-473.
20. Дядык А.И. Статин-ассоциированные мышечные симптомы: эпидемиология, факторы риска, механизмы развития и лечебная тактика / А.И. Дядык, Т.Е. Куглер, С.Р. Зборовский, Ю.В. Сулиман // *Кардиология*. – 2019. – Т. 59, № 5S - С. 4-12.
21. Егорова М.В. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы / М.В. Егорова, С.А. Афанасьев // *Сибирский медицинский журнал*. – 2011. – Т. 26, № 1. – С. 22-28.
22. Ежов М.В. Российские рекомендации по диагностике и лечению семейной гиперхолестеринемии / М.В. Ежов, И.В. Сергиенко, Т.А. Рожкова, В.В. [и др.] // *Атеросклероз и дислипидемии*. – 2016. №4 (25). – С. 21-29.
23. Захарова И.Н. Влияние антиоксиданта на основе убихинона на активность перекисного окисления липидов и антиоксидантную защиту при пиелонефрите у детей / И.Н. Захарова, Е.Г. Обыночная, Е.В. Скоробогатова, О.А. Малашина // *Педиатрия*. – 2005. – № 4. – С. 75-78.
24. Калинина Е.В. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, Р. Алеид, М.Д. Новичкова, А.Н. Саприн, Т.Т. Березов // *Вестник Российской АМН*. – 2010. – № 3. – С. 46-54.
25. Калинин С.Ю. Современный взгляд на возможность применения альфа-липоевой кислоты / С.Ю. Калинин, Л.О. Ворслов, И.А. Курникова, И.В. Гадзиева // *Эффективная фармакотерапия. Урология и Нефрология*. – 2012. – №1. – С. 54-58.

26. Ключников С.О. Применение Кудесана (Коэнзима Q10) у часто болеющих детей / С.О. Ключников, Е.С. Гнетнева, Т.Н. Накостенко, В.С. Сухоруков // Педиатрия. – 2007. – № 2. – С. 80-83.
27. Ключников С.О. Убихинон (коэнзим Q₁₀): теория и клиническая практика / С.О. Ключников, Е.С. Гнетнева // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 3. – С. 103-110.
28. Кобалава Ж.Д. Безопасность статинов: реальное и надуманное / Ж.Д. Кобалава, С.В. Виллевалде, Е.К. Шаварова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2007. Т. 6, № 2. – С. 105-112.
29. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р.С. Кривченкова // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина. – 1977. – С. 47-49.
30. Кулинский В.И. Система глутатиона I. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 255-277.
31. Ланкин В.З. Влияние ингибитора β-гидрокси-β-метилглутарил-коэнзим-А-редуктазы и витаминов-антиоксидантов на свободнорадикальное окисление липидов печени крыс / В.З. Ланкин, М.В. Иванова, Г.Г. Коновалова, А.К. Тихадзе, А.И. Каминный, В.В. Кухарчук // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143, № 4. – С. 390-393.
32. Леонтьева И.В. Нарушения клеточной энергетики при кардиомиопатиях и возможности применения коэнзима Q10 в лечении / И.В. Леонтьева // Consilium Medicum. Педиатрия. – 2007. – № 5. – С. 30-33.
33. Леонтьева И.В. Нарушения клеточной энергетики при кардиомиопатиях и возможности применения коэнзима Q10 в лечении / И.В. Леонтьева // Consilium Medicum. Педиатрия. – 2007. – № 5. – С. 30-33.

34. Литовский И.А. Достаточно ли обоснованы цели, к которым мы стремимся? / И.А. Литовский, А.В. Гордиенко, А.В. Сотников // Клиническая фармакология и терапия. – 2019. - № 28(4). – С. 10-23.
35. Луганова И.С. Определение 2,3-ДФГ неэнзиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом / И.С. Луганова, М.Н. Блинов // Лабораторное дело. – 1975. – № 7. – С. 652-654.
36. Маевский Е.И. Обоснование использования биологически активных добавок янтавит и митомин на основе янтарной кислоты / Е.И. Маевский, Е.В. Гришина, А.С. Розенфельд // Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино. – 2000. – Т. 1, №. 2. – С. 25-31.
37. Макарова Т.П. Коэнзим Q10: перспективы применения в клинической практике / Т.П. Макарова, С.В. Батыршина, Н.И. Данилова, А.Н. Акулов, Л.А. Хаертдинова, С.Н. Серов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им Н.Э. Баумана. – 2011. – № 206. – С. 138-147.
38. Микашинович З.И. Биохимические исследования слюны в клинической практике: монография / З.И. Микашинович, А.В. Летуновский, О.О. Волжин, Е.С. Белоусова. – Ростов н/Д.: Изд-во РостГМУ, 2004. – 80 с.
39. Микашинович З.И. Влияние биологически активной добавки «Коэнзим Q10» на обменные процессы в миокарде крыс, содержащихся при различных температурных условиях / З.И. Микашинович, Ю.Г. Новодержкина, Е.С. Белоусова // Вопросы питания. – 2007. – Т. 76, № 3. – С. 19-24.
40. Микашинович З.И. Общие и частные закономерности изменений в эндокринных органах и крови при разной тяжести травматического шока и острой кровопотери: дис. ... д-ра. биол. наук / Микашинович Зоя Ивановна. – Ростов н/Д, 1989. – 404 с.
41. Микашинович, З.И. Биохимические изменения в эритроцитах как молекулярный индикатор клеточного повреждения при длительном введении симвастатина / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2016. – № 2. – С. 122-126.

42. Мишланов В.Ю. Атеросклероз: новое в патогенезе, диагностике, лечении (лейкоцитарно-липопротеиновая теория) / В.Ю. Мишланов, А.В. Туев, В.А. Черешнев. – Издание РАН, 2018. – 128 с.
43. Молчанова О.В. Фармакологические эффекты альфа-липоевой (тиоктовой) кислоты / О. В. Молчанова, В.И. Кочкаров, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, М.В. Корокин, О.С. Гудырев // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2012. – № 22 (141), вып.20/3. – С. 24-29.
44. Напалков Д.А. Безопасность статинов: что нужно знать практикующему врачу? / Д.А. Напалков // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2014. – Т. 10, № 2. – С. 334-338.
45. Нельсон Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1: Основы биохимии, строение и катализ / Д. Нельсон, М. Кокс; пер. с англ. — 3-е изд., испр. — М.: Лаборатория знаний, 2017. — 694 с.
46. Нельсон Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 2: Основы биохимии, биоэнергетика и метаболизм / Д. Нельсон, М. Кокс; пер. с англ. — 3-е изд., испр. — М.: Лаборатория знаний, 2017. — 691 с.
47. Османов И.М. Применение коэнзима Q10 в педиатрии / И.М. Османов, В.С. Сухоруков, Е.И. Каламбет // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – № 10(2). – С. 146-149.
48. Пат. № 2632624 Российская Федерация, МПК G 09 В 23/28. Способ моделирования миопатии/ Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Саркисян О.Г., Вихлянцев И.М., Виноградова Е.В. ; заявитель и патентообладатель. – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России), Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Саркисян О.Г., Вихлянцев И.М., Виноградова Е.В. – № 2016122000; заявл. 02.06.2016; опубл. 06.10.2017; Бюл. № 28.
49. Пат. № 2733693 Российская Федерация, МПК G 09 В 23/28. Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии / Микашинович З.И.,

- Белоусова Е.С., Семенец И.А., Ромашенко А.В., Кантария А.В.; заявитель и патентообладатель Семенец И.А.. – № 2020111021; заявл. 16.03.20; опубл. 06.10.20, Бюл. № 28.
50. Петров В.И. Безопасность статинов / В.И. Петров, О.Н. Смусева, Ю.В. Соловкина // Вестник ВолгГМУ. – 2012. – Т. 4, № 44. – С. 9-14.
 51. Российские рекомендации РКО, НОА, РосОКР. VI пересмотр. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации. VI пересмотр. – 2017. – № 3. – С. 5-22.
 52. Румянцев Н.А. Использование фармакогенетического тестирования для предотвращения нежелательных лекарственных реакций при терапии статинами / Н.А. Румянцев // Терапевтический архив. – 2017. – № 1. – С. 82-88.
 53. Смирнова М.Д. Статины – старые мифы и новые факты / М.Д. Смирнова, Ф.Т. Агеев // РМЖ. – 2017. – № 20. – С. 1421-1428.
 54. Сорокин Е.В. Лечение статинами: почему нежелательно прекращение / Е.В. Сорокин, Ю.А. Карпов // Атмосфера. Новости кардиологии. – 2016. – №2. – С. 2-6.
 55. Сорокин Е.В. Статины как основа профилактики и лечения связанных с атеросклерозом: баланс эффективности и безопасности // Е.В. Сорокин, Ю.А. Карпов // Атмосфера. Новости кардиологии. – 2017. – №2. – С. 20-30.
 56. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / под ред. В.С. Камышникова – М.: «МЕДпресс-информ», 2009. – 896 с.
 57. Справочник по лабораторным методам исследований / под ред. Л.А. Даниловой – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.
 58. Сторожук П.Г. Биохимическая природа автоматизма сердца, его связь с нервной системой и экстраполяция химических процессов на элементы кардиограммы / П.Г. Сторожук – Краснодар: Изд-во ГБОУ ВПО КубГМУ, 2011. – 104 с.

59. Сусеков А. В. Доказательная база эффективности симвастатина (Зокора): 15 лет спустя / А.В. Сусеков, Н.Б. Горнякова, М.Ю. Зубарева // Терапевт. архив. – 2010. – № 12. – С. 68-72.
60. Сусеков А.В. Доказательная база Симвастатина (Зокор): пятнадцать лет спустя / А.В. Сусеков, Н.Б. Горнякова, М.Ю. Зубарева, С.А. Бойцов // Артериальная гипертензия. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 238-249.
61. Титов В.Н. Действие статинов: активация липолиза и поглощения инсулинозависимыми клетками ЛПОНП, повышение биодоступности полиеновых жирных кислот и понижение холестерина ЛПНП / В.Н. Титов, П.П. Малышев, В.А. Амелюшкина, А.В. Ариповский, Г.П. Смирнов, Т.Ю. Полевая, С.И. Кабо, В.В. Кухарчук // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – №10. – С. 4-12.
62. Титов В.Н. Клиническая биохимия гиполипидемической терапии и механизмы действия статинов. Жирные кислоты, статины и сахарный диабет / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – №2. – С. 4-14.
63. Тутельян В.А. Липоевая кислота: физиологическая роль и перспективы клинического применения / В.А. Тутельян, А.А. Махова, А.В. Погожева, Е.В. Ших, Е.В. Елизарова, С.А. Хитимченко // Вопросы питания. – 2019. – Т. 88, № 4. – С. 6-11.
64. Тютюмова Е.А. Механизмы активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в восстановительном периоде инсульта и способы их коррекции / Е.А. Тютюмова, Э.Ю. Соловьева, А.Н. Карнеев, Э.Д. Джутова // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2019. – № 11(1). – С 72-78.
65. Чапидзе Г.Э. Комбинированная терапия антиоксидантным коэнзимом Q10 и симвастатином больных коронарным атеросклерозом / Г.Э. Чапидзе, С.А. Капанадзе, Н.К. Долидзе, Н.Э. Лацабидзе, Э.В. Бахуташвили // Кардиология. – 2006. – № 8. – С. 11-13.
66. Шальнова С.А. Информированность и особенности терапии статинами у лиц с различным сердечно-сосудистым риском: исследование ЭССЕ-РФ /

- С.А. Шальнова, А.Д. Деев, В.А. Метельская, С.Е. Евстифеева, О.П. Ротарь, Ю.В. Жернакова, С.А. Бойцов // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2016. – №15(4). – С. 29-37.
67. Школьников М.А. Отчет Ассоциации детских кардиологов России по применению Кудесана. Применение антиоксидантного препарата Кудесан (коэнзим Q10 с витамином Е) в кардиологии. М.: 2002.
68. Шульпекова, Ю.О. Применение тиоктовой кислоты в гастроэнтерологии / Ю.О. Шульпекова, В.Т. Ивашкин // РМЖ. – 2000. – Т. 8, № 15. – С. 630-632.
69. Шурдумова М.Х. Применение α -липоевой кислоты при ишемическом инсульте, ассоциированном с сахарным диабетом / М.Х. Шурдумова // Consilium Medicum. – 2017. – № 19 (12). – С. 91-93.
70. Щербак А.В. Мультифакторные эффекты альфа-липоевой (тиоктовой) кислоты в патогенетической терапии диабетической полинейропатии и других патологических состояний / А.В. Щербак // Ліки. – 2001. – № 1. – С.45-56.
71. Юбицкая Н.С. Комбинированное применение аторвастатина и антиоксиданта коэнзима Q10 при метаболическом синдроме / Н.С. Юбицкая, М.В. Антонюк, В.И. Янькова // Бюллетень СО РАМН. – 2012. – Т. 32, №4. – С. 45-51.
72. Юбицкая Н.С. Коррекция антиоксидантного статуса при применении аторвастатина у пациентов с метаболическим синдромом / Н.С. Юбицкая, М.В. Антонюк, В.И. Янькова // Российский кардиологический журнал. – 2013. – №3(101). – С. 51-55.
73. Юзвенко Т.Ю. Новые возможности применения альфа-липоевой кислоты: роль энантиомеров / Т.Ю. Юзвенко, С.А. Тарасенко, О.В. Марченко // МЭЖ. – 2019. – Т.15, № 6. – С. 507-514.
74. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов / Л.Б. Юсупова // Лабораторное дело. – 1989. – № 4. – С. 19-21.
75. Abdelhalim M.A. K. The Protective Roles of Vitamin E and α -Lipoic Acid Against Nephrotoxicity, Lipid Peroxidation, and Inflammatory Damage Induced by Gold

- Nanoparticles / M.A. K Abdelhalim, H. AY Qaid, Y.H. Al-Mohy, M.M. Ghannam // *International Journal of Nanomedicine*. – 2020. – Vol. 15. – P. 729-734.
76. Agathos E. Effect of α -lipoic acid on symptoms and quality of life in patients with painful diabetic neuropathy / E. Agathos, A. Tentolouris, I. Eleftheriadou, P. Katsaouni, I. Nemtzas, A. Petrou, C. Papanikolaou, N. Tentolouris // *The Journal of international medical research*. – 2018. – Vol. 46, № 5. – P. 1779-1790.
77. Anthony R.M. Alpha-Lipoic Acid Is an Effective Nutritive Antioxidant for Healthy Adult Dogs / R.M. Anthony, J.M. MacLeay, D.E. Jewell, J.J. Brejda, K.L. Gross // *Animals (Basel)*. – 2021. – Vol. 11(2). – P. 274-291.
78. Arora R. Statin-induced myopathy: the two faces of Janus / R. Arora, M. Liebo, F. Maldonado // *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. – 2006. – Vol. 11(2). – P. 105-112.
79. Banach M. Statin intolerance – an attempt at a unified definition. Position paper from an International Lipid Expert Panel / M. Banach, M. Rizzo, P.P. Toth [et al.] // *Archives of Medical Science: AMS*. – 2015. – Vol. 11(1). – P. 1-23.
80. Baur A. Alpha lipoic acid is an effective inhibitor of human immuno-deficiency virus replication / A. Baur, T. Harrer, M. Peukert, G. Jahn, J.R. Kalden, B. Fleckenstein // *Klin Wochenschr*. – 1991. – Vol. 69, № 15. – P. 722-724.
81. Bays H. An Assessment by the Statin Liver Safety Task Force: 2014 / H. Bays, D.E. Cohen, N. Chalasani, S.A. Harrison // *J Clin Lipidology*. – 2014. – Vol. 8. – P. 47-57.
82. Berbel-Garcia A. Coenzyme Q 10 improves lactic acidosis, strokelike episodes, and epilepsy in a patient with MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes) / A. Berbel-Garcia, J.R. Barbera-Farre, J.P. Etessam, A.M. Salio, A. Cabello, E. Gutierrez-Rivas, Y. Campos // *Clinical Neuropharmacology*. – 2004. – Vol. 27(4). – P. 187-191.
83. Bonakdar R.A. Coenzyme Q10 / R.A. Bonakdar, E. Guarneri // *Am Fam Physician*. – 2005. – Vol. 72, № 6. – P. 1065-1070.
84. Caso G. Effect of coenzyme Q10 on myopathic symptoms in patients treated with statins / G. Caso, P. Kelly, M.A. McNurlan, W.E. Lawson. // *Am J Cardiol*. – 2007. – Vol. 99. – P. 1409-1412.

85. Catapano A.L. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias / A.L. Catapano, I. Graham, G. De Backer [et al.] // *European Heart Journal*. – 2016. – Vol. 37, № 39. – P. 2999-3058.
86. Christopher-Stine L. Statin myopathy: an update / L. Christopher-Stine // *Curr Opin Rheumatol*. – 2006. – Vol. 18, № 6. – P. 647-653.
87. Cohen J.D. Understanding Statin Use in America and Gaps in Patient Education (USAGE): an internet-based survey of 10,138 current and former statin users / J.D. Cohen, E.A. Brinton, K.I. Matthew, T.A. Jacobson // *J Clin Lipidol*. – 2012. – Vol. 6, № 3. – P. 208-215.
88. Coppey L.J. Effect of antioxidant treatment of streptozotocin-induced diabetic rats on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity, and vascular reactivity of epineurial arterioles of the sciatic nerve / L.J. Coppey, J.S. Gellett, E.P. Davidson, D.D. Lund, M.A. Yorek // *Diabetes*. – 2001. – Vol. 50, № 8. – P. 1927-1937.
89. Cronan J.E. Assembly of Lipoic Acid on Its Cognate Enzymes: an Extraordinary and Essential Biosynthetic Pathway / J.E. Cronan // *Microbiology and molecular biology reviews*. – 2016. – Vol. 80(2). – P. 429–450.
90. Cure E. Alpha-lipoic acid may protect patients with diabetes against COVID-19 infection / E. Cure, C.M. Cure // *Medical hypotheses*. – 2020. – Vol. 143. – P. 1-4.
91. Darwish Mohamed Y.A. Study of potential nephroprotective effects of Ramipril versus Alpha lipoic acid against Gentamicin induced nephropathy in rats / Mohamed Y.A. Darwish, Abd El-Lateef S. Abd El-Lateef // *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. – 2018. – Vol. 73(10). – P. 7754-7760.
92. Dhavane S.S. Alpha Lipoic Acid: A Potent Antioxidant in Treatment of Cataract / S.S. Dhavane, S.K. Musale, H.J. Pagar, S.S. Dhavane // *International Journal of Research and Review*. – 2020. – Vol. 7(5). – P. 340-347.
93. Di Lorenzo A. Clinical Evidence for Q10 Coenzyme Supplementation in Heart Failure: From Energetics to Functional Improvement / A. Di Lorenzo, G. Iannuzzo, A. Parlato, G. Cuomo, C. Testa, M. Coppola, G. D'Ambrosio,

- D.A. Oliviero, S. Sarullo, G. Vitale, C. Nugara, F.M. Sarullo, F. Giallauria // *Journal of clinical medicine*. – 2020. – Vol. 9(5). – P. 1266-1283.
94. Dirks A.J. Statin-induced apoptosis and skeletal myopathy / A.J. Dirks, K.M. Jones // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2006. – Vol. 291, № 6. – P. 1208-1212.
95. Ebrahimi A. Cardiovascular Effects of Coenzyme Q10 / A. Ebrahimi, S.A. Esfahani, S. Hosseini, M. Pakdin, R. Bhimani, S. Ebrahimi // *Drug Design, Development and Therapy*. – 2021. – Vol. 10(3), № 179. – P. 729-734.
96. El Barky A.R. The Potent Antioxidant Alpha Lipoic Acid / A.R. El Barky, S.A. Hussein, T.M. Mohamed // *Journal of Plant Chemistry and Ecophysiology*. – 2017. – Vol. 2(1). – P. 10-16.
97. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Arch Biochem Biophys*. – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70-77.
98. El-Salem K. Prevalence and risk factors of muscle complications secondary to statins / K. El-Salem, B. Ababneh, S. Rudnicki [et al.] // *Muscle Nerve*. – 2011. – Vol. 44, № 6. – P. 877-881.
99. Evans M. Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on skeletal muscle: are all statins the same? / M. Evans, A. Rees // *Drug Saf*. – 2002. – Vol. 25, № 9. – P. 649-663.
100. Fernandez G. Statin myopathy: a common dilemma not reflected in clinical trials / G. Fernandez, E.S. Spatz, C. Jablecki, P.S. Phillips // *Cleveland clinic journal of medicine*. – 2011. – Vol. 78, № 6. – P. 393-403.
101. Feuerecker B. Lipoic acid inhibits cell proliferation of tumor cells in vitro and in vivo / B. Feuerecker, S. Pirsig, C. Seidl, M. Aichler, A. Feuchtinger, G. Bruchelt, R. Senekowitsch-Schmidtke // *Cancer biology & therapy*. – 2012. – Vol. 13(14). – P. 1425–1435.
102. Filipek P.A. Mitochondrial dysfunction in autistic patients with 15q inverted duplication / P.A. Filipek, J. Juranek, M. Smith et al. // *Ann Neurol*. – 2003. – Vol. 53, № 6. – P. 801-804.

103. Gillett Jr R.C. Considerations for safe use of statins: liver enzyme abnormalities and muscle toxicity / R.C. Gillett Jr, A. Norrell // *Am Fam Physician*. – 2011. – Vol. 83, № 6. – P. 711-716.
104. Golomb B.A. Statin adverse effects: a review of the literature and evidence for a mitochondrial mechanism / B.A. Golomb, M.A. Evans // *Am J Cardiovasc Drugs*. – 2008. – Vol. 8, № 6. – P. 373-418.
105. Gomes M.B. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases / M.B. Gomes, C.A. Negrato // *Diabetology & metabolic syndrome*. – 2014. – Vol. 6(1):80. – P. 1-18.
106. Gregus Z. Effects of lipoic acid on biliary excretion of glutathione and metals / Z. Gregus, A. Stein, C.D. Klaassen // *Toxicol Appl Pharmacol*. – 1992. – Vol. 114, № 1. – P. 88-96.
107. Hager K. Alpha-lipoic acid as a new treatment option for Alzheimer's disease - a 48 months follow-up analysis / K. Hager, M. Kenklies, J. McAfoose, J. Engel, G. Münch // *J. Neural Transm Suppl*. – 2007. – Vol. 72. – P. 189-193.
108. Harper C.R. The broad spectrum of statin myopathy: from myalgia to rhabdomyolysis / C.R. Harper, T.A. Jacobson // *Curr Opin Lipidol*. – 2007. – Vol. 18, № 4. – P. 401-408.
109. Hershey A.D. Coenzyme Q10 Deficiency and Response to Supplementation in Pediatric and Adolescent Migraine / A.D. Hershey, S.W. Powers, A.B. Vockell [et al.] // *Headache*. – 2007. – Vol. 47, № 1. – P. 73-80.
110. Holmquist L. Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias / L. Holmquist, G. Stuchbury, K. Berbaum [et al.] // *Pharmacol Ther* – 2007. – Vol. 113, № 1. – P. 154-164.
111. Hua Qu Effects of Coenzyme Q10 on Statin-Induced Myopathy: An Updated Hua Qu Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials / Hua Qu, Ming Guo, Hua Chai, Wen-ting Wang, Zhu-ye Gao, Da-zhuo Shi // *Journal of the American Heart Association*. – 2018. – Vol.7, №19. – P. 1-11.

112. Hummel T. Lipoic acid in the treatment of smell dysfunction following viral infection of the upper respiratory tract / T. Hummel, S. Heilmann, K.B. Huttenbriuk // *Laryngoscope* – 2002. – Vol. 112, № 11. – P. 2076-2080.
113. Jariwalla R. Restoration of blood total glutathione status and lymphocyte function following alpha-lipoic acid supplementation in patients with HIV infection / R. Jariwalla, J. Lalezari, D. Cenko, S. Mansour, A. Kumar, B. Gangapurkar, Daniel Nakamura // *Journal of alternative and complementary medicine*. – 2008. – Vol. 14, № 2. – P. 139-146.
114. Langsjoen P.H. Statin-Associated cardiomyopathy responds to statin withdrawal and administration of coenzyme Q10 / P.H. Langsjoen, J.O. Langsjoen, A.M. Langsjoen // *The Permanente journal*. – 2019. – Vol. 23, №18. – P. 257- 262.
115. Liu J. The effects and mechanisms of mitochondrial nutrient alpha-lipoic acid on improving age-associated mitochondrial and cognitive dysfunction: a overview / J. Liu // *Neurochem Res* – 2008. – Vol. 33, № 1. – P. 194-203.
116. Lowry C. Protein measurement with the folin phenol reagent / C. Lowry, N. Rosebrough, R. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1953. – Vol. 193. – P. 265-275.
117. Lyn P. Mercury toxicity and antioxidants: part I: role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity / P. Lyn // *Alternative Medicine Review*. – 2002. – Vol. 7, № 6. – P. 456-471.
118. Maczurec A. Lipoic acid as anti-inflammatory and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease / A. Maczurec, K. Hager, M. Kenklies [et al.] // *Adv Drug Deliv Rev*. – 2008. – Vol. 60, № 13-14. – P. 1463-1470.
119. Mayr J.A. Lipoic acid biosynthesis defects / J.A. Mayr, R.G. Feichtinger, F. Tort, A. Ribes, W. Sperl // *J Inherit Metab Dis*. – 2014. – Vol. 37, № 4. – P. 553-563.
120. McGowan J.V. Anthracycline Chemotherapy and Cardiotoxicity / J.V. McGowan, R. Chung, A. Maulik, I. Piotrowska, J.M. Walker, D.M. Yellon // *Cardiovascular drugs and therapy*. – 2017. – Vol. 31(1). – P. 63-75.
121. Meador B.M. Statin-associated myopathy and its exacerbation with exercise / B.M. Meador, K.A. Huey // *Muscle Nerve*. – 2010. – Vol. 42, № 4. – P. 469-479.

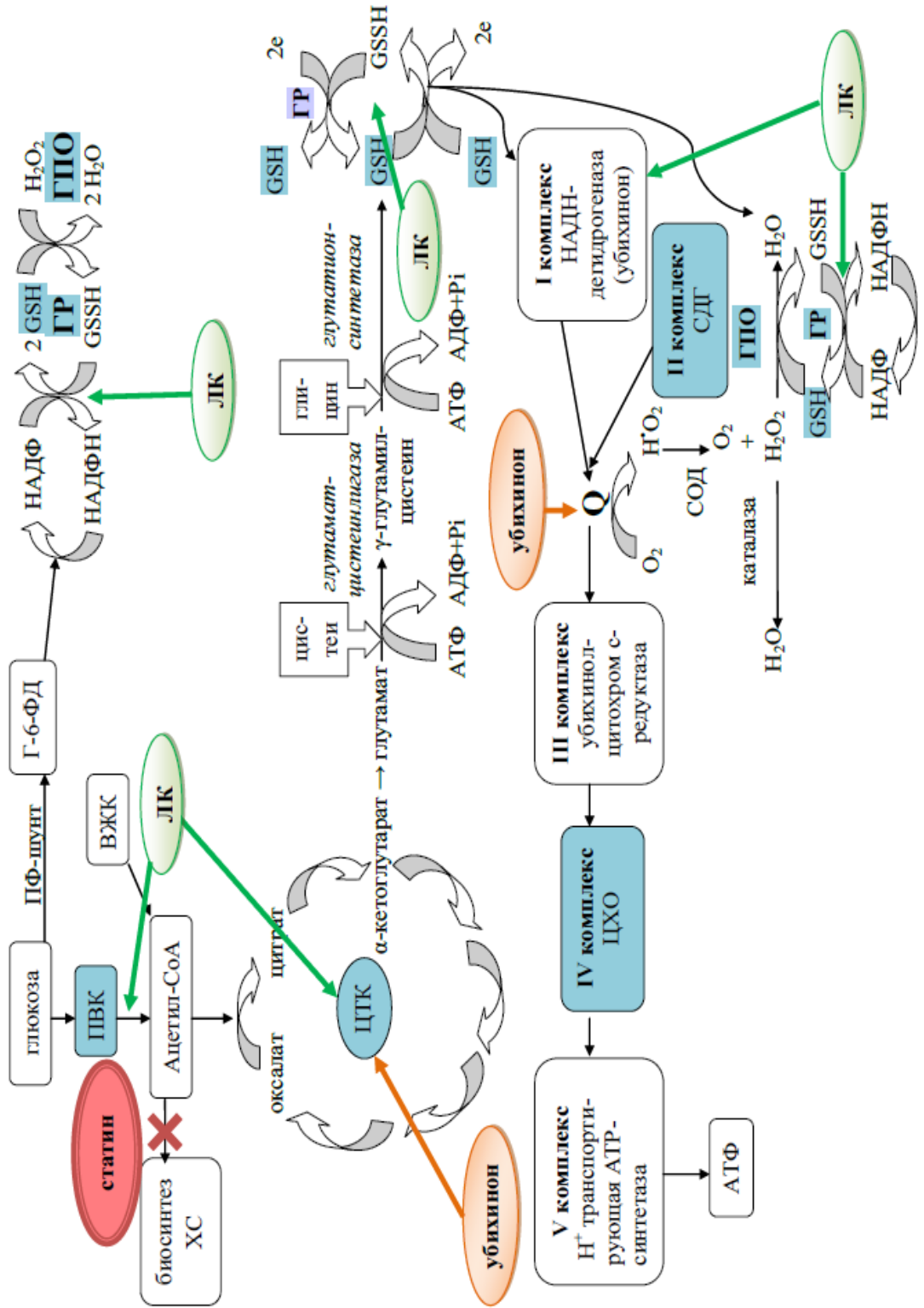
122. Mortinsen S.A. Overview of coenzyme Q10 as adjunctive therapy in chronic heart failure. Rationale, design and endpoints of «Q-symbio» – a multinational trial / S.A. Mortinsen // *Biofactors*. – 2003. – Vol. 18, № 1–4. – P. 79-89.
123. Neergheen V. Coenzyme Q10 in the Treatment of Mitochondrial Disease / V. Neergheen, A. Chalasani, L. Wainwright, D. Yubero, R. Montero, R. Artuch, I. Hargreaves // *Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening*. – 2017. – Vol. 5. – P. 1-8.
124. Nordmann I.N. Determination the activiti dehydrogenasique des mitochondries a 1- acid-dichloride-2.3.5-triphenyl-tetrazolium / I.N. Nordmann // *Bull. Sos. Chim. Biol.* – 1957. – Vol. 33. – P. 189-197.
125. Patel J. Expert Opinion: The Therapeutic Challenges Faced by Statin Intolerance / J. Patel, S.S. Martin M. Banach // *Expert Opin Pharmacother.* – 2016. – Vol. 17(11). – P. 1497-507.
126. Phillips P.S. Statin-associated myopathy with normal creatine kinase levels / P.S. Phillips, R.H. Haas, S. Bannykh [et al.] // *Ann Intern Med.* – 2002. – Vol. 137, № 7. – P. 581-585.
127. Rodick T.C. Potential role of coenzyme Q10 in health and disease conditions / T.C. Rodick, D.R. Seibels, J.R. Babu, K.W. Huggins, G. Ren, S.T. Mathews // *Nutrition and Dietary Supplements*. – 2018. – Vol. 10. – P. 1-11.
128. Rojas-Fernandez C.H. An Assessment by the Statin Cognitive Safety Task Force: 2014 Update / C.H. Rojas-Fernandez, L.B. Goldstein, A.I. Levey [et al.] // *J Clin Lipidology*. – 2014. – Vol. 8, № 3. – P. 5-16.
129. Rosenfeldt F. Systematic review of effect of coenzyme Q10 in phtysical exercise, hypertension and heart failure / F. Rosenfeldt, D. Hilton, S. Pepe, H.Krum // *Biofactors*. – 2002. – Vol. 18, № 1-4. – P. 91-100.
130. Rosenfeldt F.L. Coenzyme Q10 protect the aging heart against stress: studies in rats, human tissues, and patients / F.L. Rosenfeldt, S. Pepe, A. Linnane [et al.] // *Ann N Y Acad Sci*. – 2002. – P. 355-359.

131. Rosenson R.S. An Assessment by the Statin Muscle Safety Task Force: 2014 update / R.S. Rosenson, S.K. Baker, T.A. Jacobson [et al.] // *J. Clin. Lipidol.* – 2014. – Vol. 8, № 3. – P. 58-71.
132. Sattar N. Statins and risk of incident diabetes: a collaborative meta-analysis of randomised statin trials / N. Sattar, D. Preiss, H.M. Murray [et al.] // *The Lancet* – 2010. – Vol. 375. – P. 735-742.
133. Sewright K.A. Statin myopathy: incidence, risk factors, and pathophysiology / K.A. Sewright, P.M. Clarkson, P.D. Thompson // *Curr Atheroscler Rep.* – 2007. – Vol. 9, № 5. – P. 389-396.
134. Shults C.W. Pilot trial of high dosages of coenzyme Q10 in patients with Parkinson's disease / C.W. Shults, M.F. Beal, D. Song // *Fontaine Exp Neurol* – 2004. – Vol. 188, № 2. – P. 491-494.
135. Silvestri S. Coenzyme Q10 and α -Lipoic Acid: Antioxidant and Pro-Oxidant Effects in Plasma and Peripheral Blood Lymphocytes of Supplemented Subjects / S. Silvestri, P. Orlando, T. Armeni, L. Padella, F. Bruge, G. Seddaiu, G.P. Littarru, L. Tiano // *J Clin Biochem Nutr*– 2015. – Vol. 57, № 1. – P. 21-26.
136. Singh R.B. Effect of coenzyme Q10 on experimental atherosclerosis and chemical composition and quality of atheroma in rabbits / R.B. Singh, S.N. Shinde, R.K. Chopra [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2000. – Vol. 148, № 2. – P. 275-282.
137. Smith A.R. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress / A.R. Smith, S.V. Shenvi, M. Widlansky, J.H. Suh, T.M. Hagen // *Curr Med Chem.* – 2004. – Vol. 11, № 9. – P. 1135-1146.
138. Stankovic M.N. The effects of α -lipoic acid on liver oxidative stress and free fatty acid composition in methionine-choline deficient diet-induced NAFLD / M.N. Stankovic, D. Mladenovic, M. Ninkovic, I. Ethuricic, S. Sobajic, B. Jorgacevic, S. de Luka, R.J. Vukicevic, T.S. Radosavljevic // *Journal of Medicinal Food.* – 2014. – Vol. 17(2). – P. 254-261.
139. Sandor P.S. Efficacy of coenzyme Q10 in migraine prophylaxis: A randomized controlled trial / P.S. Sandor, L. Di Clemente, G. Coppola [et al.] // *Neurology.* – 2005. – Vol. 64, № 4. – P. 713-715.

140. Thompson P.D. Statin-Associated Side Effects / P.D. Thompson, G. Panza, A. Zaleski, B. Taylor // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2016. – Vol. 67, № 20. – P. 2395-2410.
141. Toth P.P. Clinical characterization and molecular mechanisms of statin myopathy / P.P. Toth, C.R. Harper, T.A. Jacobson // *Expert Rev Cardiovasc Ther.* – 2008. – Vol. 6, № 7. – P. 955-69.
142. Zozina V.I. Coenzyme Q10 in Cardiovascular and Metabolic Diseases: Current State of the Problem / V.I. Zozina, S. Covantev, O.A. Goroshko, L.M. Krasnykh, V.G. Kukes // *Current cardiology reviews.* – 2018. – Vol. 14(3). – P. 164–174.
143. Мельник А.А. Механізми статинасоційованих побічних ефектів / А.А. Мельник // *Медична газета «Здоров'я України 21 сторіччя».* – 2019. – № 12 (457). – С. 32-34.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Метаболические участки влияния липовой кислоты и кофермента Q₁₀ в мышечных тканях при эссенциальной гиперхолестеринемией и длительном введении симвастина



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2733693

Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемииПатентообладатель: *Семенец Инна Александровна (RU)*

Авторы: *Микашинович Зоя Ивановна (RU), Белоусова Елена Сергеевна (RU), Семенец Инна Александровна (RU), Ромашенко Артем Викторович (RU), Кантария Автандил Велодиевич (RU)*

Заявка № 2020111021

Приоритет изобретения 16 марта 2020 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 06 октября 2020 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 16 марта 2040 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Излиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2741689

**СПОСОБ ОПТИМИЗАЦИИ КИСЛОРОДЗАВИСИМЫХ
ПРОЦЕССОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ
СИМВАСТАТИНА ЖИВОТНЫМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ**

Патентообладатель: *Семенец Инна Александровна (RU)*

Авторы: *Семенец Инна Александровна (RU), Микашинович
Зоя Ивановна (RU), Белоусова Елена Сергеевна (RU),
Сергиенко Маргарита Генриховна (RU), Телесманич Наталья
Робертовна (RU), Ромашенко Артем Викторович (RU)*

Заявка № 2020124871

Приоритет изобретения 17 июля 2020 г.

Дата государственной регистрации в
Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 28 января 2021 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 17 июля 2040 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Израиль



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной работе

ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,

Н.В. Дроботя




2021 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Основные результаты диссертационной работы Семенец Инны Александровны «Сравнительный анализ влияния липоевой кислоты и убихинона на метаболизм мышц при длительном приеме статинов», выполненной в Ростовском государственном медицинском университете на кафедре общей и клинической биохимии №1, используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Заведующая кафедрой общей и
клинической биохимии №1
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России
доктор биологических наук, профессор

 З.И. Микашинович

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной работе

ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,

Н.В. Дроботя



2021 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Основные результаты диссертационной работы Семенец Инны Александровны «Сравнительный анализ влияния липоевой кислоты и убихинона на метаболизм мышц при длительном приеме статинов», выполненной в Ростовском государственном медицинском университете на кафедре общей и клинической биохимии №1, используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Заведующий кафедрой фармакологии и
клинической фармакологии
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

А.В. Сафроненко