

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

На правах рукописи

ВИНОГРАДОВА ЕЛЕНА ВИКТОРОВНА

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАТИНОВОЙ МИОПАТИИ

03.01.04 – биохимия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

Микашинович Зоя Ивановна

Ростов-на-Дону – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ		4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ		
1.1	Дислипидемии как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний	15
1.2	Метаболические сдвиги при экспериментальной дислипидемии	21
1.3	Применение статинов в клинической практике	23
1.4	Структурно-функциональные изменения в мышечной ткани при миопатиях лекарственного генеза	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ		
2.1	Краткая характеристика экспериментального материала	38
2.2	Методы исследования	40
2.2.1	Определение структуры белков мышечной ткани	40
	Исследование содержания титина и небулина методом ДСН-гель-электрофореза	40
2.2.2	Гистологическое исследование микропрепаратов мышечной ткани	41
2.2.3	Методы количественного определения метаболитов и активности ферментов	42
	Методы фракционирования эритроцитов и мышечной ткани	42
	Методы определения метаболитов гликолиза и изучение газотранспортной функции эритроцитов	43
	Методы определения активности ферментов антиоксидантной защиты	44
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ		
	Состояние структуры гигантских белков мышечной ткани у животных с гиперхолестеринемией до и после длительного приема статинов	46
ГЛАВА 4.	Метаболические изменения в мышцах лабораторных животных	54

4.1	Интактные животные после длительного приема симвастатина	54
4.1.1	Метаболиты гликолиза: пируват, лактат	54
4.1.2	Ферменты антиоксидантной защиты	58
	Супероксиддисмутаза, каталаза	58
	Система глутатиона	61
4.2	Животные с экспериментальной гиперхолестеринемией до и после длительного введения симвастатина	65
4.2.1	Метаболиты гликолиза: пируват, лактат	65
4.2.2	Ферменты антиоксидантной защиты	68
	Супероксиддисмутаза, каталаза	68
	Система глутатиона	70
ГЛАВА 5.	Особенности изменения метаболических процессов в эритроцитах лабораторных животных до и после длительного введения симвастатина	74
5.1	Интактные животные после длительного приема симвастатина	74
5.1.1	Метаболиты гликолиза: пируват, лактат, 2,3-дифосфоглицерат	74
5.1.2	Ферменты антиоксидантной защиты	76
	Супероксиддисмутаза, каталаза	76
	Система глутатиона	78
5.2	Животные с экспериментальной гиперхолестеринемией до и после длительного введения симвастатина	80
5.2.1	Метаболиты гликолиза: пируват, лактат, 2,3 дифосфоглицерат	83
5.2.2	Ферменты антиоксидантной защиты	83
	Супероксиддисмутаза, каталаза	83
	Система глутатиона	85
ГЛАВА 6.	Корреляционные взаимоотношения информативных показателей углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и структурных белков мышечной ткани	90
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	95
	ВЫВОДЫ	107
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	108
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	109
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	111
	ПРИЛОЖЕНИЯ	136

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. На сегодняшний день наиболее назначаемой группой гиполипидемических препаратов являются препараты, получившие общее название «статины» или «вастатины».

Обычно препараты данной фармакологической группы хорошо переносятся, однако, при их приеме возможно развитие различных, иногда достаточно серьезных побочных эффектов (Karahalil B., Hare E., Koç G., Uslu İ. [et al.], 2017; Зыков М.В., 2019).

Наиболее опасным из них является специфическая миопатия, степень выраженности которой, может варьировать от незначительной миалгии до крайней степени миопатии - рабдомиолиза. Согласно данным исследований, на боли в мышцах жалуются около 5-10% пациентов, применяющих статины (Thompson P.D, Panza G., Zaleski A., Taylor B., 2016; Бойцов С.А., Погосова Н.В., Бубнова М.Г., Драпкина О. М. [и др.], 2018).

Данный побочный эффект отмечается как на фоне монотерапии статинами, так и при их сочетании с другими гиполипидемическими средствами (в первую очередь с фибратами). Миопатия, как побочный эффект, является наиболее распространенной причиной замены гиполипидемического препарата в пределах группы или вовсе отказа от терапии статинами (Patel J., Martin S.S., Vanach M., 2016).

Несмотря на многочисленные исследования, не существует единого мнения о механизмах, лежащих в основе формирования статиновой миопатии. Считается, что начальным звеном в патогенетической цепи является снижение активности изоформы СУР3А4 цитохрома Р-450 в печени, что приводит к накоплению препарата и развитию данного побочного действия (Долженко М.Н., Базилевич А.Я., Симагина Т.В., Конопляник Л.И., 2010; Kitzmiller J.P., Mikulik E.B., Dauki A.M., Mukherjee C. [et al.], 2016; Licata A., Giammanco A., Minissale M.G., Pagano S. [et al.], 2018).

Можно предположить, что развитие миопатии является отражением нарушения как молекулярных реакций энергообразования, так и гемодинамических процессов, что ведёт к сдвигам электролитного баланса, потере миоглобина, фосфорсодержащих продуктов, нарушению утилизации кислорода, нарушению регуляции свободно-радикальных процессов и накоплению токсических продуктов. В связи с этим, возникает вопрос о роли тканевой гипоксии, которая формирует блоки на уровне «узловых» метаболитов, что может приводить к нарушению структурно-функциональной целостности саркомера.

В литературе приводятся данные, что сократительная способность скелетных мышц напрямую зависит от полноценности саркомерных белков титина и небулина, выполняющих полифункциональную роль (Tskhovrebova L, Trinick J., 2017). Показано, что титин и небулин, регулируют актин-миозиновое взаимодействие, а, следовательно, и мышечное сокращение в целом (Wu M.C., Forbes J.G., Wang K. 2016).

Исследования, проведенные Зиновьевой О.Е., Самхаевой Н.Д., Вихлянцевым И.М. и соавт. убедительно доказывают, что при развитии миопатии (прогрессирующей мышечной дистрофии) наблюдается снижение содержания титина и небулина, в результате их повышенного протеолиза, и как следствие, происходит нарушение высокоупорядоченной структуры саркомера, ухудшение сократительной способности и эластических свойств мышечной ткани (Зиновьева О.Е., Самхаева Н.Д., Вихлянец И.М. [и др.], 2019).

Исходя из этого, представляет интерес комплексный анализ состояния молекулярной структуры титина и небулина, кислородзависимых ферментативных антиоксидантных процессов и параметров углеводно-энергетического обмена в мышцах и эритроцитах лабораторных животных, что позволит раскрыть метаболическую основу нарушений функционального состояния саркомера при длительном применении статинов.

Степень разработанности темы. Принимая решение о назначении статинов, необходимо оценивать возможный риск развития такого специфического побочного эффекта, как токсическое действие на мышцы. Исследования показывают, что миопатию и рабдомиолиз способны вызывать все известные статины, несмотря на многочисленные доказательства их эффективности и безопасности. (Collins R., Reith C., Emberson J., Armitage J. [et al.], 2016). На сегодняшний день, отсутствует диагностический тест и единая классификация симптомов поражения мышц, связанных с приемом статинов (Taylor V.A, Thompson P.D., 2018; Дядык А.И., Куглер Т.Е., Зборовский С.Р., Сулиман Ю.В., 2019).

В современной литературе приводятся весьма противоречивые сведения о частоте возникновения и степени тяжести статиновой миопатии. Поражение мышц при терапии статинами, как правило связывают с назначением высоких доз препаратов и их длительным применением. Зарубежные авторы приводят анализ исследований, которые убедительно доказывают, что применяемая при ряде патологий (например, острый коронарный синдром) высокодозовая терапия статинами повышает риск развития статин-индуцированного поражения мышц. (Afilalo J., Majdan A.A., Eisenberg M.J., 2007; Lin J., Vanathy A., Winters C., Andersen L. [et al.], 2018).

Кроме того, в большинстве случаев терапия статинами осуществляется длительно, зачастую пожизненно, что увеличивает вероятность возникновения данного побочного эффекта. Поэтому вопрос о причинах развития «мышечных симптомов» при приеме препаратов данной группы встает достаточно остро, учитывая, что по статистике они чаще возникают у физически активных людей (Meador B.M., Huey K.A., 2010; Song M., Chen F.-F., Li Y.-H., Zhang L. [et al.], 2018).

Важно отметить тот факт, что в случае отмены статина из-за развития «мышечных симптомов», при возобновлении приема того же препарата

данный побочный эффект, как правило развивается еще быстрее (Симптомы поражения мышц, обусловленные приемом статинов ..., 2015).

По данным исследований симптомы поражения мышц при применении статинов отмечают 7-29% пациентов (Stroes E.S., Thompson P.D., Corsini A. [et al.], 2015; Зыков М.В., 2019), что свидетельствует о значительной распространенности данного побочного эффекта, причины возникновения и механизмы, которого до сих пор окончательно не выяснены. Согласно статистическим данным, частота отказа от терапии статинами может достигать 75% в течение 2 лет после начала лечения, и обусловлена именно развитием симптомов поражения мышц (Zhang H., Plutzky J., Skentzos S. [et al.], 2013; Bradley C.K, Wang T.Y., Li S., Robinson J.G. [et al.], 2019).

Учитывая популярность препаратов данной фармакологической группы среди врачей и пациентов возникает вопрос о возможности предотвращения возникновения данного побочного эффекта либо возможности его коррекции, что и послужило стимулом выполнения нашего исследования.

Цель исследования - выяснить роль метаболических сдвигов в формировании статиновой миопатии, на основании комплексного исследования молекулярной структуры титина и небулина, параметров антиоксидантной защиты и углеводно-энергетического обмена в мышцах и эритроцитах животных с гиперхолестеринемией до и после длительного применения симвастатина, определить дополнительные лабораторные критерии для ее диагностики в эксперименте.

Задачи исследования:

1. Проанализировать характер изменения молекулярной структуры гигантских белков мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией до и после длительного приёма статинов.

2. Проанализировать динамику изменения конечных продуктов углеводно-энергетического обмена в скелетной мускулатуре, кислородтранспортной функции эритроцитов интактных животных и животных с гиперхолестеринемией до и после длительного приёма статинов.

3. Выявить особенности изменения активности ферментов антиоксидантной защиты в мышцах и эритроцитах интактных животных и животных с гиперхолестеринемией до и после длительного приёма статинов.

4. Провести корреляционный анализ параметров углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты, а также показателей, отражающих структурно-функциональные изменения в мышцах животных с гиперхолестеринемией на фоне длительного применения симвастатина.

Научная новизна исследования. При выполнении диссертационного исследования впервые:

1. Проведено комплексное исследование, включающее в себя анализ изменений кислородтранспортной функции крови, ферментов антиоксидантной защиты в клетках крови и скелетной мускулатуре, а также структуры сократительных белков титина и небулина, у животных с гиперхолестеринемией до и после длительного применения статинов;

2. Полученный фактический материал выявил взаимосвязь обменных процессов и изменения ультраструктуры миоцитов, что позволило детализировать представление о молекулярных механизмах статиновой миопатии в эксперименте;

3. Разработаны и внедрены способ моделирования миопатии (патент на изобретение №2632624) и способ диагностики миопатии в эксперименте (патент на изобретение №2625743);

4. Обнаружена корреляционная зависимость между отдельными показателями углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и

сократительными белками, отражающими функциональное состояние миоцита;

5. Определены дополнительные лабораторные критерии для диагностики статиновой миопатии, обеспечивающие экспрессность проводимого исследования.

Теоретическая и практическая значимость исследования.

Теоретическая значимость работы заключается в установлении взаимосвязи структурно-функциональных и метаболических процессов в мышечной ткани и эритроцитах животных на фоне применения статинов в эксперименте. Выявленное снижение титина и небулина в мышцах животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина, свидетельствует о деградации сократительных белков.

Практическая значимость исследования состоит в предложении использовать определение уровня титина в биопсийном материале, как ранний маркер нарушения структурно-функционального состояния миоцитов и развития мышечной дистрофии (патент на изобретение №2625743 от 18.07.2017г.). А выявленные дополнительные биохимические показатели могут быть использованы для совершенствования диагностики статиновой миопатии.

Методология и методы исследования. Диссертация выполнена в рамках научного направления 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», лидер научного направления - профессор, д.б.н., Микашинович З.И.

Диссертационная работа представляет собой экспериментальное исследование. Для достижения цели исследования - выяснения роли

метаболических сдвигов в формировании статиновой миопатии, применялась совокупность методов научного познания, таких как наблюдение, сравнение, моделирование, анализ. Для реализации задач диссертационного исследования, был взят препарат из группы «статины» – симвастатин (Zocor®). Исследование проводилось на беспородных крысах-самцах, которые в процессе эксперимента были поделены на группы, в соответствии дизайном, разработанным соискателем. Диссертационная работа была выполнена с использованием актуальных методов исследования: биохимических, инструментальных, электрофоретических, патоморфологических, статистических. Выбранные методологические стратегии, а также научная систематизация и интерпретация полученных результатов позволили сделать экспериментально обоснованные выводы и предложить дополнительные лабораторные критерии диагностики статиновой миопатии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Снижение уровня титина и небулина в мышечной ткани животных с экспериментальной гиперхолестеринемией на фоне длительного применения симвастатина является показателем, который достоверно отражает наличие дистрофических процессов в мышце и свидетельствует о развитии миопатии. На основании полученных результатов разработаны "Способ диагностики миопатии в эксперименте" (патент на изобретение №2625743 18.07.2017г.) и "Способ моделирования миопатии" (патент на изобретение №2632624 от 06.10.2017г.).

2. Введение симвастатина интактным животным (группа сравнения) приводило к нарушению равновесия между пируватом и лактатом, за счет выраженного увеличения концентрации лактата, как в мышцах, так и в эритроцитах, на фоне значительного увеличения концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах, по сравнению с контрольной группой.

3. Введение симвастатина животным с экспериментальной гиперхолестеринемией характеризовалось снижением уровня метаболитов гликолиза – пирувата и лактата в мышечной ткани, по сравнению с животными, которые не получали симвастатин, тогда как в эритроцитах сохранялся высокий уровень гликолиза.

4. Длительное введение симвастатина животным с экспериментальной гиперхолестеринемией сопровождалось достоверным уменьшением активности СОД, ГПО и концентрации GSH в мышцах, а также активности СОД и концентрации GSH в эритроцитах, по сравнению с животными, которые не получали симвастатин, что свидетельствует о депрессии механизмов АОЗ.

5. На основании корреляционного анализа структурных белков мышечной ткани, ферментов антиоксидантной защиты, метаболитов гликолиза установлена достоверная взаимосвязь между активностью ГР, СОД, концентрацией лактата и содержанием титина в биоптатах мышечной ткани, что является доказательством важной патогенетической роли изменений АОЗ и гликолитических процессов в формировании статиновой миопатии.

Степень достоверности и апробации работы. Достаточный объем выборки в эксперименте, применение современного оборудования и реактивов, актуальных лабораторных и инструментальных методов исследования, применение адекватных методов статистики, а также использование различных методологических подходов, соответствующих поставленным задачам диссертационного исследования, обеспечили достаточно высокую достоверность полученных данных. Сформулированные в диссертационной работе выводы обоснованы проведенными экспериментальными исследованиями.

Для статистической обработки полученного материала использовали программы STATISTICA 10.0 и Exsel Microsoft.

Для определения метода проведения сравнительного анализа на первом этапе статистической обработки данных каждая выборка подвергалась проверке на нормальность.

Так как объемы исследуемых выборок были менее 50, то для проверки на нормальность использовали критерий Шапиро-Уилка. В случае, когда коэффициент значимости критерия Шапиро-Уилка был равен $p \geq 0,05$, принимали нулевую гипотезу, которая обозначала, что выборка подчиняется нормальному закону распределения (НЗР) и для сравнения использовался параметрический t-критерий Стьюдента для независимых выборок. В противном случае считалось, что выборка не подчиняется НЗР и для расчёта применялся критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

На втором этапе определяли наличие/отсутствие связей между показателями углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и структурными белками мышечной ткани у животных на фоне длительного применения симвастатина.

Метод проведения корреляционного анализа также зависел от подчинения выборок нормальному закону распределения. Так, в случаях, когда выборки подчинялись НЗР для корреляции использовали параметрический критерий Пирсона, в противном случае, когда выборка не подчинялась НЗР, для расчёта корреляции использовали критерий Спирмена.

Материалы и основные положения диссертации изложены и обсуждены: на XV Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении - дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов-на-Дону, 2016); на Международном симпозиуме «Биологическая подвижность» (Пушино, 2016); на 3 Итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2016); 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 XVIII Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении - дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов-на-Дону, 2019).

Апробация диссертации состоялась на заседании научно-координационного совета «Медико-биологические проблемы» ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» МЗ РФ (протокол №7 от 14.06.2019г.).

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационного исследования были внедрены в учебный процесс кафедры общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Кроме того, основные результаты диссертационной работы могут быть применены при разработке практических рекомендаций по клинической биохимии, клинической фармакологии, кардиологии, эндокринологии.

Публикации. По теме диссертации в печатных изданиях опубликовано 20 научных работ, 5 из них в журналах, 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. Соискатель принимал непосредственное участие на всех этапах подготовки и выполнения диссертационной работы. Личный вклад автора состоит в постановке целей и задач, разработке дизайна исследования (85%), анализе отечественной и зарубежной литературы (95%), выборке животных, получении и исследовании биологического материала животных, статистической обработке, анализе, обобщении полученных результатов и формулировке выводов (85%). При непосредственном участии соискателя написаны статьи и тезисы докладов (80%), разработаны (75%) способ моделирования миопатии (патент на изобретение №2632624) и способ диагностики миопатии в эксперименте (патент на изобретение №2625743), подготовлен текст и иллюстративные материалы диссертации (90%).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа представлена введением и шестью главами: обзор литературы, подробное описание материалов и методов исследования, блока с результатами собственных исследований и их обсуждение. Завершается работа заключением и выводами, которые сформулированы, на основании полученных результатов. Также в работе представлены: детальный список сокращений и условных обозначений, список литературы, иллюстративного материала и приложений. Диссертационная работа представлена 138 страницами машинописного текста, проиллюстрирована 15 таблицами и 26 рисунками. В тексте диссертации приводятся ссылки на 210 литературных источников (105 отечественных и 105 зарубежных авторов).

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Дислипидемии как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний

Несмотря на несомненные достижения последних десятилетий в области кардиологии, в большинстве экономически развитых стран неуклонно растет количество заболеваний сердечно-сосудистой системы. Причем тенденция роста отмечается как у людей старшего и среднего возраста, так и у совсем молодых (Солошенкова О. О., Чукаева И. И., Орлова Н. В., 2009; Gonzalez J., Donoso W., Díaz N., [et al.], 2014).

Сегодня достоверно известно, что дислипидемии являются одним из ключевых факторов развития атеросклероза, который в сочетании с другими провоцирующими факторами существенно увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний, приводящих к летальному исходу (Банзаракшеев В.Г., Седунова Е.Г., 2016; Mushenkova N.V., Summerhill V.I., Silaeva Y.Y., [et al.], 2019).

Дислипидемия – это нарушение липидного обмена, которое характеризуется изменением соотношения в плазме крови одной или нескольких фракций липопротеидов, при этом общее их содержание может быть нормальным либо повышенным (Elshourbagy N.A., Meyers H.V., Abdel-Meguid S.S., 2014).

Липопротеиды представляют собой сферические частицы, состоящие из гидрофобной сердцевины, в состав которой входят триглицериды и эфиры холестерина, и амфифильной оболочки, состоящей из фосфолипидов, гликолипидов и белков (апопротеины). Холестерол в частице находится между оболочкой и сердцевиной, занимая промежуточное положение (Северин Е.С., 2009г.) (рисунок 1).

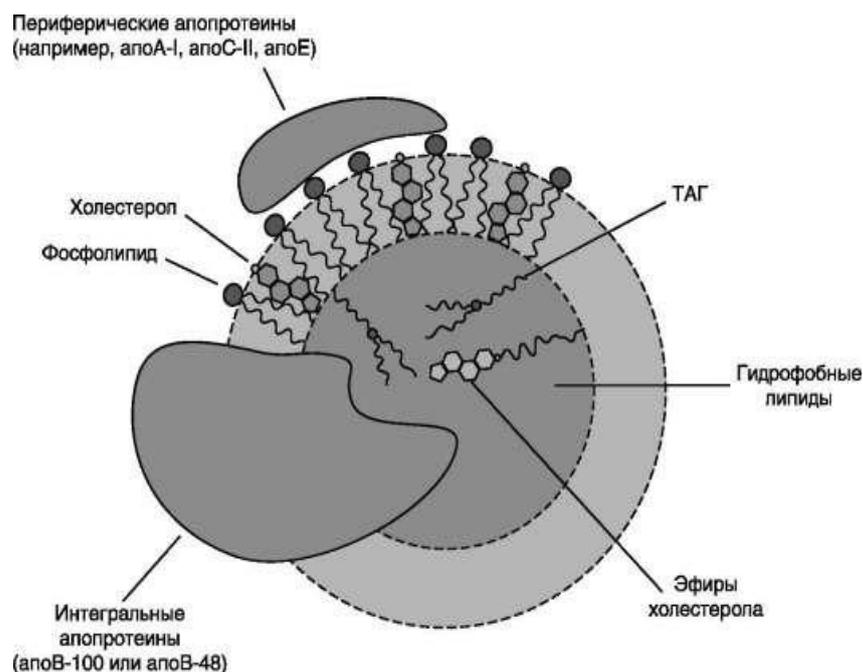


Рисунок 1 – Строение липопротеида плазмы крови (Северин Е.С., 2009г.)

Основная функция липопротеидов – это транспорт липидов к внутренним органам и системам организма. К липидам плазмы крови относятся: холестерин (ХС), триглицериды (ТГ), фосфолипиды, жирные кислоты (Musunuru K., 2010).

Ранее считалось, что единственным липидом, который не метаболизируется в артериальной стенке и оказывает на нее повреждающее действие является холестерин (Бубнова М.Г., 2009). В настоящее время доказано, что основным механизмом повреждения артериальной стенки является нарушение обмена ЛПНП: накопление окисленных липопротеидов (Бойцов С.А., Погосова Н.В., Бубнова М.Г., Драпкина О.М. [и др.], 2018; Nakajima K., Tanaka A., 2018)

Известен тот факт, что холестерин может быть свободным и этерифицированным. Свободный холестерин принимает участие в синтезе стероидных гормонов, образовании жирных кислот, входит в состав нервной ткани и клеточных мембран. Этерифицированный холестерин является результатом соединения с жирными кислотами, обнаруживается

преимущественно в коре надпочечников, плазме крови, атеросклеротических бляшках.

Триглицериды представляют собой эфиры жирных кислот, глицерина, входят в состав липопротеидов, в основном хиломикрон и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) (Житникова Л. М., 2011).

Липопротеиды плазмы крови, исходя из их физических свойств, можно разделить на следующие фракции:

- ✓ хиломикроны;
- ✓ липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП);
- ✓ липопротеиды промежуточной плотности (ЛППП);
- ✓ липопротеиды низкой плотности (ЛПНП);
- ✓ липопротеиды высокой плотности (ЛПВП).

Согласно современным представлениям, атерогенными являются липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП), в то время как липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) являются антиатерогенными (Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф. [и др.], 2012).

ЛПНП, являются конечными продуктами расщепления ЛПОНП и ЛППП, и содержат около 70% всего холестерина плазмы крови (Солошенкова О.О., Чукаева И.И., Орлова Н.В., 2009; Musunuru K., 2010).

Поверхность клеток кровеносных сосудов снабжена специфическими рецепторами для захвата из крови, в виде эфиров холестерина, липопротеидов низкой плотности. При взаимодействии с этими рецепторами ЛПНП поступают в лизосомы клетки, где происходит гидролиз эфиров холестерина с образованием свободного холестерина. Чтобы защититься от его избытка, клетка прекращает синтезировать рецепторы для захвата липопротеидов низкой плотности, уменьшает синтез эндогенного холестерина, при этом часть холестерина выводится наружу. В крови холестерин захватывается липопротеидами высокой плотности, которые

обладают способностью забирать свободный холестерин с поверхности артериальной стенки, и доставляется в печень, где происходит его окисление до желчных кислот и выведение из организма (Кухарчук В.В., 2009; Nakajima K., Tanaka A., 2018).

Солошенкова О.О. и соавторы приводят данные Всероссийского научного общества кардиологов, согласно которым, была установлена обратно пропорциональная зависимость между уровнем липопротеидов высокой плотности в плазме крови и вероятностью развития атеросклероза: вероятность развития атеросклероза тем выше, чем ниже содержание ХС ЛПВП (Солошенкова О.О., Чукаева И.И., Орлова Н.В., 2009).

Также благодаря многочисленным исследованиям была установлена следующая зависимость: «снижение ХС ЛПНП на 1%, снижает риск развития ишемической болезни сердца на 1%, а повышение ХС ЛПВП на 1% снижает риск развития ИБС на 3%» (Житникова Л.М., 2011).

Вместе с тем, согласно данным литературы, сами модифицированные (окисленные) липопротеиды низкой плотности обладают цитотоксическим действием и оказывают стимулирующий эффект на адгезию лейкоцитов и эндотелиоцитов (Мишланов В.Ю., Туев А.В., Черешнев В. А., 2018).

Поскольку они являются антигенами, повреждение эндотелиоцитов происходит также в результате повышенной концентрации в крови аутоиммунных комплексов, содержащих в качестве антигена атерогенные липопротеиды (Bäck M., Yurdagul Jr. A., Tabas I., Öörni K. [et al.], 2019) В результате нарушается проницаемость микрососудов, формируются лейкоцитарно-тромбоцитарные агрегаты, происходит адгезия лейкоцитов к их стенке. Последнее может сопровождаться выделением медиаторов, ростовых факторов, цитокинов и свободных радикалов, что также усиливает повреждение эндотелиоцитов (Wymann M.P., Schneiter R., 2008). Установлено, что дисфункция эндотелия сопровождается стойким

нарушением эндотелий зависимого расслабления микрососудов (Крыжановский Г.Н. [и др.], 2002).

Исследования последних лет показали, что нарушение соотношения в плазме крови одного или нескольких классов липопротеидов может быть обусловлен как наследственными нарушениями обмена веществ, так и чрезмерным поступлением жиров с пищей.

«Атерогенный потенциал крови («атеросклеротический индекс») определяется, с одной стороны, соотношением фракций липопротеидов (ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП) а, с другой — степенью окислительной модификации атерогенных липопротеидов» (там же).

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), в качестве международной приняла классификацию дислипидемий по Фредриксону, согласно которой выделяют пять типов дислипидемий, в зависимости от повышения фракций холестерина и/или триглицеридов: I, IIa, IIб, III, IV, V (Frederickson D. S., Lee R. S., 1965) (таблица 1).

Таблица 1 – Система фенотипирования гиперлипидемии (по Д. Фредриксону).

фенотипы	Липопротеиды, содержание которых увеличено	Уровень ХС	Уровень триглицеридов	Атерогенность
I	хиломикроны	в норме или ↑	↑↑↑↑	не установлено
IIa	ЛПНП	↑↑	в норме	+++
IIб	ЛПНП, ЛПОНП	↑↑	↑↑	+++
III	ЛППП	↑↑	↑↑↑	+++
IV	ЛПОНП	в норме или ↑	↑↑	+
V	ЛПОНП и хиломикроны	↑↑	↑↑↑↑	+

Дислипидемии IIa, IIb и III типа – это наиболее опасные в плане развития сердечно-сосудистых заболеваний, атерогенные дислипидемии.

Кухарчук В.В., Титов В.Н. в своей работе «Руководство по кардиологии» приводят данные, согласно которым, прием ряда лекарственных препаратов, например, иммунодепрессантов, комбинированных оральных контрацептивов, тиазидных диуретиков, глюкокортикоидов, неселективных β -адреноблокаторов и других, может спровоцировать либо усугубить нарушения липидного обмена (Кухарчук В.В., Титов В.Н., 2014).

Банзаракшеев В.Г. приводит результаты моделирования атерогенной дислипидемии у крыс в течение 12 недель. Им было установлено, что экспериментальное нарушение обмена веществ у животных сопровождается выраженными изменениями показателей липидного обмена. Так в липидограмме животных опытной группы наблюдалось увеличение содержания триглицеридов на 24%, уровня общего холестерина на 19% соответственно. При этом необходимо отметить, что содержание холестерина липопротеинов низкой плотности, являющегося атерогенным, повышалось на 39%, а содержание антиатерогенного холестерин липопротеинов высокой плотности снижалось до 21% (Банзаракшеев В.Г., 2016).

По мнению этого автора, нарушение процессов абсорбции и транспорта экзогенных липидов являются основной причиной липидного дисбаланса, который наблюдался у животных опытной группы. Важно подчеркнуть, что нарушение липидного обмена отражается на функционировании эндотелия, что манифестируется повышением уровня десквамированных эндотелиоцитов, увеличении концентрации противовоспалительных цитокинов (концентрация интерлейкин-1 бета, интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли-альфа возрастала на 21%, 18% и 16 % соответственно по отношению к аналогичным данным у животных интактной группы) и

повышении содержания белков острой фазы воспаления (в опытной группе увеличение высокочувствительного С-реактивного белка – в 2,2 раза, фибриногена – на 17%) (там же).

Меньщикова Е.Б. и др. приводит данные, согласно которым атеросклероз можно рассматривать, как «свободнорадикальную патологию». Автор высказывает мнение, что нарушение обмена липидов провоцирует процесс перекисного окисления липидов, сопровождающийся гиперпродукцией свободных радикалов на фоне снижения работы ферментативной или неферментативной антиоксидантной защиты, что является фактором риска развития атеросклероза (Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. [и др.], 2008).

1.2 Метаболические сдвиги при экспериментальной дислипидемии

Исследованиями Кравченко Л.В. и соавторов, было доказано, что «у животных с ожирением или длительно получавших высокожировой рацион резко усиливаются признаки окислительного стресса: значительно возрастает содержание малонового диальдегида (МДА) и продуктов окисления белка в плазме крови и внутренних органах, снижается активность ферментов антиоксидантной защиты, в результате усиления образования активных форм кислорода (АФК) в процессе митохондриального и пероксисомального окисления жирных кислот, активации NADPH-оксидазы и усиления перекисного окисления липидов (ПОЛ) за счет увеличения биодоступности полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК)», (Кравченко Л.В., Аксенов И.В., Трусов Н.В. [и др.], 2012).

В литературе приводятся данные, что продолжительная дислипидемия приводит к нарушению процессов детоксикации и образованию активных форм кислорода и эндогенных прооксидантов, так как вызывает сбой в работе системы антиоксидантной защиты (Коновалова Г.Г., Лисина М.О., Тихазе А.К. [и др.], 2003; Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. [и др.], 2008).

В результате экспериментов, проведенных В.Г. Банзаракшеевым, Е.Г. Седуновой установлено, что «атерогенная дислипидемия усиливает окислительную деградацию липидов, увеличивает содержание в крови модифицированных ЛПНП, концентрацию МДА, диеновых конъюгатов и снижает активность каталазы». (Банзаракшеев В.Г., Седунова Е.Г., 2016).

Проведенные исследования показали, что «индуцированная дислипидемия, вызванная атерогенной диетой приводила к повышенному образованию первичных и вторичных продуктов перекисидации, вследствие значительного усиления перекисного окисления липидов, на фоне резкого дисбаланса липидного обмена».

Авторы приводят данные эксперимента, указывающие «на активацию процессов свободно-радикального окисления липидов, вызванную дислипидемией: увеличение в сыворотке крови опытной группы крыс малонового диальдегида и диеновых конъюгатов на 57%, практически в 2 раза» (Там же).

Анализ показателей системы антиоксидантной защиты (АОЗ) во время того же эксперимента показал, что индуцированная дислипидемия характеризуется резким дисбалансом ПОЛ-АОЗ, а именно между скоростью перекисления и компенсаторным истощением резервов системы антиоксидантной защиты, на что указывает снижение активности каталазы на 46% в опытной группе относительно интактных животных.

Дисбаланс в работе системы антиоксидантной защиты, сопровождающийся усилением генерации активных форм кислорода, является повреждающим атерогенным фактором. Образующиеся продукты перекисного окисления липидов оказывают патогенетическое действие, повреждая структурные компоненты мембран клеток (липиды, белки, углеводы), нарушают процессы энергетического обмена, прежде всего, в тканях, характеризующихся высокими энергозатратами (сердечной, печеночной, мышечной) (там же).

Результаты экспериментов, проведенных Новгородцевой Т.П. и соавторами, доказывают, «что у крыс, находящихся 180 суток на атерогенном рационе формируется алиментарная дислипидемия и окислительный стресс. Так у животных опытной группы, относительно крыс интактной группы, было выявлено превышение уровня малонового диальдегида в эритроцитах на 27%, а ткани печени в 4 раза, гидроперекисей липидов в плазме крови на 44%. Эти патологические изменения приводят к мембранодеструкции» (Новгородцева Т.П., Караман Ю.К., Бивалькевич Н.В., Жукова Н.В., 2010).

Шойбонов Б.Б. и соавторы высказывают мнение, что «патофизиологическое значение дислипидемии заключено в окислительной модификации атерогенных липопротеинов и их воздействии на эндотелий в синергизме с другими вазотоксическими компонентами, вносящими свой вклад в процесс повреждения эндотелия и в эволюцию атеросклероза» (Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф. [и др.], 2012).

1.3 Применение статинов в клинической практике

Лекарственные средства, оказывающие гиполипидемическое действие исходя из химического строения классифицируются на:

1. фибраты;
2. анионообменные смолы;
3. статины;
4. препараты, относящиеся к разным химическим группам (Житникова Л.М., 2011).

На сегодняшний день во всем мире статины являются препаратами выбора при лечении атеросклероза и дислипидемий. Это лекарственные препараты с обширной доказательной базой, полученной на основании крупных клинических исследований (Алексанян Л.А., Силина Е.Г., 2011; Мишланов В.Ю., Туев А.В., Черешнев В. А., 2018).

Однако, несмотря на то, что статины используются в качестве гиполипидемических препаратов уже более пятидесяти лет, количество различных исследований данной группы лекарственных препаратов не уменьшается (Князькова И.И., Бабак М.О., 2006; Goldberg I.J., Sharma G., Fisher E.A., 2020).

На сегодняшний день общепринятой классификации этой группы лекарственных средств не существует, как правило, статины указывают в хронологическом порядке, согласно их появлению:

1. препараты первого поколения (ловастатин, симвастатин, правастатин);
2. препараты второго поколения (флувастатин);
3. препараты третьего поколения (аторвастатин);
4. препараты четвертого поколения (розувастатин, питавастатин).

Также статины можно классифицировать по способу получения, по их метаболизму системой цитохрома Р-450, по гиполипидемическому действию и т.д. (Житникова Л. М., 2011). Широко известен тот факт, что эволюция статинов осуществлялась по пути усиления гидрофильности основного действующего вещества. Липофильные статины (например, симвастатин, ловастатин) хорошо проникают через клеточные мембраны путем пассивной диффузии как в гепатоциты, так и в клетки других органов и тканей (Pfefferkorn J., Song Y., Sun K-L. [et al.], 2007; Семенова А.Е., Сергиенко И.В., 2013).

Гидрофильные статины (например, розувастатин) более гепатоселективны, проникают через мембрану гепатоцитов в основном путем активного транспорта (Рудакова А.В., 2004; Kostapanos M.S., Milionis H.J., Elisaf M.S., 2010). Исходя из этого, вероятность развития побочных эффектов при приеме гидрофильных статинов ниже. Кроме того, в отличие от липофильных статинов, гидрофильные подвергаются в организме ограниченному метаболизму и выводятся из организма практически в неизменном виде. (White C.M., 2002; Schachter M., 2005; Kostapanos M.S., Milionis H.J., Elisaf M.S., 2010).

Статины относятся к конкурентным ингибиторам 3-гидрокси-3-метилглутарил кофермент А редуктазы (ГМГ-КоА), являющегося одним из ключевых ферментов, регулирующих биосинтез холестерина на этапе превращения 3-гидрокси-3-метилглутарил кофермент А (ГМГ-КоА) в мевалоновую кислоту (Грацианский Н.А., 2001; Yoshida M., 2003; Галявич А.С., Салахова Л.Р. 2006) (рисунок 2).

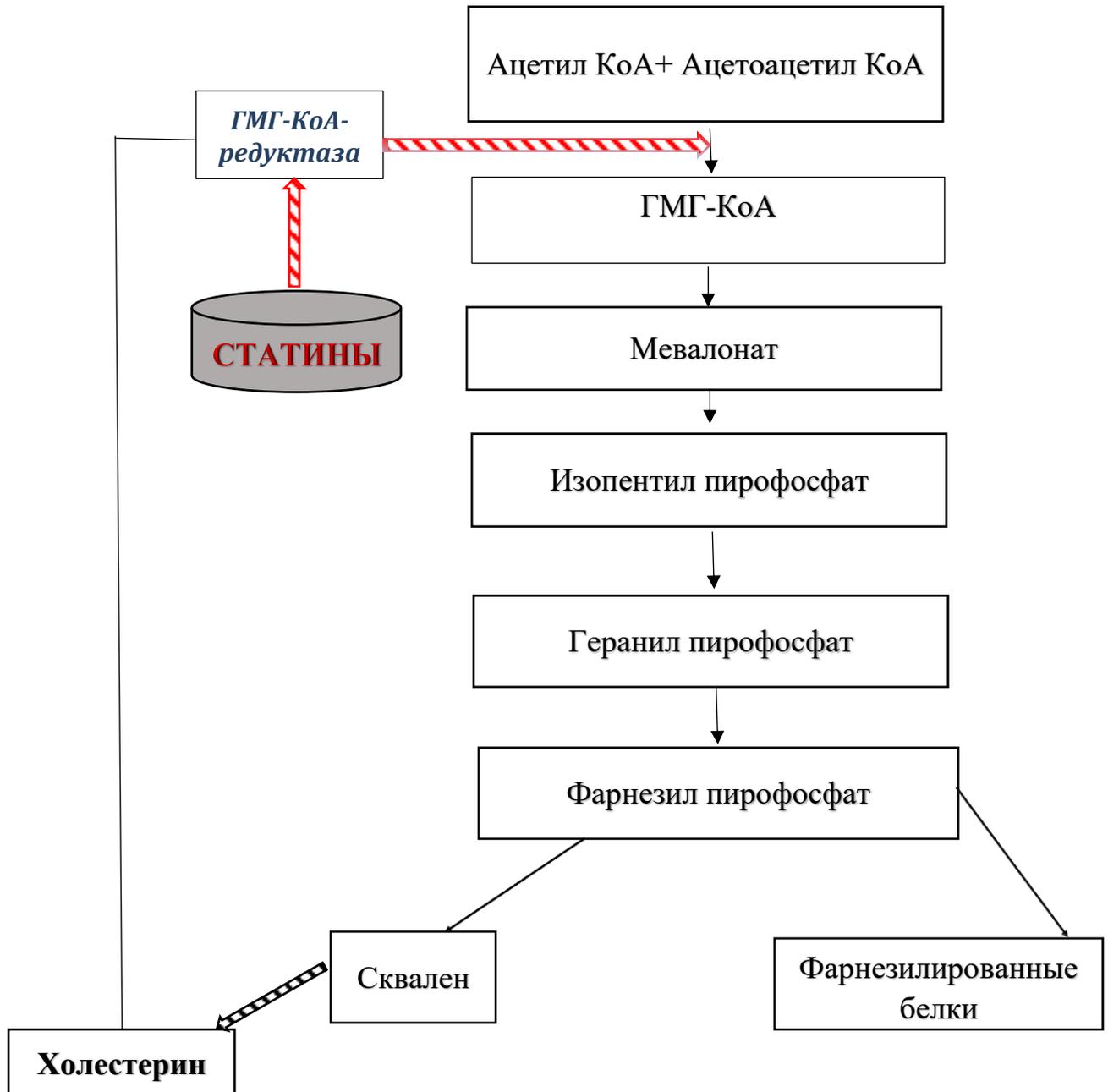


Рисунок 2 – Точка приложения действия статинов
(Грацианский Н.А., 2005г. с дополнениями)

Согласно данным литературы, статины тормозят активность этого фермента, уменьшая образование и содержание холестерина в гепатоцитах. Стимулируя тем самым захват холестерина из крови, что достигается увеличением количества высокоспецифичных рецепторов ЛПНП на мембранах гепатоцитов. Конкуренция статинов и субстратов за связывание с активным центром ГМГ-КоА-редуктазы выражается более прочным связыванием статинов (согласно данным литературы, более чем в 1000 раз связь статинов с регуляторным ферментом синтеза холестерина превышает связь ГМГ-КоА-редуктазы с субстратом), что на ранних стадиях процесса предотвращает синтез холестерина (White С. М., 2000; Ройтберг Г.Е. [и др.], 2007).

Таким образом, статины оказывают гипохолестеринемическое действие, как за счет усиления элиминации ХС ЛПНП, так и за счет уменьшения синтеза ЛПОНП и ЛПНП, богатых холестерином (Зиганшина Л.Е., 2003).

Основываясь на клинических наблюдениях, М.Г. Бубнова высказывает мнение, что статины наносят буквально «точечный» и эффективный удар по основным патогенетическим механизмам атерогенеза (Бубнова М. Г., 2009).

В современной литературе для статинов, помимо основного гипохолестеринового эффекта, описаны также положительные нелипидные – плейотропные эффекты (Mc Farline S.I., Miniyappa R., Erancisco R., 2002; Родненкова О.С., 2006; Напалков Д.А., Жиленко В.В., 2009).

Однако, в литературе имеются данные, что наряду с ингибированием 3-гидрокси-3-метилглутарил кофермент А редуктазы (ГМГ-КоА), статины могут блокировать также синтез селенпротеидов и коэнзима Q10, который является природным антиоксидантом, что не может не отражаться на работе системы антиоксидантной защиты (Marcetou M. E., Zacharis E. A., Nokitovich D. [et al.], 2006; Ланкин В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

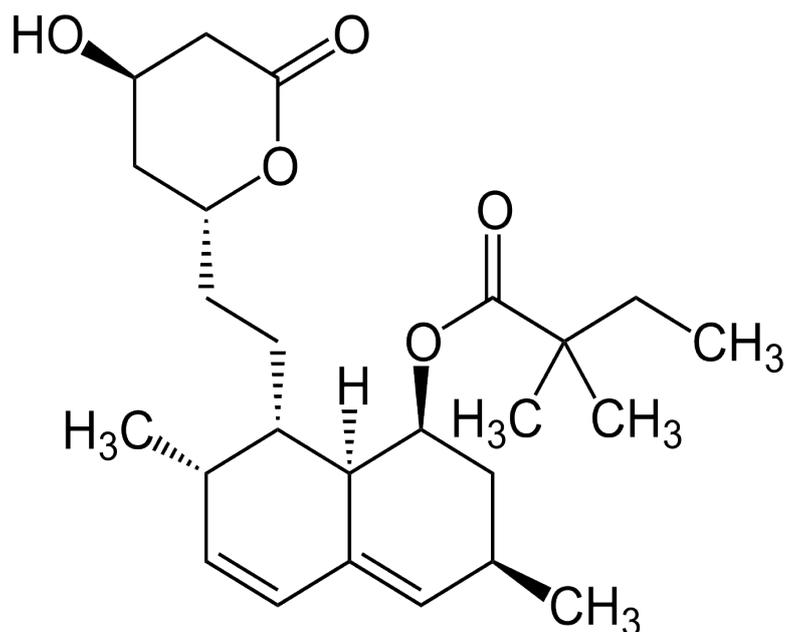
Л.М. Житникова и ряд зарубежных авторов в своих работах отмечают «дозозависимый» эффект статинов, то есть при увеличении дозы статина в два раза, уровень холестерина ЛПНП снижается на 6% - «правило шести процентов». Кроме того, как правило, статины снижают уровень триглицеридов на 10–15%, а согласно данным контролируемых клинических исследований, применение симвастатина приводит к увеличению уровня ХС ЛПВП на 5-15% (Scandinavian Simvastatin Survival Study Group..., 1994; MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536..., 2002; Grundy S.M., Cleeman J.I., Merz C.N. [et al.], 2004; Житникова Л.М., 2011).

Известно, что для достижения положительного терапевтического эффекта пациенты должны принимать статины, зачастую пожизненно. Поэтому практически все исследования были проведены в условиях длительного приема статинов (Pedersen T.R., Faergeman O., Kastelein J.J. [et al.], 2005).

Несмотря на появление на фармацевтическом рынке статинов последнего поколения, одним их самых назначаемых в России лекарственным препаратом данной группы, по-прежнему является симвастатин (Simvastatin) (Цветкова О.А., Агапова О.Л., 2010) (рисунок 3).

Он имеет хороший профиль эффективности, безопасности и переносимости, что доказано обширными многоцентровыми клиническими исследованиями в соответствии с современными стандартами (Landray M., Baigent C., Leaper C. [et al.], 2006).

Симвастатин - один из первых статинов, для которого были получены доказательства его влияния на «выживаемость» пациентов с серьезными сердечно-сосудистыми патологиями. Важно отметить, все крупные клинические исследования проводились с препаратом под торговым названием Zocor® (оригинальный симвастатин) (Сусеков А.В. [и др.], 2001, 2005; Mihaylova B., Briggs A., Armitage J. [et al.], 2006; Fattah T.A., Saeed A., Shehzadi S.A., 2019).



1,2,3,7,8,8 α -Гексагидро-3,7-диметил-8- [2- (тетрагидро-4-гидрокси-6-оксо-2Н-пиран- 2-ил) этил]-1-нафталенил-2,2-диметилбутаноат

Рисунок 3 – Структурная формула симвастатина (Simvastatinum)

(М. Д. Машковский, 2017г.)

Клинико-экономические преимущества симвастатина, а также обширная доказательная база, стали основанием для включения его в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения, в том числе и на 2020 год.

В литературе приводятся данные различных неблагоприятных воздействий статинов на организм, хотя необходимо отметить, что они носят отрывочный и не систематизированный характер.

Согласно инструкциям по применению различных статинов, прием лекарственных препаратов данной группы зачастую сопровождается целым рядом побочных эффектов - от незначительных, таких как желудочно-кишечные расстройства, выпадение волос, бессонница и т.д., до весьма серьезных, связанных их действием на печень и скелетную мускулатуру (Карпов Ю.А Сорокин Ю.В., 2003; Карпов Ю.А., 2012).

Следует отметить, что зарубежными исследователями были получены данные, согласно которым от 7 до 29% больных, которые предъявляли жалобы на развитие симптомов поражения мышц, получали терапию статинами. (Stroes E.S., Thompson P.D., Corsini A. [et al.], 2015; Зыков М.В., 2019). Чаще всего клиническая манифестация статиновой миопатии сопровождается нормальной или слегка повышенной концентрацией креатинфосфокиназы (КФК) в крови (Hamilton-Craig I., 2001; Bruckert E., Nayem G., Dejager S. [et al.], 2005; El-Salem K., Ababeneh B., Rudnicki S. [et al.], 2011).

Симптомы поражения мышц – одна из основных причин прекращения приема статинов. Так, по данным ряда авторов, 75% пациентов, принимающих статины, в течение 2 лет после начала терапии прекращают прием препарата вследствие развития миопатии (Ушкалова Е.А., 2002; Stroes E.S., Thompson P.D., Corsini A. [et al.], 2015).

Карпов Ю.А. в своих работах приводит данные, что при терапии статинами примерно в 1% случаев фиксируется повышение активности печеночных трансаминаз более чем в 3 раза, в зависимости от дозы лекарственного препарата.

Но следует отметить, что этот показатель возвращается к норме через 2-3 месяца после отмены терапии (Карпов Ю.А., 2005). Важно подчеркнуть, что «изолированное повышение уровня трансаминаз без повышения концентрации общего билирубина не является проявлением так называемого поражения печени». (Omar M.A., Wilson J.P., 2002). Согласно статистическим данным, эти осложнения чаще всего возникают при применении повышенных доз препаратов данной группы (Сусеков А.В., 2005).

В ходе исследования «A to Z» было установлено (De Lemos J.A., Blazing M.A., Wiviott S.D. [et al.], 2004), что риск развития миопатии существенно увеличивался при применении симвастатина в дозировке 80 мг в сутки. Однако, важно отметить, что высокодозовая терапия показана при ряде

патологий, например, таких как острый коронарный синдром (Afilalo J., Majdan A.A., Eisenberg M.J., 2007; Lin J., Banathy A., Winters C., Andersen L. [et al.], 2018).

В эксперименте, проведенном Лакомкиным В.Л. и соавторов было установлено, что длительное введение крысам ингибиторов 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А редуктазы сопровождалось увеличением относительного веса сердца, «снижением сократительной функции миокарда, усугубляющегося в условиях окислительного стресса» (Лакомкин В.Л., Капелько В.И., Ланкин В.З., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

В работе В.З. Ланкина и соавторов приводятся результаты исследования, которое подтверждает прооксидантное действие статинов (на примере симвастатина, ловастатина): «накопление окси-ЛПНП в плазме крови, снижение активности эритроцитарной глутатионпероксидазы у больных ИБС». Кроме того, приводятся доказательства того, что «одним из факторов повреждения гепатоцитов при терапии статинами является резкое увеличение окисляемости биомембран печени» (Ланкин В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

В связи с вышеизложенным, необходимо не только контролировать уровень холестерина, но и знать особенности и причины нарушения обменных процессов, которые сопровождают длительную терапию статинами, в частности симвастатином.

1.4 Структурно-функциональные изменения в мышечной ткани при миопатиях лекарственного генеза

Мышечные ткани – это ткани, различные по строению и происхождению, состоящие из мышечных волокон, обладающие способностью к выраженным сокращениям (Долгов М.А., Косарев А.В., 2005).

До открытия структурных белков саркомера - титина и небулина, мышечное сокращение рассматривалось как взаимодействие в саркомере двух типов нитей: актиновых и миозиновых (Labeit S., Kolmerer B., 1995; Малышев С.Л. Фрейдина Н.А., Вихлянцев И.М., 2010; Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., 2006, 2012).

Зиновьева О.Е., Самхаева Н.Д., Вихлянцев И.М. и др., а также зарубежные авторы приводят данные, которые доказывают, что взаимодействие сократительных белков: актина и миозина, а значит и сократительная способность мышц в целом, в значительной степени регулируется гигантскими белками саркомера поперечно-полосатых мышц титином и небулином (Wu M.C., Forbes J.G., Wang K., 2016; Tskhovrebova L., Trinick J., 2017; Зиновьева О.Е., Самхаева Н.Д., Вихлянцев И.М. [и др.], 2019).

Титин – это гигантский эластичный белок, третий по количеству после актина и миозина. Каждая половина саркомера содежит по шесть молекул титина, которые расположены от М-линии до Z-диска (рисунок 4). Некоторые участки титина могут взаимодействовать с тонкими нитями в I-диске саркомера, однако значительная часть его молекулы соединяет концы миозиновых нитей с Z-мембраной, проходя в этой зоне свободно. (Maruyama K., Kimura S., Yoshidomi H., 1984; Liversage A.D., Holmes D., Knight P.J. [et al.], 2001).

В настоящее время известно, титин необходим для сборки нитей миозина, формирования высокоупорядоченной структуры саркомера, регуляции взаимодействия между актином и миозином, процессов передачи информации внутри клетки, а также белкового обмена в саркомере (Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., Козловская И.Б., 2004).

Важно отметить что, результаты современных исследований позволяют предположить существенный вклад титина в пассивное напряжение, развиваемое мышцей при растяжении, и обеспечивает возвратную силу при

сокращения саркомера (Horowitz R., 1992; Soteriou A., Gamage M., Trinick J., 1993; Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., 2012; Gerull B., 2015).

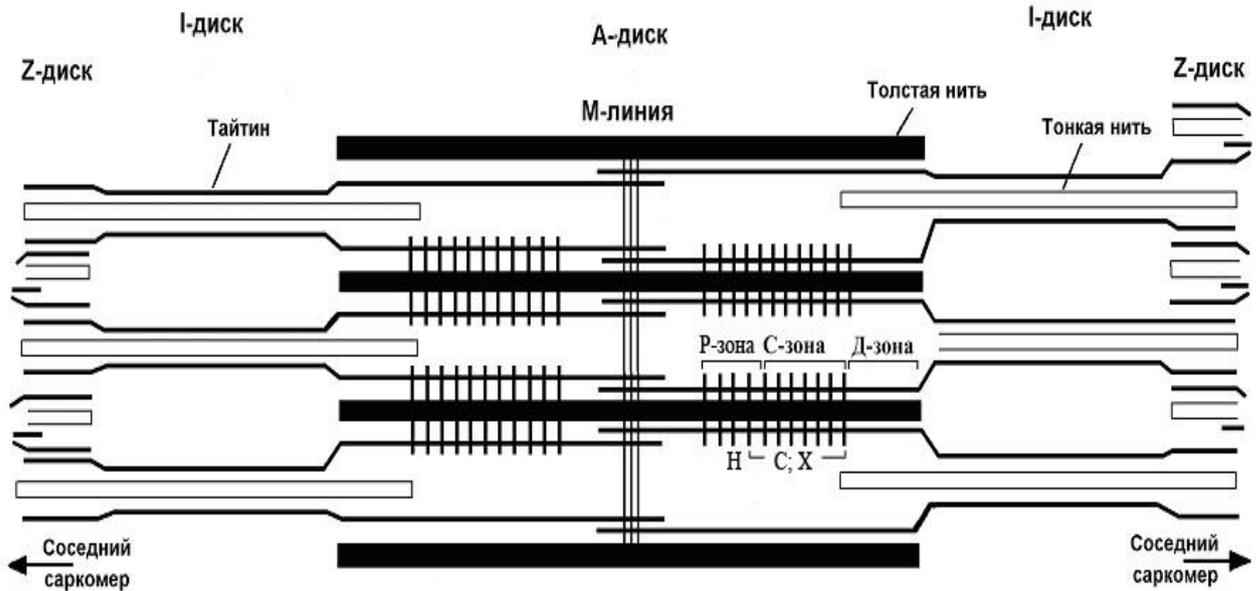


Рисунок 4 – Строение саркомера поперечно-полосатых мышц
(Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., 2012 г.)

Небулин - длинный нерастяжимый белок, связанный с Z-дисксом и идущий параллельно актиновым филаментам. Он принимает участие в регуляции актин-миозинового взаимодействия и стабилизирует актиновые нити (Krüger M., Wright J., Wang K., 1991; Goll D.E., Neti G., Mares S.W. [et al.], 2008).

Известно, что патогенез ряда мышечных заболеваний, в том числе и миопатий, сопровождается изменением сократительных свойств поперечно-полосатых мышц (Рожков Д.О., Зиновьева О.Е., Баринев А.Н. [и др.], 2018). При этом, на электрофореграмме отмечается снижение содержания титина (в первую очередь его NT-изоформ) и небулина, что обусловлено преобладанием процессов протеолиза этих белков над их синтезом. Это приводит к нарушению упорядоченной структуры мышечного волокна и, как следствие, снижению его сократительной способности.

В своих работах Зиновьева О.Е. и соавторы высказывают предположение, что повышенная протеолитическая деградация титина и небулина, вероятно, является следствием изменения уровня фосфорилирования этих белков и увеличения их чувствительности к протеолизу (Зиновьева О.Е., Самхаева Н.Д., Вихлянцев И.М. [и др.], 2019).

В исследованиях, проведенных на животных группой авторов Салмовым Н.Н., Грицыной Ю.В., Улановой А.Д., И.М. и др. были получены похожие результаты: увеличение уровня фосфорилирования титина, что снижает устойчивость этого белка к протеолизу и способствует развитию мышечной атрофии (Салмов Н.Н. [и др.], 2015). Исходя из вышесказанного, можно высказать предположение, что изменение содержания титина и небулина в мышечной ткани может служить маркером миопатии (в том числе и статиновой).

Миопатии – это большая группа заболеваний, которые характеризуются одним общим признаком - прогрессирующей слабостью в мышцах. (Орлова М.А., Троицкая Л.А., 2013). При этом мышцы постепенно теряют свои функции, что в некоторых случаях сопровождается их гипотрофией и замещением жировой или соединительной тканью.

До сих пор не существует единой классификации миопатий. Но, исходя из поставленной нами задачи, особый интерес вызывает изучение лекарственных миопатий.

Токсические миопатии, в том числе лекарственные миопатии - заболевания мышц, вызванные воздействием на организм различных токсических (лекарственных средств) веществ (Чекман И.С., 1991). При этом степень поражения мышц зависит от природы токсина и его дозы. На сегодняшний день все большее значение приобретают статиновые миопатии, ввиду их активного назначения данной группы лекарственных препаратов врачами.

Статиновая миопатия может проявляться от легкой формы – миалгии до очень тяжелой - рабдомиолиза (некроз мышц) (Arora R., Liebo M., Maldonado F., 2006). Симптомами статин-индуцированной миопатии могут быть миалгия, миастения, на фоне более чем десятикратного повышения активности креатинфосфокиназы (КФК) в плазме крови. Креатинфосфокиназа является индикаторным ферментом, который выходит в кровь из поврежденных миоцитов. Разброс частоты встречаемости повышения активности данного фермента в крови более чем в 10 раз - от 1:1000 до 1:10 000 человек в год - зависит от статина, применяемого в лечении, его дозы, других факторов риска (Law M., Rudnicka A.R., 2006). Однако, повышения концентрации КФК при статиновой миопатии очень часто либо не наблюдается, либо оно незначительно.

Боли в мышцах (миалгии), возникающие на фоне приема статинов, чаще ноющего характера, могут быть симметричными или локализованными, сопровождаться повышенным тонусом, судорогами или мышечной слабостью. (Rosenson R.S., Baker S.K., Jacobson T.A. [et al.], 2014; Stroes E.S., Thompson P.D., Corsini A. [et al.], 2015).

В ряде случаев статин-индуцированная миопатия возникает резко, иногда при приеме одного и того же препарата, при этом степень поражения мышц нижних конечностей, спины, ягодиц может быть различна, вплоть до рабдомиолиза (Buettner C., Rippberger M.J., Smith J.K., 2012).

Чаще всего симптомы поражения мышц, обусловленные приемом статинов, появляются уже через 4-6 недель терапии, однако известны случаи, когда данный побочный эффект возникал после многолетнего применения лекарственного препарата (Bruckert E., Hayem G., Dejager S. [et al.], 2005). Так симптомы миопатии могут появиться при увеличении дозы статина, а также при назначении лекарственного препарата, взаимодействующего с ним (Hodel C., 2002; Parker B.A., Capizzi J.A., Grimaldi A.S. [et al.], 2013).

Обсервационное исследование мышечных симптомов при высокодозовой

терапии статинами (Prediction of Muscular Risk in Observational conditions, PRIMO), проведенное во Франции выявило, значительно большую распространенность статиновой миопатии, а именно 1–5%, чем считалось ранее (Bruckert E., Hayem G., Dejager S. [et al.], 2005).

Также приводятся данные, что в рандомизированных исследованиях ее распространенность может достигать от 9–20%, в зависимости от типа и дозы статинов, сопутствующей терапии, дизайна исследования (Zlatohlavek L., 2014).

Симптомы статиновой миопатии носят весьма субъективный характер, на сегодняшний день отсутствует диагностический тест, который мог бы служить «золотым стандартом», поэтому поставить такой диагноз достаточно сложно (Fernandes V., Santos M.J., Perez A., 2016).

Изучению патогенеза статиновой миопатии посвящено немало исследований, накоплен значительный фактический и теоретический материал, однако, однозначного мнения, о молекулярных механизмах данной патологии в настоящее время не существует (Udaka J., Ohmori S., Terui T. [et al.], 2008; Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Коваленко Т.Д., 2014).

Миопатия, по одной из гипотез, является результатом комплексного воздействия факторов: генетических, метаболических, иммунологических особенностей пациента, действия самого статина, а также синергизм с другими лекарственными препаратами (Драпкина О. М., Чернова Е. М., 2015).

Согласно другой гипотезе применение статинов может привести к нестабильности мембраны миоцитов, вследствие уменьшения количества холестерина в ее структуре (Zlatohlavek L., 2014).

Еще одна гипотеза объясняет механизм возникновения миопатии снижением синтеза изопреноидов (геранилпирофосфата и фарнезилпирофосфата), приводящее к раннему апоптозу, обусловленному уменьшением количества регуляторных белков. При этом происходит

снижение синтеза коэнзима Q10, который принимает участие в процессе выработки АТФ митохондриями и транспорте электронов (Белоусова Е.С., 2009; Antonopoulos A.S., Margaritis M., Lee R. [et al.], 2012).

Существует еще одна версия возникновения миопатии: статины доставляются в гепатоциты специфическими белками-переносчиками (Maggo S.D., Kennedy M.A., Clark D.W., 2011). Для переноса статинов в миоциты требуется пассивная диффузия через сарколемму, содержащую большое количество липидов, так как специфические транспортные системы здесь отсутствуют. Поэтому, теоретически повышение гидрофильности статина должно снижать риск развития поражения скелетной мускулатуры. Однако, случаи развития умеренного рабдомиолиза описаны и при применении наиболее гидрофильных статинов – правастатина и розувастатина (Rosenson R.S., Vays H.E., 2003; Деева Т.А., Драпкина О.М., 2015).

Еще одна из гипотез гласит, что статины инициируют аутоиммунные процессы в организме, то есть речь идет об аутоиммунном характере повреждения миоцитов (Драпкина О.М., Чернова Е.М., Корнеева О.Н., 2012).

Существует ряд факторов, которые существенно увеличивают риск развития статиновой миопатии:

- ✓ наличие сопутствующих хронических заболеваний;
- ✓ одновременное назначение 5 и более лекарственных препаратов;
- ✓ гериатрический возраст;
- ✓ высокодозовая терапия статинами.

Заболевания, сопровождающиеся дисфункцией митохондрий, можно рассматривать как дополнительные факторы риска развития миопатий, обусловленных приемом статинов. Например, метаболический синдром, заболевания, связанные с генетическими дефектами митохондрий, патологии щитовидной железы и т.д. (Golomb B.A., Evans M.A., 2008; Sirvent P., Fabre O., Bordenave S. [et al.], 2012).

Наиболее тяжелой формой проявления токсического действия на мышцы, обусловленного применением статинов, является острая деструкция скелетных мышц – рабдомиолиз, который сопровождается мышечной болью и слабостью, болезненностью при пальпации, лихорадкой, рвотой, появлением темной мочи.

В клинической практике под этим термином понимают клинико-лабораторный синдром, возникающий в результате повреждения скелетных мышц с высвобождением клеточного содержимого миоцитов в плазму. Из разрушенных миоцитов в кровоток поступают миоглобин, калий, фосфаты, КФК (5-10-кратное повышение активности в крови), трансаминазы (Заугольников В.С., Теплова Н.Н., 2002).

Согласно литературным данным, у 1 человека на 100 000 человек в год при использовании статинов развивается рабдомиолиз (Law M., Rudnicka A.R., 2006).

При назначении статинов выявлены факторы риска развития рабдомиолиза: применение статинов в высоких терапевтических дозах, гериатрический возраст, принадлежность к женскому полу, полипрагмазия, дефицит массы тела, гипофункция щитовидной железы, нарушение функций печени и почек. Вероятность развития этого синдрома также увеличивается при совместном применении статинов с рядом лекарственных препаратов, таких как: фибраты, витамин РР, антибиотики группы макролидов, некоторые противогрибковые препараты (Pasternak R.C., Smith S.C.Jr., Bairey-Merz C.N. [et al.], 2002).

Описаны случаи, когда прием статинов сопровождался развитием асимптомной миопатии, протекавшей латентно, что существенно затрудняло диагностику заболевания и приводило к необратимым изменениям в организме человека (Toth P.P., Harper C.R., Jacobson T.A., 2008).

Исходя из всего вышеизложенного, обоснованным и целесообразным является углубленное изучение особенностей изменения молекулярных взаимодействий в тканях-мишенях при длительном применении статинов.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Краткая характеристика экспериментального материала

Диссертационное исследование проводилось на беспородных крысах-самцах, масса которых составляла 300-350 г., возраст - 12-14 месяцев, в соответствии разработанным дизайном, который представлен на рисунке 5.

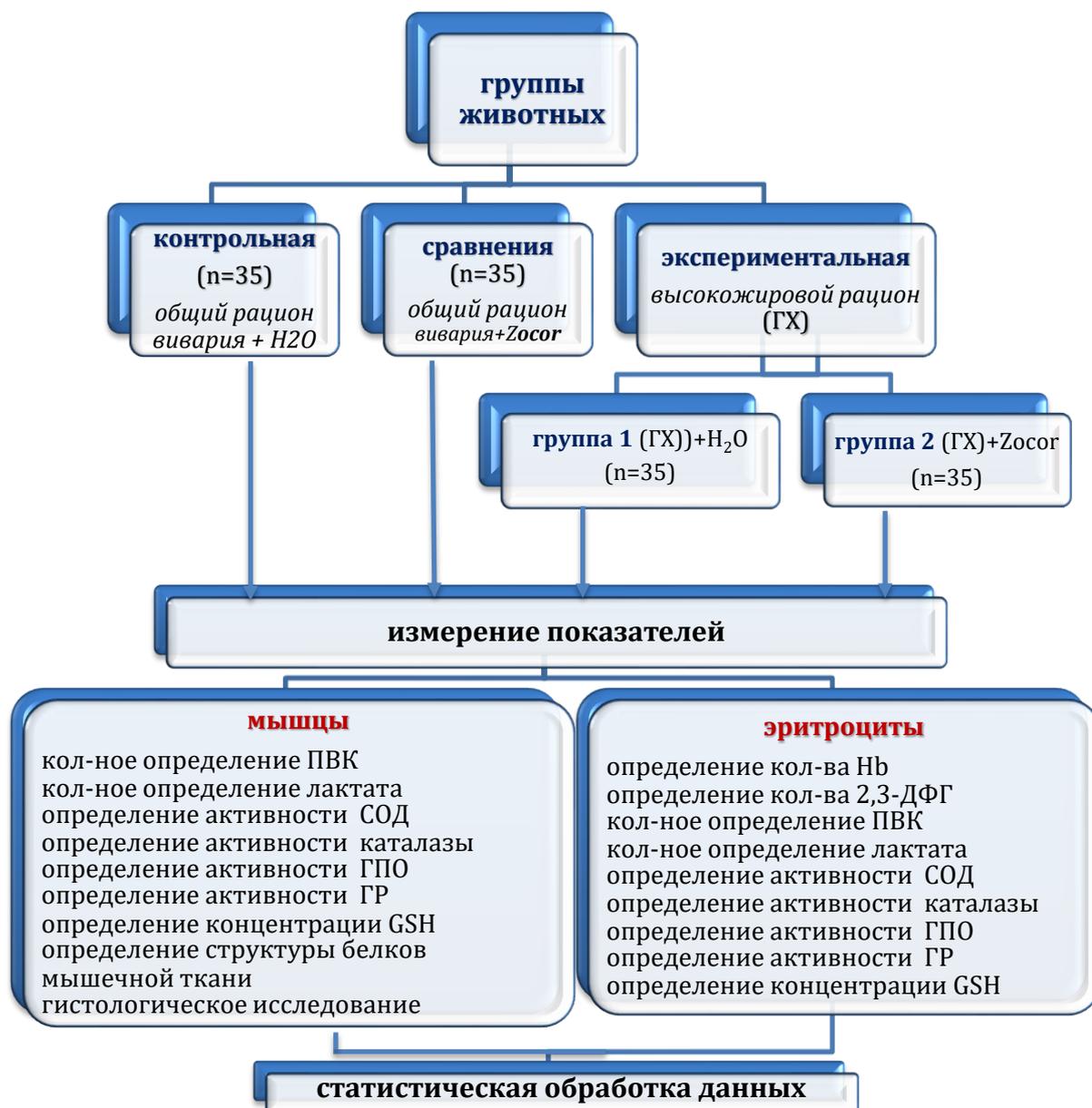


Рисунок 5 – Дизайн исследования

Животные содержались в соответствии с Приказом Минздрава РФ №708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики», а также с санитарными правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 29.08.2014».

Для выполнения поставленных задач диссертационного исследования, был взят гиполипидемический препарат - симвастатин, под торговым названием Zocor®. Выбор лекарственного препарата был обусловлен тем, что наибольший риск развития специфического побочного эффекта - «статиновая миопатия» отмечается, чаще всего, при применении статинов первого поколения.

В процессе эксперимента животные были поделены на следующие группы:

Контрольная группа состояла из 35 животных, которые находились на обычном рационе вивария, без добавления лекарственных препаратов. Крысам данной группы, ежедневно, в течение 3 месяцев один раз в сутки вводили 0,5 мл дистиллированной воды через питательный зонд.

Группу сравнения составили 35 крыс, которые в отличие от контрольной группы, получали через питательный зонд лекарственный препарат симвастатин (Zocor, 20 мг) по 0,0012 г/ 100 г массы один раз в сутки в течение 2-х месяцев в виде водной суспензии.

Животные *экспериментальных групп* (70 крыс) в течение 3 месяцев содержали на рационе с высоким содержанием жиров и углеводов (топлённое сливочное масло, тростниковый сахар, манная крупа).

Через три месяца у данных животных по результатам анализа общего холестерина (ХС), который определяли на анализаторе «Bayer» (Германия), диагностировали эссенциальную гиперхолестеринемию. Затем животных снова разделили на 2 группы по 35 особей:

Животные группы 1 – в течение 2 месяцев содержались на рационе с высоким содержанием жиров и углеводов, без добавления лекарственных препаратов, при этом один раз в сутки они получали через питательный зонд 0,5 мл дистиллированной воды.

Животные группы 2 – в отличие от животных группы 1, в течение 2 месяцев получали через питательный зонд симвастатин (Zocor, 20 мг) по 0,0012 г/ 100 г массы один раз в сутки в виде водной суспензии через питательный зонд.

Из эксперимента животных выводили методом декапитации. Проведенное исследование выполнено в соответствии с этическими принципами, установленными «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой в Страсбурге 18.03.1986г., подтвержденной 15.06.2006 г., и одобрена локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО «Ростовского государственного медицинского университета» МЗ РФ (протокол №21/15 от 10.12.2015г.).

2.2. Методы исследования

2.2.1 Определение структуры белков мышечной ткани

Исследование содержания титина и небулина методом

ДСН-гель-электрофореза

Исследования по определению структуры белков мышечной ткани проводились в лаборатории структуры и функций мышечных белков Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (г.Пушино) (заведующий лабораторией - д.б.н. Вихлянцев И.М.), при консультации ведущих специалистов в области изучения клеточной подвижности.

Изучение изменений содержания титина (гигантского белка толстых филаментов) и небулина (гигантского белка тонких филаментов) проводили методом ДСН-электрофореза в крупнопористом горизонтальном полиакриламидном геле с добавлением агарозы по Tatsumi R., Hattori A., (1995) в модификации Vikhlyantsev I.M., Podlubnaya Z.A., (2017), которые направлены на улучшение разделения высокомолекулярных форм титина. Содержание титина и небулина оценивали по отношению к содержанию тяжелых цепей миозина.

2.2.2 Гистологическое исследование микропрепаратов мышечной ткани

С целью выявления морфологических изменений в скелетных мышцах животных на фоне длительного применения симвастатина на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) «Ростовского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации было проведено гистологическое исследование мышечной ткани.

Исследуемый материал *m. biceps* крыс исследуемых групп на протяжении суток фиксировался в 10% нейтральном формалине. После чего, фрагменты мышечной ткани подвергались гистологической проводке по стандартному протоколу для операционного материала. Проведённые фрагменты заливались в стандартные заливочные кассеты для проведения микротомии. Полученные срезы расправлялись на водяной бане и окрашивались по стандартной методике гематоксилином и эозином, часть срезов окрашивали для выявления жира суданом (Волкова О.В., Елецкий Ю.К.. 1982).

После окраски срезы помещались под покровные стекла для проведения оптической микроскопии с использованием микроскопа Nikon eclipse 50i с графической станцией Nikon digital sight DS-U3 (окуляры CFI 10x/22, объективы Nikon Plan 10x/0,25, 20x/0,4, 40x/0,65).

2.2.3 Методы количественного определения метаболитов и активности ферментов

Изменение метаболизма в скелетных мышцах оценивали по комплексу биохимических показателей, которые характеризуют состояние энергетического и углеводного обмена. Анализ функций эритроцитов проводили по содержанию лактата, пировиноградной кислоты, а также 2,3-дифосфоглицерата.

Показатели, по которым можно оценить состояние активности основных ферментов антиоксидантной защиты изучались как в миоцитах, так и в эритроцитах.

Методы фракционирования эритроцитов и мышечной ткани

Для определения концентрации метаболитов гликолитического расщепления глюкозы и активности ферментов антиоксидантной защиты в мышечной ткани, брали 1г скелетной мышцы животного. Полученный мышечный фрагмент гомогенизировали в охлажденном растворе 0,9% NaCl (в соотношении 1г мышечной ткани: 9мл физиологического раствора), после чего проводили центрифугирование в течение 30 минут при 3000 об./мин. Для проведения исследования была отобрана надосадочная жидкость.

Для получения эритроцитов кровь подопытных животных стабилизировали гепарином (10 ед./мл), затем красные кровяные тельца отделяли от тромбоцитов и лейкоцитов в 3% желатиновом растворе, после чего проводили центрифугирование, с целью разделения плазмы и верхнего слоя клеток. Выделенные красные клетки крови 2-3 раза промывали 0,9% раствором NaCl. Затем в течение 30 минут проводили центрифугирование при 3000 об./мин, для получения плотного осадка эритроцитов, с целью последующего определения метаболитов гликолиза.

Для определения общего уровня холестерина в сыворотке крови использовали анализатор «Вауег» (производство Германия).

Методы определения метаболитов гликолиза и изучение газотранспортной функции эритроцитов

Учитывая высокую нестабильность содержания субстратов гликолиза в крови и в мышечных волокнах, для обеспечения температурных условий все манипуляции проводились при 4С°, растворы необходимых реактивов также использовались охлажденными.

Концентрацию *гемоглобина (Hb)* в гемолизате (в г/мл гемолизата) определяли методом спектрофотометрии в щелочной среде при $\lambda=540$ нм (Луганова И.С., Блинов М.Н., 1975).

Концентрацию *2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ)* определяли колориметрическим методом ($\lambda= 670$ нм), в основе которого лежит определение содержания неорганического фосфора по реакции с молибденовокислым аммонием после предварительной очистки от других фосфорсодержащих соединений активированным углем. Результаты выражали в мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов (Луганова И.С., Блинов М.Н., 1975).

Для определения концентрации *пировиноградной кислоты (ПВК)* использовали ее способность образовывать с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде окрашенные гидразоны (красно-коричневая окраска), имеющие максимум поглощения при длине волны $\lambda=440$ нм. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию пирувата. Результаты выражали в мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов или мг белка в тканях (Камышников В.С., 2004).

Концентрацию *лактата* определяли методом, основанном на окислении молочной кислоты до уксусного альдегида в присутствии серной, фосфорных кислот и соли Ca^{2+} . Образующийся альдегид при взаимодействии с параоксидифенилом образует соединение, окрашенное в сиренево-фиолетовый цвет. Интенсивность окрашивания оценивали спектрофотометрическим методом при $\lambda=590$ нм. Результаты выражали в

мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов или мг белка в тканях (Данилова Л.А., 2003).

Методы определения активности ферментов антиоксидантной защиты

Активность *супероксиддисмутазы (СОД)* определяли по торможению аутоокисления адреналина в щелочной среде и выражали в условных единицах на 1 г гемоглобина или мг белка в минуту (Гуревич В.С., Конторщикова К.Н., Шатилина Л.В., 1990)

Определение активности *каталазы* проводили колориметрически, при $\lambda=400$ нм (Королук М.А. [и др.], 1988). В основе метода лежит взаимодействие невосстановленного пероксида с молибденовокислым аммонием, с образованием комплексного соединения, окрашенного в желтый цвет. Активность каталазы выражали в мКат/г гемоглобина или мг белка в минуту, для расчета активности использовали коэффициент миллимолярной экстинкции $\varepsilon=22,2 \times 10^3$ ммоль⁻¹ см⁻¹ (Микашинович З.И. [и др.], 2004).

Активность *глутатионпероксидазы (ГПО)* определяли по убыли восстановленного глутатиона при проведении цветной реакции с 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной) кислотой (5,5-ДТНБК). Интенсивность окрашивания определяли колориметрическим методом, при $\lambda=412$ нм. Активность глутатионпероксидазы выражали в мкмоль/г гемоглобина или мг белка в мин (Данилова Л.А., 2003).

Активность *глутатионредуктазы (ГР)* определяли спектрофотометрически по убыли восстановленного НАДФН+Н, при длине волны $\lambda=340$ нм, используя метод Юсуповой (1989), в описании Даниловой Л.А. (2003). Активность глутатионредуктазы выражали в мкмоль превращения НАДФН+Н на 1г гемоглобина или мг белка в минуту.

Определение концентрации *восстановленного глутатиона (GSH)* проводили спектрофотометрически, при $\lambda=412$ нм по методу Ellman G.L., (1959). Восстановленный глутатион при взаимодействии с 5,5-дитиобис(2-

нитробензойной) кислотой (5,5-ДТНБК) образует окрашенное соединение. Концентрацию восстановленного глутатиона выражали в мкмоль/г гемоглобина или мг белка. (Микашинович З.И. [и др.], 2004).

Для статистической обработки полученного материала использовали программы STATISTICA 10.0 и Excel Microsoft. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

СОСТОЯНИЕ СТРУКТУРЫ ГИГАНТСКИХ БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ У ЖИВОТНЫХ С ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ДО И ПОСЛЕ ПРИЕМА СТАТИНОВ

Долгое время диагностика миопатии основывалась в основном на субъективных критериях изменения мышечной активности, таких как мышечная слабость, уменьшение объема активных движений, снижение мышечного тонуса, судороги, ригидность и атрофия мышц, которые являются неспецифичными и встречаются при разных заболеваниях.

В литературе приводятся результаты экспериментальных исследований, которые доказывают, что развитие атрофических процессов в мышечной ткани сопровождается снижением содержания гигантских белков саркомерного цитоскелета - титина и небулина (Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., 2008, 2012; Vikhlyantsev I.M., Podlubnaya Z.A., 2012).

Зиновьева О.Е. и коллектив авторов приводят данные, что снижение содержания в мышечной ткани титина и небулина приводит к нарушению сократительной способности и ухудшению эластических свойств мышц, которые наблюдаются при миопатии, в том числе при статиновой (Зиновьева О.Е., Самхаева Н.Д., Вихлянцев И.М. [и др.], 2019).

В экспериментальных исследованиях российских и зарубежных ученых методом электрофореза было установлено, что протеолитическим фрагментом интактного титина (T1) является титин 2 (T2). Также были определены изоформы титина в поперечно-полосатых мышцах млекопитающих: N2A, N2B, N2BA и NT.

Исследования изменений содержания титина и небулина в мышцах при развитии патологического процесса сравнительно немногочисленны. Это может быть связано с тем, что титин и небулин чрезвычайно чувствительны к

протеолизу во время препаративных процедур (Wang K.,1982; Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., 2012).

Изменения качественного и количественного состава титина и небулина в *m. biceps* животных исследуемых групп представлены в таблице 2 и на рисунках 6, 7.

Таблица 2 – Изменение содержания титина и небулина в мышечной ткани *m. biceps* животных исследуемых групп ($M \pm m$).

показатели	контрольная группа, n=35	экспериментальная группа
		группа 2, n=35
T2-фрагмент	0,113 ± 0,002	0,137 ± 0,0024 p<0,001
N2A-изоформа	0,136 ± 0,002	0,094 ± 0,0025 p<0,001
NT-изоформа	0,026 ± 0,0015	0,016 ± 0,0017 p<0,001
небулин	0,031 ± 0,0023	отсутствует

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы.

На электрофореграмме в *m. biceps* животных с индуцированной гиперхолестеринемией содержание небулина, титина практически не отличалось от показателей контрольной группы.

В тоже время у животных 2 экспериментальной группы на фоне длительного применения симвастатина, наблюдалось увеличение содержания протеолитического фрагмента T2 на 21,24% (p<0,001), относительно контрольной группы, т.е. в 1,2 раза. По всей вероятности, это связано с

повышенным протеолизом интактного титина кальций-зависимыми протеазами кальпаинами (таблица 2, рисунок 6, 7).

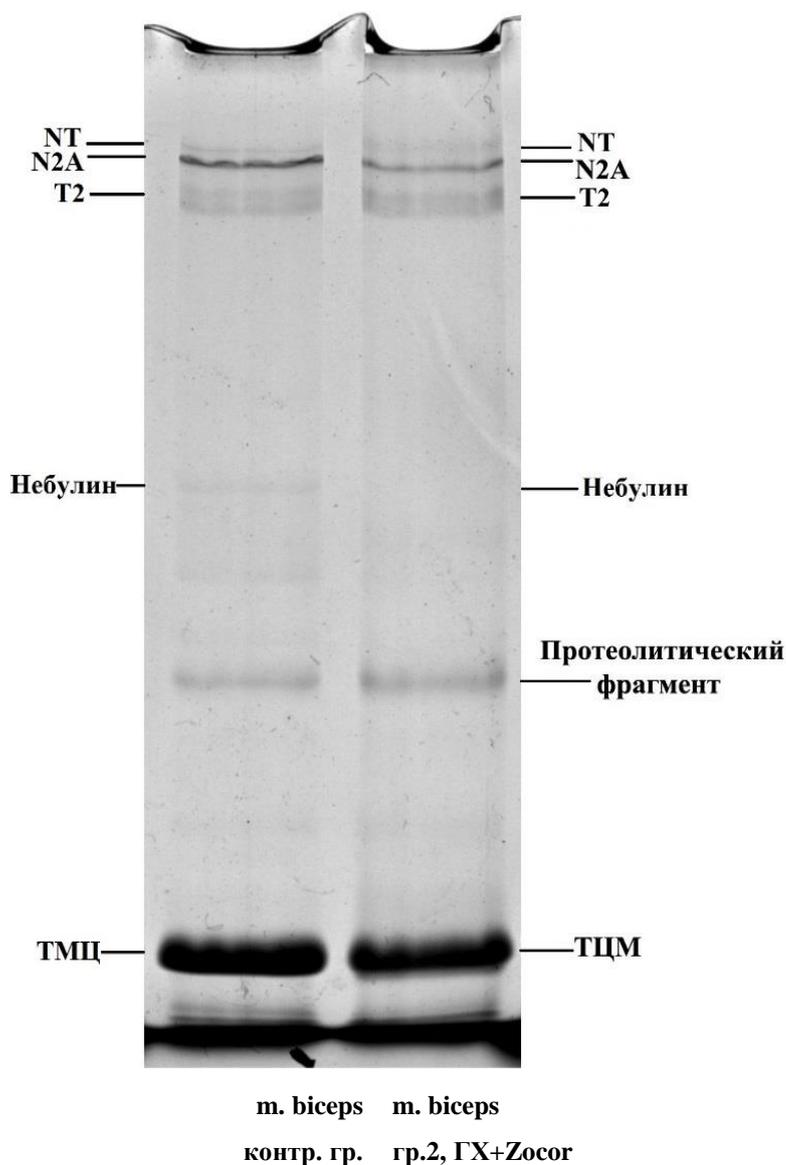


Рисунок 6 – Изменение содержания титина и небулина в *m. biceps* животных исследуемых групп

Кроме того, в этой группе отмечалось уменьшение содержания изоформ титина: N₂A-изоформы на 30,88% ($p < 0,001$) и NT-изоформы на 38,46% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы, т.е. в 1,44 и 1,6 раза соответственно.

Это предположение подтверждается экспериментальными исследованиями Вихлянцева И.М., Подлубной З.А.: воздействие эндогенных протеаз на титин в *m. soleus* в течение 30-60 минут приводило к снижению содержания изоформ титина NT (в 6 раз), N₂A (в 2 раза), а также отмечалось значительное увеличение содержания T2-фрагмента титина на электрофореграммах. (Вихлянцев И.М., Подлубная З.А., 2012).

Похожие результаты можно найти в работе Вихлянцева И.М.: шести недельная иммобилизации задней конечности крысы приводила к двукратному уменьшению содержания N₂A-изоформы титина *m. soleus*, что приводило к снижению сократительной способности и кальциевой чувствительности мышцы (Вихлянцев И.М., 2011)

В работах зарубежных авторов, приводятся данные, что уменьшение N₂A-изоформы титина в мышечной ткани крыс - приводило к снижению жесткости мышечных волокон, что отрицательно сказывается на двигательной активности (Toursel Th., Stevens L., Granzier H., Mounier Y., 2002).

Экспериментальные исследования Грицыной Ю.В. и др. доказывают, что в нарушении сократительной способности значительную роль играет именно снижение NT-изоформ титина (Грицына Ю.В. [и др.], 2013).

Важно отметить, что у животных на фоне длительного применения симвастатина небулин в мышечной ткани полностью отсутствует и, соответственно, данный белок не выполняет своих функций, таких как, стабилизация тонких нитей и регуляция взаимодействия актина и миозина.

Зиновьева О.Е. и соавторы приводят данные, что гиперфосфорилирование титина, в основном T2-части его молекулы, приводит к увеличению чувствительности этого белка к протеолизу (Зиновьева О.Е., Самхаева Н.Д., Вихлянцев И.М. [и др.], 2019).

Кроме того, на электрофореграмме животных на фоне длительного применения симвастатина значительно выражена полоса белка с

молекулярной массой ~ 300-400кДа, что по всей вероятности, является протеолитическим фрагментом титина либо небулина, что свидетельствует о деградации высокомолекулярных белков (рисунок 6).

Вышеперечисленные результаты нашего исследования позволяют сделать вывод о преобладании процессов протеолитической деградации белков титина и небулина над их синтезом в мышечной ткани животных с индуцированной гиперхолестеринемией на фоне длительного применения симвастатина. Это приводит к нарушению упорядоченной структуры мышечного волокна, что в свою очередь нарушает сократительную способность скелетных мышц.

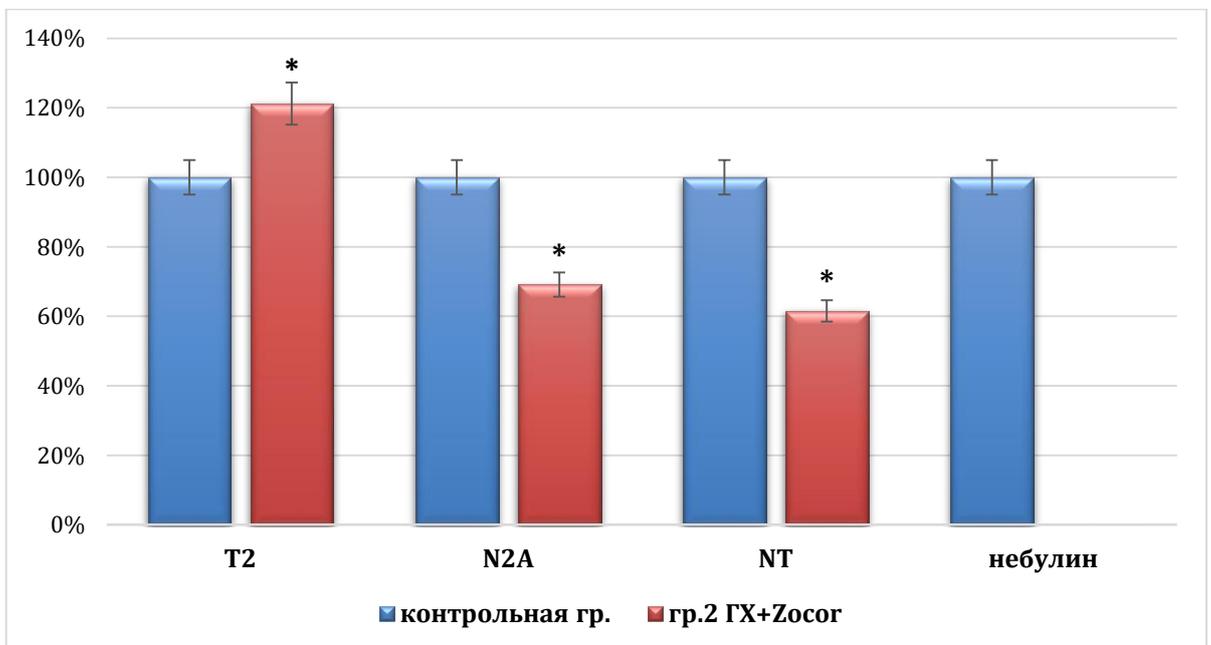


Рисунок 7 – Изменение содержания титина и небулина в m. biceps животных с гиперхолестеринемией на фоне длительного применения симваститина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Таким образом, снижение уровня титина и небулина может выступать в качестве показателя, адекватно отражающего наличие процессов дистрофии в мышце, что указывает на развитие миопатии.

На основании полученных нами результатов был разработан "Способ моделирования миопатии" (патент на изобретение №2632624 от 06.10.2017г.). Согласно заявленному способу при одновременном снижении содержания NT-изоформы титина до 0,019 и ниже, и содержания N2A-изоформы титина до 0,095 и ниже диагностируют миопатию у исследуемых животных - крыс.

Также разработан "Способ диагностики миопатии в эксперименте" (патент на изобретение №2625743 18.07.2017г.). Согласно патенту «Способ диагностики миопатии в эксперименте», включающий исследование подопытного животного - кролика, у которого в двуглавой мышце, выделенной из передней конечности, определяют содержание NT-изоформы титина и N2A-изоформы титина. При одновременном выполнении условий: содержание NT-изоформы $\leq 0,016$ и содержание N2A-изоформы $\leq 0,085$ у исследуемого животного диагностируют миопатию.

Для наиболее информативной оценки структурно-функционального состояния мышц после введения симвастатина нами было дополнительно проведено гистологическое исследование мышечной ткани животных исследуемых групп.

Проведенное исследование показало, что гистологическая картина представленного на исследование материала животных на фоне длительного применения симвастатина соответствует метаболической миопатии (Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Саркисян О.Г., Мажугин В.Ю., 2017), при этом были отмечена структурная дегградация мышечной ткани (рисунок 8, 9).

Фрагменты поперечно-полосатой мышечной ткани животных на фоне длительного применения симвастатина характеризовались нарушением упорядоченной структуры мышечных клеток: участки однонаправленного расположения миоцитов чередовались с участками с разнонаправленным расположением.

В тоже время относительно неизменные миоциты сменялись участками резко гипотрофированных клеток с узкими веретеновидными ядрами, часть из которых имела внутриядерные включения, при этом отмечалось выраженное снижение оптической плотности ядра (рисунок 8б).

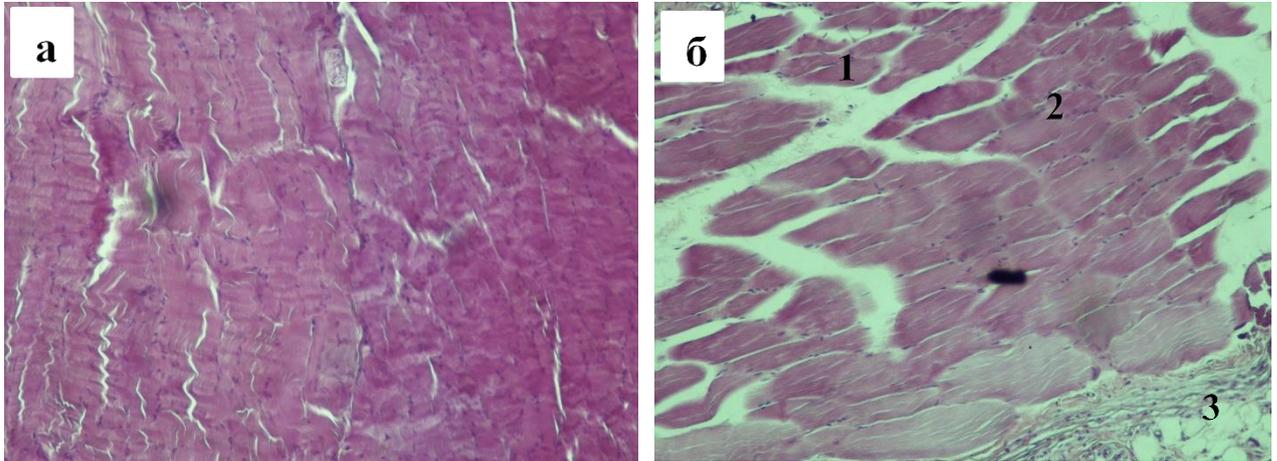


Рисунок 8 – Фрагменты поперечно-полосатой мышечной ткани животных исследуемых групп (x100): а – контрольная группа; б – группа 2 (ГХ+Zocor): чередование гипотрофированных (1) и гипертрофированных (2) миоцитов, умеренно выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация (3).

В миоцитах животных на фоне применения симвастатина визуально отмечалось отсутствие поперечной исчерченности. На срезе наблюдалось чередование сильно просветлённых участков (резкое уменьшение миофибрилл и миоглобина) с относительно неизменными саркомерами (рисунок 9б). Кроме того, отмечалась умеренная жировая дистрофия миоцитов, фиброзирование перимизия.

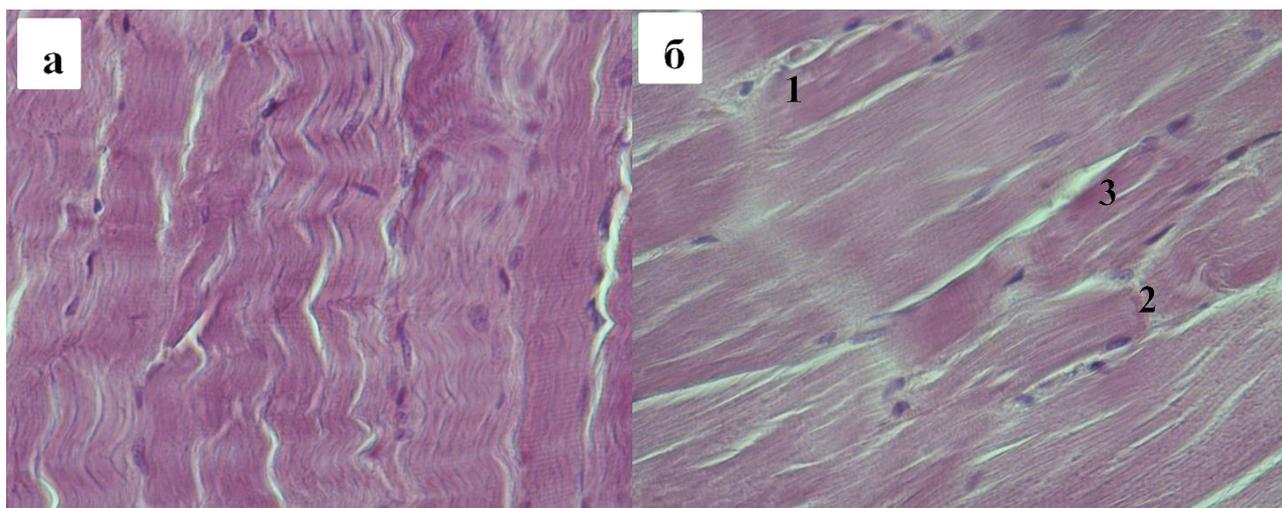


Рисунок 9 – Фрагменты поперечно-полосатой мышечной ткани животных исследуемых групп (x400): а – контрольная группа; б – группа 2 (ГХ+Zocor): кариолизис в отдельных волокнах (1), очаговая деформация мышечных волокон (2), частичное отсутствие поперечной исчерченности в отдельных волокнах (3).

Таким образом, была установлена картина статиновой миопатии, что дало основание для исследования механизмов ее развития в рамках поставленных задач.

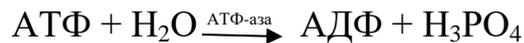
ГЛАВА 4

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

4.1. Интактные животные после длительного введения симвастатина

4.1.1. Метаболиты гликолиза: пируват, лактат

Важнейшей особенностью функционирования мышц является то, что в процессе мышечного сокращения в условиях необходимого кислородного снабжения происходит превращение химической энергии АТФ в механическую энергию, что требует постоянной регенерации аденозинтрифосфата (Чекман И.С. [и др.], 1991).



При этом в организме происходят биохимические изменения, направленные на интенсификацию процессов ресинтеза АТФ. В скелетных мышцах он осуществляется в результате ферментативного расщепления углеводов, которое завершается окислительным фосфорилированием в дыхательной цепи. В анаэробных условиях, в результате расщепления углеводов образуется лактат.

Молочная кислота легко диффундирует через клеточные мембраны по градиенту концентрации. При накоплении молочной кислоты происходит изменение концентрации водородных ионов во внутриклеточной среде организма. Умеренный сдвиг рН в кислую сторону, активирует работу ферментов дыхательного цикла в митохондриях, если сдвиг значительный, наблюдается обратный эффект, происходит угнетение ферментов, регулирующих сокращение мышц и скорость анаэробного ресинтеза АТФ. С увеличением количества молочной кислоты в саркоплазматическом пространстве мышц происходит изменение осмотического давления, и вода из межклеточной среды поступает внутрь мышечных волокон, что приводит к их набуханию.

Молочная кислота поступающая из работающих мышц в кровь, вступает во взаимодействие с бикарбонатной буферной системой, что приводит к выделению «неметаболического» избытка CO_2 (Телушкин П.К. [и др.], 2005).

Снижение pH (увеличение концентрации водородных ионов) и, при этом, повышение выхода CO_2 метаболическим путем активируют дыхательный центр. Таким образом, выход молочной кислоты в кровь резко усиливает легочную вентиляцию и, соответственно, поставку кислорода к работающим мышцам. В тоже время чрезмерное увеличение концентрации молочной кислоты замедляет гликолиз (Robergs R.A., Ghiasvand F., Parker D., 2004).

Косвенным показателем эффективности обеспечения молекулярным кислородом внутриклеточного метаболизма является уровень пирувата и лактата.

Пировиноградная кислота (ПВК, пируват) - является важным промежуточным продуктом метаболизма клеток, так называемый "узловой метаболит". Превращения ПВК зависят от доступности кислорода в клетке. В анаэробных условиях она восстанавливается до молочной кислоты. А в аэробных условиях пируват с ионами H^+ , движущимися по протонному градиенту, проникает в митохондрии. Здесь происходит его превращение до уксусной кислоты, переносчиком которой служит коэнзим А (Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Саркисян О.Г., 2015; Захарченко И.В. Григорян Н.А., 2017).

Кроме того, пировиноградная кислота, образуемая в реакциях катаболизма глюкозы и некоторых аминокислот, является главным источником ацетил-КоА, который служит исходным субстратом для синтеза холестерина в организме. Превращение пирувата в ацетил-КоА происходит при участии ферментов пируватдегидрогеназного комплекса.

Статины прерывают биохимический синтез холестерина на стадии перехода гидроксиметилглутарила (ГМГ-КоА) в мевалонат, ингибируя фермент ГМГ-КоА-редуктазу. В этих условиях ацетил-КоА не расходуется

на синтез холестерина, что может привести к избыточному синтезу кетоновых тел и накоплению их в крови (кетонемия), снижению pH и развитию метаболического ацидоза.

Проведенные нами исследования показали, что введение в течение длительного времени симвастатина (Zocor, 20 мг) интактным животным (группа сравнения) приводит к резкому увеличению в мышечной ткани лактата на 153,03% ($p < 0,001$), на фоне статистически значимого снижения концентрации ПВК на 82,2% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы (таблица 3, рисунок 10).

Таблица 3 – Концентрация метаболитов гликолиза в мышечной ткани интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина ($M \pm m$).

группы показатели	контрольная группа, n=35	группа сравнения, n=35
лактат [мкмоль/мг белка]	3,96 ± 0,447	10,02 ± 1,21 $p < 0,001$
пировиноградная кислота [мкмоль/мг белка]	2,25 ± 0,024	0,4 ± 0,04 $p < 0,001$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы

Диаметрально противоположные изменения концентрации метаболитов катаболизма глюкозы в миоцитах животных данной группы, могут свидетельствовать о нарушении равновесия между пируватом и лактатом, и, учитывая выраженное повышение концентрации лактата, свидетельствовать о превалировании анаэробных процессов в миоцитах. Наряду с этим изменение осмотического равновесия и возникающее избыточное

гидростатическое давление является предпосылкой нарушения митохондриальной функции за счет набухания структур.

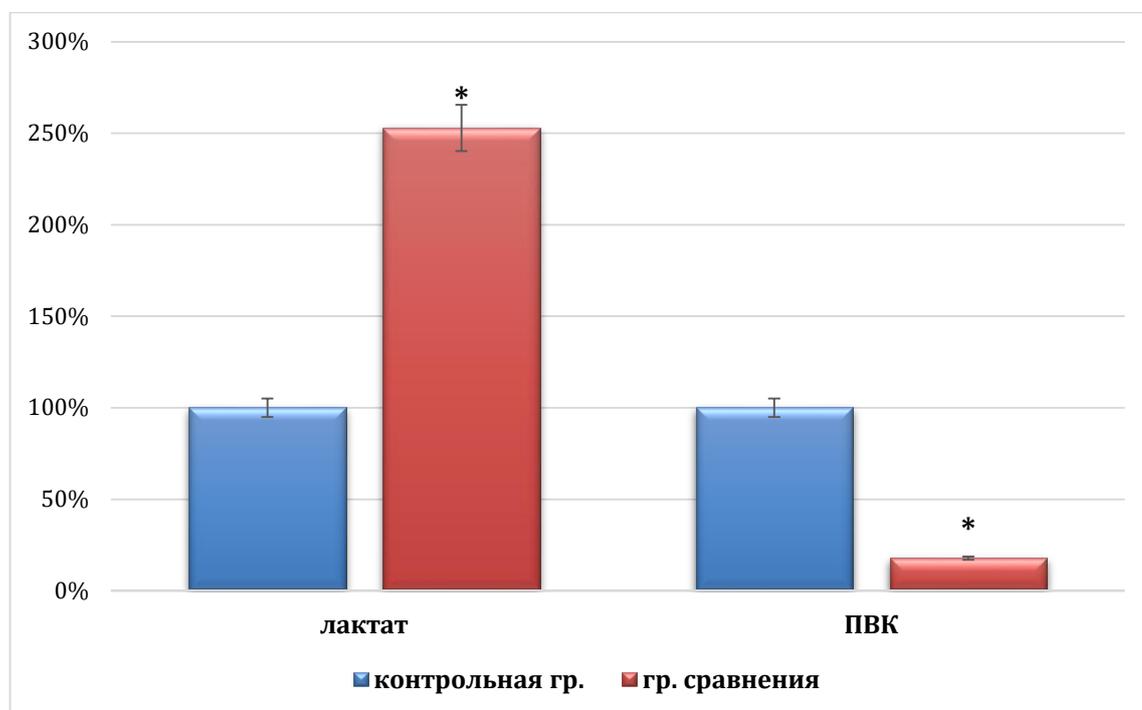


Рисунок 10 – Изменение концентрации метаболитов гликолиза в мышечной ткани интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Наряду с этим значительное увеличение концентрации лактата в группе сравнения, согласно данным литературы, приводит к закислению среды, накоплению кининов, активации защитно-приспособительного процесса - воспаления, ингибированию эндотелиальной функции, увеличению тонуса сосудов (Колотьева Н.А., Потехина В.И., Горбачева И.В., Козлов А.В., 2016).

Важно подчеркнуть, что накопление лактата сопровождается формированием лактоацидоза и снижением активности большинства регуляторных ферментов, а, следовательно, может приводить к нарушению двигательной активности животных (Минигалин А.Д., Шумаков А.Р., Баранова Т.И. [и др.], 2011; Huang J., Du J., Lin W., Long Z. [et al.], 2019).

4.1.2. Ферменты антиоксидантной защиты

Окислительный стресс является составным элементом целого ряда заболеваний и патологических состояний, когда процесс синтеза активных форм кислорода выходит из-под контроля.

Антиоксидантная система является одной из важнейших защитных систем организма, предохраняющая от токсического действия активных метаболитов кислорода (Harris E., 1992; Byung Pal Yu, 1994; Benzie I., 2000). Система антиоксидантной защиты обеспечивает механизм контроля над протеканием окислительно-восстановительных процессов и метаболизмом побочных продуктов окисления в организме, а также коррекцию нарушений, вызванных свободнорадикальным окислением (Cristiano F., Dehaan J., Ianello R., 1995; Владимиров Ю.А., 1998; Дубинина, Е.Е., 1989, 2001; Halliwell B, Gutteridge JMC, 2007).

Основными ферментами антиоксидантной защиты клетки являются супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза, восстановленный глутатион (GSH), глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионредуктаза (ГР).

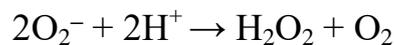
Супероксиддисмутаза, каталаза

Ферментные антиоксиданты - супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза образуют антиоксидантную пару, составляющие первую линию антиоксидантной защиты. Согласно данным литературы, синергизм в работе СОД и каталазы эффективнее защищает клетки от липидной пероксидации, чем работа тех же ферментов по отдельности (Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков И.А. [и др.], 2006).

Супероксиддисмутаза (СОД) - это один из главных ферментов, который играет важную роль в антиоксидантной защите практически всех клеток, находящихся в контакте с кислородом. В зависимости от строения активного центра СОД, различают несколько изоформ данного фермента. В организмах млекопитающих выделяются 3 основные изоформы СОД: медь-цинковая (Cu, Zn-СОД) - локализована преимущественно в цитозоле клеток животных,

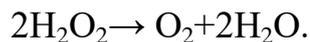
марганцевая (Mn-СОД) - в митохондриях, экстрацеллюлярная (Э-СОД) локализована в основном межклеточных жидкостях, а в незначительных количествах (1-2%) обнаруживается практически во всех тканях организма (Fridovich I.,1997).

Супероксиддисмутаза катализирует процесс дисмутации супероксидного радикала O_2^- , который образуется первым из активных форм кислорода при утечке электронов из дыхательной цепи, в менее токсичную перекись водорода (H_2O_2) и кислород (O_2):



Этот процесс, катализируемый СОД часто называют первичной защитой, т.к. этот фермент предотвращает дальнейшее образование свободных радикалов. Образующаяся перекись водорода (H_2O_2) - более стабильный и менее реакционно способный из промежуточных продуктов восстановления O_2 . Супероксид-анион O_2^- может взаимодействовать с H_2O_2 с образованием гидроксильного радикала OH^\cdot , превосходящего O_2^- по окислительной активности и токсичности (Pigeolet E., Corbisier P., Houbion A. [et al.], 1990; Суворова И.Н., Давыдов В.В., 2004).

Каталаза - гемопроtein, локализованный преимущественно в пероксисомах клеток. Молекула каталазы состоит из 4-х субъединиц каждая из которых содержит гем, входящий в состав активного центра. К активному центру идет узкий канал, который предотвращает проникновение более крупных молекул, чем H_2O_2 . Роль каталазы в мышечных тканях изучена в меньшей степени. В основе действия каталазы лежит реакция.



Биологическая роль этого фермента заключается в разложении перекиси водорода, образующейся в клетках в результате дисмутации супероксида и обеспечении эффективной защиты клеточных структур от разрушения под действием перекиси водорода (Pigeolet E., Corbisier P., Houbion A. [et al.], 1990; McElroy M., Postle A., Kelly F, 1992).

Каталаза и СОД являются высокоэффективными ферментами, и не нуждаются в кофакторах, что делает их работу практически автономной (Шамелашвілі К.Л. [и др.], 2015).

Результаты наших исследований показали, что после введения симвастатина наблюдалось снижение активности СОД на 61,88% ($p < 0,001$), а также тенденция к уменьшению активности каталазы на 24,10% ($p > 0,05$) относительно контрольной группы (таблица 4, рисунок 11).

Таблица 4 – Активность ферментов СОД и каталазы в мышечной ткани интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина ($M \pm m$).

группы показатели	контрольная группа, n=35	группа сравнения, n=35
супероксиддисмутаза [усл. ед./мг белка]	0,446 ± 0,049	0,170 ± 0,026 $p < 0,001$
каталаза [мКат/мг белка]	1,494 ± 0,211	1,134 ± 0,194 $p > 0,05$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы

Важно отметить, что снижение активности СОД может быть обусловлено ингибирующим влиянием высокой концентрации лактата. Таким образом, можно сделать вывод, что снижение активности супероксиддисмутазы и тенденция к уменьшению активности каталазы у животных на фоне длительного применения симвастатина является показателем падения антиоксидантного потенциала миоцитов. Приведенные результаты отражают нарушение равновесия в системе проксиданты-антиоксиданты, что ведет к накоплению потенциально опасных активных форм кислорода (АФК).

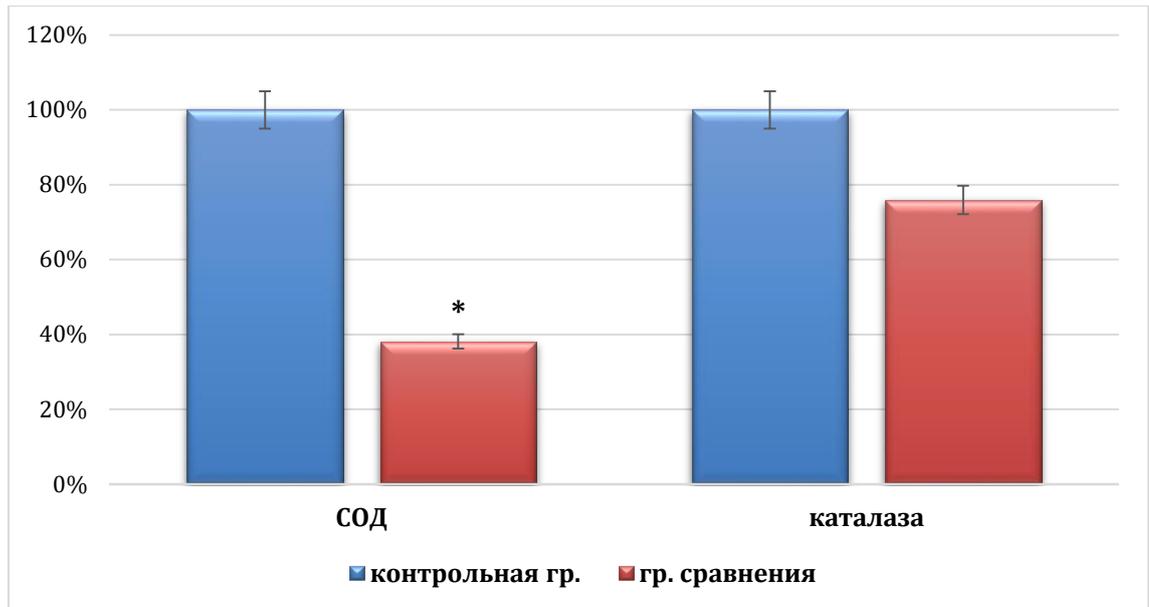


Рисунок 11 – Изменение активности ферментов СОД и каталазы в мышечной ткани интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Полученные данные согласуются с результатами зарубежных авторов, исходя из которых, введение животным симвастатина в дозе 5 мг/кг/сут в течение 4 недель проводило к снижению активности ферментов антиоксидантной защиты СОД, каталазы и концентрации GSH. Авторы подчеркивают его переменное влияние на окислительно-восстановительный статус гипергомоцистеинемических крыс (Nikolic T., Zivkovic V., Srejavic I., Stojic I., 2018). Можно полагать, что это зависит как от дозы препарата, так и от характера патологического процесса

Система глутатиона

Система глутатиона играет ключевую роль в защите клеток и внутриклеточной среды от реакционноспособных интермедиаторов кислорода, образующихся при метаболизме ксенобиотиков или окислительном стрессе иной природы (Larsson E., 1983; Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1990, 2009).

Восстановленный глутатион (GSH) обладает собственной антиоксидантной активностью. Система глутатиона включает в себя три глутатионзависимых фермента: глутатионпероксидазу (ГПО), глутатионредуктазу (ГР), глутатионтрансферазу (ГТ), (Mannervik B. [et al.], 1989).

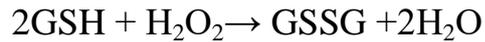
Восстановленный глутатион (GSH) является трипептидом, состоящим из аминокислот L-глутаминовой кислоты, L-цистеина и глицина. Является внутриклеточным антиоксидантом, играя роль «ловушки» свободных радикалов, ко-субстрата в реакциях детоксикации пероксидов, катализируемых глутатионпероксидазой (ГПО) и глутатионтрансферазой (ГТ), и выступает в качестве агента, восстанавливающего окисленный глутаредоксин (Grx), необходимого для восстановления дисульфидов. Поддержание оптимального соотношения GSH/GSSG в клетке является существенным для нормального ее функционирования. (Hirayama K., Yasutake A., Inoue M., 1989; Kidd P., 1997; Cotgreave I., Gerdes R., 1998). Поэтому крайне важно строго контролировать систему, регулирующую данное соотношение. Недостаток GSH подвергает клетку риску окислительного повреждения (Ballatori N., Krance S.M., Notenboom S., 2009; Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р. [и др.], 2010; Dunning S., Ur Rehman A., Tiebosch M.H. [et al.], 2013).

В основе действия восстановленного глутатиона лежит реакция:



Глутатионпероксидаза (ГПО) - является гомотетрамером. Каждая субъединица содержит один атом селена, связанный с цистеиновыми остатками (находится в составе остатка аминокислоты – селеноцистеина).

Активность ГПО повышается при некоторых патологических состояниях. ГПО нейтрализует пероксид водорода, превращая ее в воду, и переводит пероксиды липидов в соответствующие спирты, используя в качестве субстрата восстановленный глутатион. ГПО катализирует реакции:



Особенно важна роль ГПО в условиях оксидативного стресса - состояния с избыточным накоплением реактивных метаболитов O_2 и вторичных продуктов пероксидации, вызываемых, в том числе многими ксенобиотиками (Choe H., Hansen J., Harris C., 2001; Залуцкая Н.М., 2018).

Однако, ГПО метаболизируя ROOH может предупредить накопление вторичных продуктов, но не способна их обезвреживать (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1993, 2009; Comhair S.A., Erzurum S.C., 2005; Шульгин К.К., Рахманова Т.П., Попова Т.Н., 2008).

Глутатионредуктаза (ГР) – цитоплазматический белок. Этот фермент функционально связан с ГПО. Действие глутатионредуктазы зависит от уровня НАДФН+ H^+ и, следовательно, от активности пентозофосфатного пути и его ключевого фермента - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. ГР восстанавливает окисленный глутатион, используя НАДФН+ H^+ , образовавшийся в пентозофосфатном пути.



При проведении эксперимента определение активности глутатионзависимых ферментов в мышечной ткани интактных животных, длительное время принимавших симвастатин (группа сравнения) было выявлено незначительное повышение концентрации GSH на 8,44% ($p > 0,05$), статистически значимое увеличение активности ГР на 43,47% ($p < 0,05$), а также снижение активности ГПО на 42,64 % ($p < 0,001$) (таблица 5, рисунок 12).

Снижение активности ГПО в мышечной ткани животных, длительное время получавших симвастатин (группа сравнения), на фоне снижения активности каталазы (гл. 4.1.2, таблица 4) может привести к накоплению пероксидов и развитию пероксидного стресса, вызываемого, в том числе, и ксенобиотиками (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 2009).

Таблица 5 – Активность ферментов система глутатиона в мышечной ткани интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина ($M \pm m$).

показатели \ группы	контрольная группа, n=35	группа сравнения, n=35
восстановленный глутатион [мкмоль/мг белка]	28,79 ± 4,187	31,22 ± 4,716 p>0,05
глутатионпероксидаза [мкмоль/мг белка]	13,04 ± 0,892	7,48 ± 0,464 p<0,001
глутатионредуктаза [мкмоль/мг белка]	0,023 ± 0,0042	0,033 ± 0,0031 p<0,05

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы

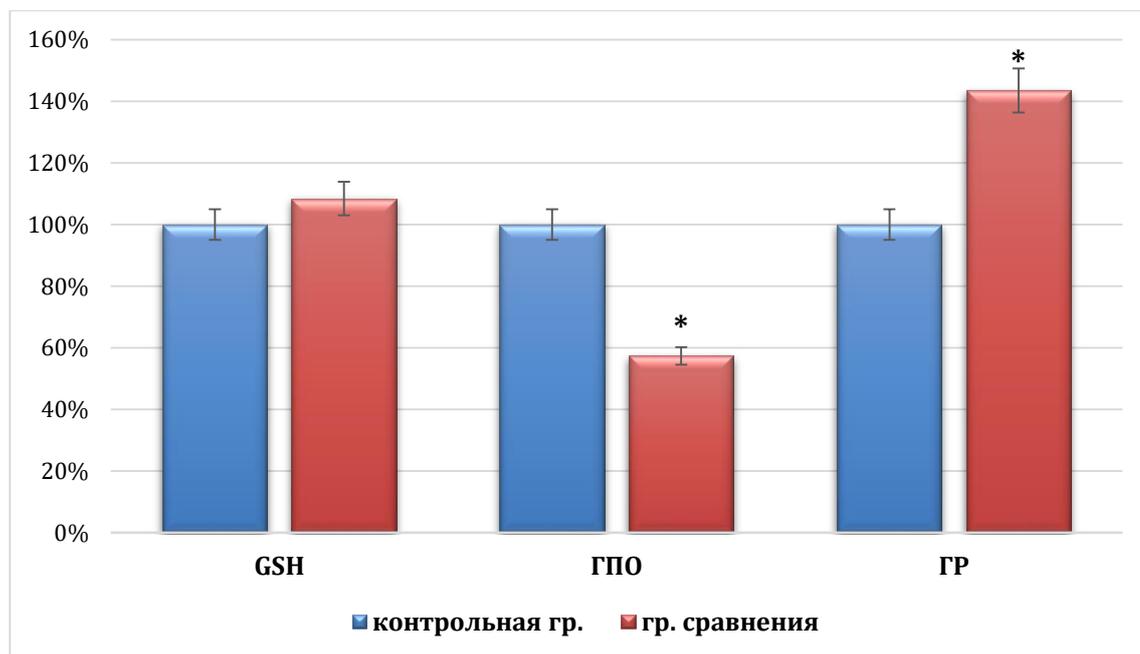


Рисунок 12 – Изменение активности ферментов системы глутатиона в мышечной ткани интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Итак, представленный фактический материал свидетельствует, что в мышечной ткани интактных животных, длительное время принимавших симвастатин, происходят метаболические сдвиги, которые говорят об изменении направленности углеводно-энергетического обмена в сторону превалирования анаэробных процессов и разбалансировке системы антиоксидантной защиты, что может привести к активации прооксидантных процессов.

4.2. Животные с экспериментальной гиперхолестеринемией до и после длительного введения симвастатина

4.2.1. Метаболиты гликолиза: пируват, лактат

В мышечной ткани животных с индуцированной гиперхолестеринемией (группа 1) наблюдалось увеличение концентрации лактата на 73,23% ($p < 0,001$), а также значительное увеличение ПВК на 247,11% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы (таблица 6, рисунок 13).

Таблица 6 – Концентрация метаболитов гликолиза в мышечной ткани животных исследуемых групп ($M \pm m$)

показатели	контрольная группа, n=35	экспериментальные группы	
		группа 1 (ГХ), n=35	группа 2 (ГХ+Zocor), n=35
лактат [мкмоль/мл белка]	$3,96 \pm 0,447$	$6,86 \pm 0,657$ $p < 0,001$	$4,64 \pm 0,491$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$
пировиноградная кислота [мкмоль/мл белка]	$2,25 \pm 0,024$	$7,81 \pm 0,570$ $p < 0,001$	$3,28 \pm 0,269$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы; p_1 – уровень значимости различий относительно показателей группы 1

Накопление недоокисленных продуктов гликолиза в клетке, особенно выраженное увеличение уровня ПВК, может быть обусловлено избытком легкоусваиваемых углеводов и жиров, составляющих основу рациона данной группы.

Обращает на себя внимание статистически значимое увеличение концентрации лактата. Вероятно, это связано с тем, что обменные процессы в организме перестраиваются с аэробного на анаэробный путь утилизации глюкозы, при этом основным путем превращения глюкозы становится анаэробный гликолиз.

Подавление биосинтеза эндогенного холестерина у животных с индуцированной гиперхолестеринемией, на фоне длительного приема симвастатина приводило к статистически значимому снижению уровня ХС в сыворотке крови ($1,637 \pm 0,136$ ммоль/л) относительно показателей группы 1 (таблица 7).

Таблица 7 – Уровень холестерина в сыворотке крови животных исследуемых групп ($M \pm m$)

показатель	контрольная группа, n=35	экспериментальные группы	
		группа 1 (ГХ), n=35	группа 2 (ГХ+Zocor), n=35
холестерин [ммоль/л]	$1,588 \pm 0,154$	$2,785 \pm 0,342$ $p < 0,001$	$1,637 \pm 0,136$ $p_1 < 0,001$ $p > 0,05$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы; p_1 – уровень значимости различий относительно показателей группы 1

Вместе с тем, у животных данной группы в мышечной ткани наблюдалось статистически значимое снижение концентрации метаболитов

гликолиза – лактата на 32,36% ($p_1 < 0,01$) и ПВК на 58,0% ($p_1 < 0,001$), относительно группы животных с индуцированной гиперхолестеринемией, не получавших симвастатин (таблица 6, рисунок 13).

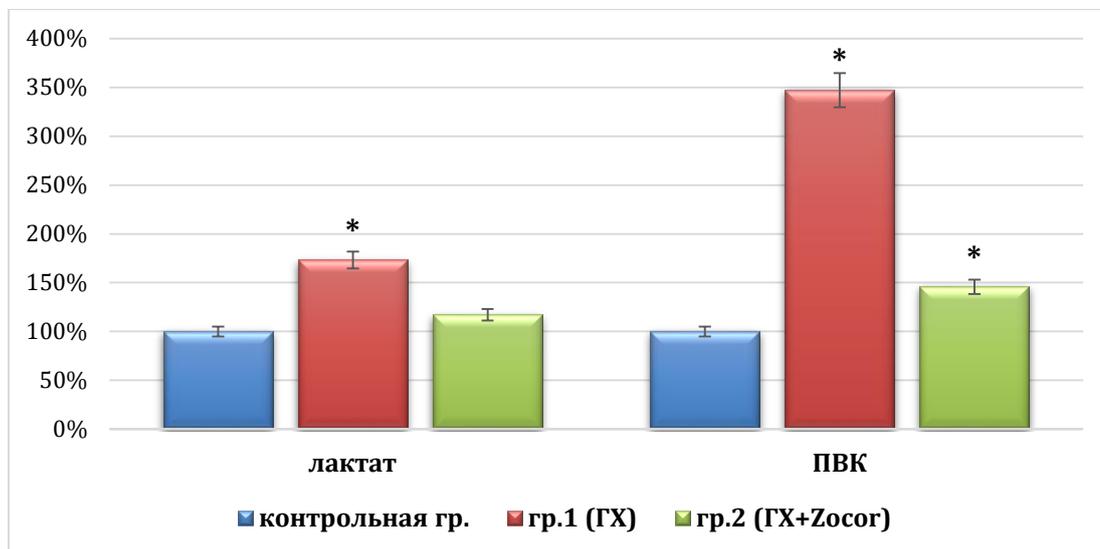


Рисунок 13 – Изменение концентрации метаболитов гликолиза в мышечной ткани животных исследуемых групп

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Полученные нами данные, позволяют предположить, что ингибирование ГМГ-КоА редуктазы, сопровождающееся снижением синтеза эндогенного холестерина (при том же рационе питания), способствовало нивелированию гиперметаболизма глюкозы.

Относительно контрольной группы оставалась увеличенной концентрация ПВК на 45,77% ($p < 0,001$) и сохранилась тенденция к увеличению уровня лактата на 17,17% ($p > 0,05$) (таблица 6, рисунок 13).

Таким образом, можно предположить, что применение симвастатина у животных с экспериментальной гиперхолестеринемией сопровождается уменьшением тяжести гипоксии, что, вероятно, обусловлено ослаблением отрицательного влияния высоких концентраций лактата и ПВК, по сравнению с животными, которые не получали симвастатин.

В тоже время, значительное превышение уровня ПВК, свидетельствует о сохраняющейся дезинтеграции метаболизма на уровне регуляторных ферментов и блокированию вступления ПВК в энергетические циклы, а постепенное истощение энергетического потенциала клетки, на фоне сохраняющегося метаболического ацидоза, провоцирует накопление веществ радикальной природы (Микашинович З.И, Белоусова Е.С., Саркисян О.Г., 2016).

4.2.2. Ферменты антиоксидантной защиты

Супероксиддисмутаза, каталаза

У животных с экспериментальной гиперхолестеринемией (группа 1) в мышечной ткани была выявлена тенденция к повышению активности СОД на 12,11% ($p > 0,05$), на фоне значительного увеличения активности каталазы на 82,66% ($p < 0,001$) (таблица 8, рисунок 14).

Таблица 8 – Активность ферментов СОД, каталаза в мышечной ткани животных исследуемых групп ($M \pm m$).

показатели	контрольная группа, n=35	экспериментальные группы	
		группа 1 (ГХ), n=35	группа 2 (ГХ+Zocor), n=35
супероксиддисмутаза [усл. ед./мг белка]	0,446 ± 0,049	0,500 ± 0,046 $p > 0,05$	0,219 ± 0,024 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
каталаза [мКат/мг белка]	1,494 ± 0,211	2,729 ± 0,162 $p < 0,001$	2,786 ± 0,438 $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы; p_1 – уровень значимости различий относительно показателей группы 1.

По мнению Доценко О.И. и соавторов, рост каталазной активности при сохранении физиологической активности СОД, возможно, связан с активацией пероксисомальных реакций или других параллельных процессов, требующих повышения активности каталазы в клетке (Доценко О.И., Доценко В.А., Мищенко А.М., 2010).

Описанные выше изменения, такие как значительное увеличение каталазы на фоне незначительного увеличения активности СОД, позволяют сделать заключение о том, что именно каталаза берет на себя основную функцию нейтрализации перекисных соединений.

У животных с экспериментальной гиперхолестеринемией (группа 2) введение симвастатина приводило к ингибированию СОД на 56,2% ($p_1 < 0,001$), активность каталазы осталась практически без изменений относительно показателей животных группы 1 (таблица 8, рисунок 14).

В тоже время относительно показателей животных контрольной группы было выявлено значительное снижение активности СОД на 50,89% ($p < 0,001$), тогда как активность каталазы была увеличена на 86,47% ($p < 0,001$) (табл. 8, рис. 14).

Опираясь на полученные данные, можно сделать предположение, что на фоне длительного применения симвастатина наблюдается разбалансировка в работе антиоксидантной пары - супероксиддисмутаза и каталаза. И, несмотря на увеличенную активность каталазы, которую можно рассматривать, как адаптационный механизм, значительное уменьшение активности СОД приведет к образованию свободных радикалов, провоцируя развитие окислительного стресса.

Эти результаты перекликаются с результатами исследований Лакомкина В.Л. и соавторов, согласно которым, в эксперименте при моделировании окислительного стресса, путем введения H_2O_2 , длительное введение крысам статинов приводило к снижению сократительной активности миокарда и характеризовалось его сниженной способностью противостоять действию

окислительного стресса (Лакомкин В.Л., Капелько В.И., Ланкин В.З., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

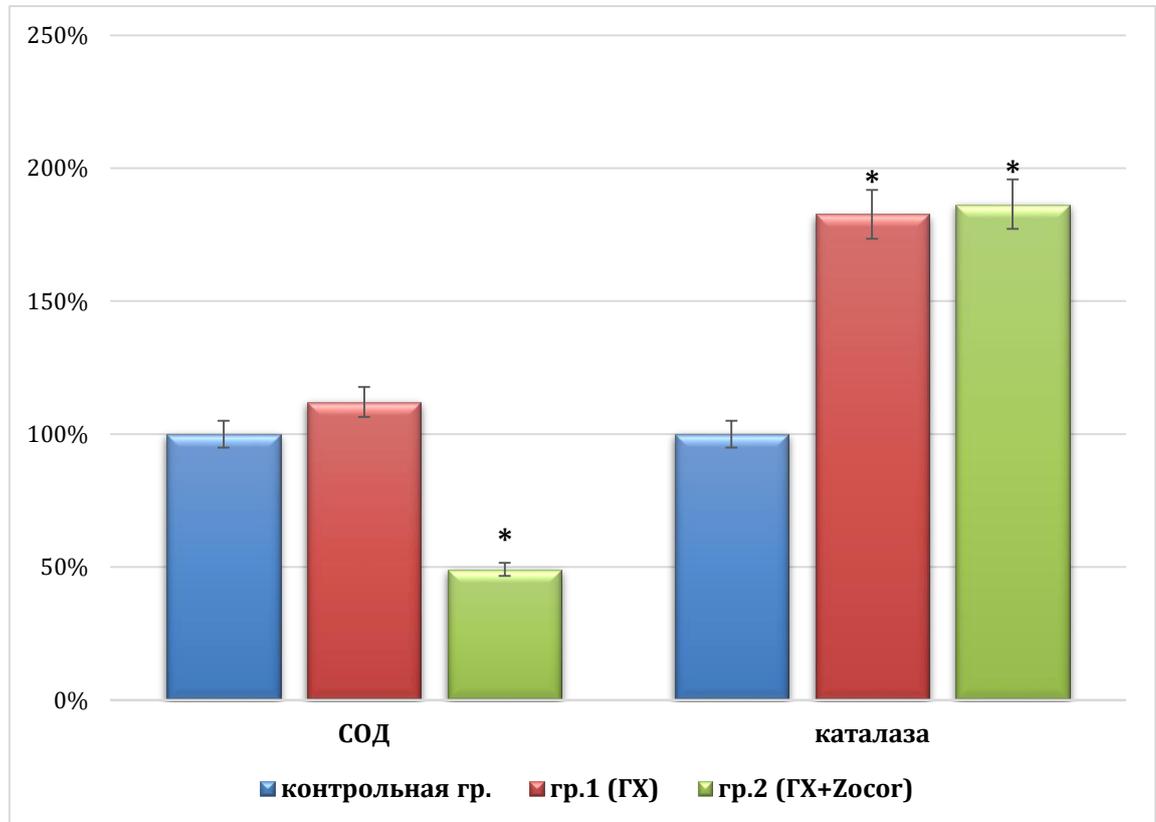


Рисунок 14 – Изменение активности ферментов СОД, каталаза в мышечной ткани животных исследуемых групп.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Важно отметить, что при длительном введении симвастатина животным с индуцированной гиперхолестеринемией наблюдается разбалансировка в работе антиоксидантной пары - супероксиддисмутаза и каталаза, что усугубляет развитие окислительного стресса, признаки которого наблюдались и у животных группы 1.

Система глутатиона

У животных с экспериментальной гиперхолестеринемией (группа 1) были получены следующие результаты: выраженное повышение содержания GSH на 235,36% ($p < 0,001$), при этом активность ГПО снизилась на 49,46%

($p < 0,001$), активность ГР статистически значимо повысилась на 108,69% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы (таблица 9, рисунок 15).

Таблица 9 – Активность ферментов система глутатиона в мышечной ткани животных исследуемых групп ($M \pm m$)

показатели	контрольная группа, n=35	экспериментальные группы	
		группа 1 (ГХ), n=35	группа 2 (ГХ+Zocor), n=35
восстановленный глутатион [мкмоль/мг белка]	28,79 ± 4,187	96,55 ± 7,894 $p < 0,001$	48,44 ± 3,213 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
глутатионпероксидаза [мкмоль/мг белка]	13,04 ± 0,892	6,59 ± 0,554 $p < 0,001$	2,43 ± 0,191 $p_1 < 0,001$ $p < 0,001$
глутатионредуктаза [мкмоль/мг белка]	0,023 ± 0,0042	0,048 ± 0,0030 $p < 0,001$	0,030 ± 0,0029 $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы; p_1 – уровень значимости различий относительно показателей группы 1.

Резкое повышение содержания восстановленного GSH в мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией (группа 1) можно рассматривать как важный адаптационный механизм, направленный на сохранение устойчивости к окислительному стрессу, который формируется в условиях резкого снижения ГПО, что приводит к накоплению окисленных дериватов.

В тоже время, можно полагать, что такие изменения параметров антиоксидантной системы в мышцах в условиях гиперхолестеринемии носят

приспособительный характер, направленный на сохранение антиокислительного потенциала миоцитов.

В результате эксперимента также было установлено, что в группе животных длительное время принимавших симвастатин выявлены статистически значимые изменения активности глутатионзависимых ферментов: ингибирование ГПО на 63,13 % ($p_1 < 0,001$), ГР на 37,5 % ($p_1 < 0,001$) и снижение концентрации GSH на 49,83 % ($p_1 < 0,001$) относительно показателей группы 1 (таблица 9, рисунок 15).

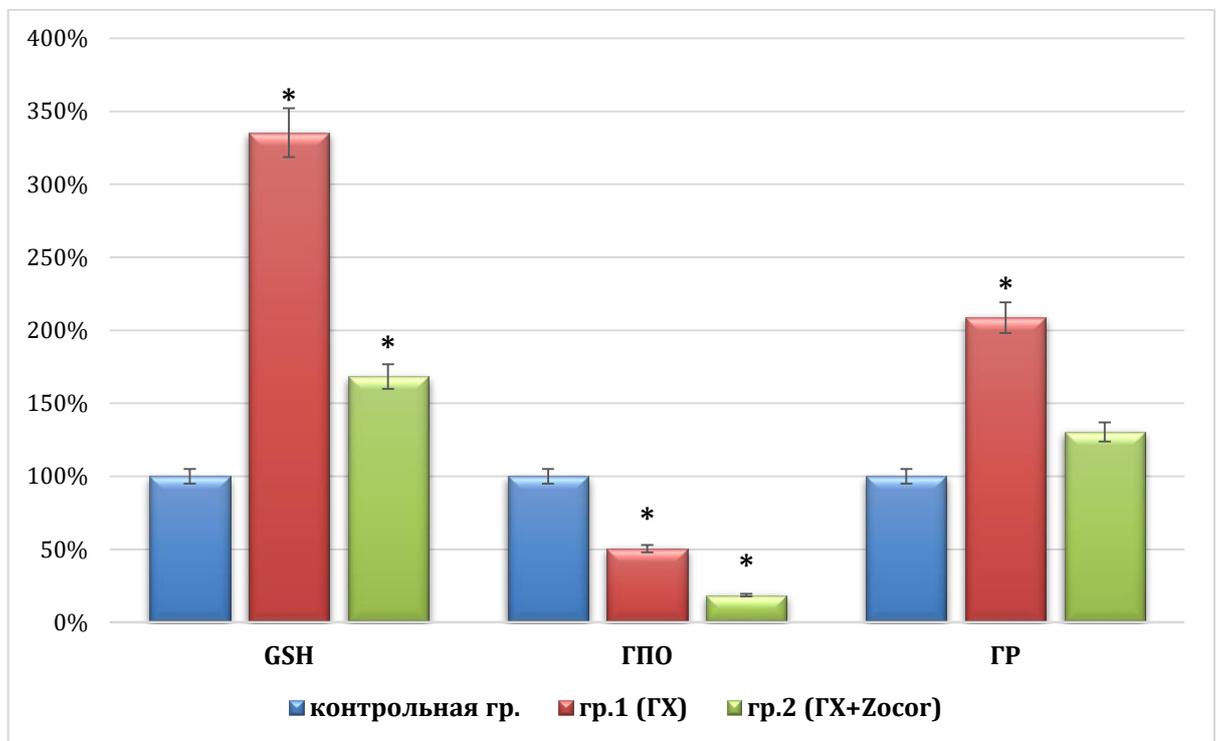


Рисунок 15 – Изменение активности ферментов системы глутатиона в мышечной ткани животных исследуемых групп.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Снижение уровня GSH может быть обусловлено влиянием гипоксии, которая способствует истощению GSH как в цитозоле, так и в митохондриях,

увеличивая оксидативное повреждение (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1993).

Обращает на себя внимание, ингибирование ГПО на 81,37 % ($p < 0,001$), активация ГР на 30,43 % ($p > 0,05$) и повышение концентрации GSH на 68,25 % ($p < 0,001$) относительно показателей контрольной группы, что указывает на снижение адаптивного потенциала глутатионовой системы миоцитов, и нарушение сбалансированной работы ферментов системы глутатиона (таблица 9, рисунок 15).

Резюмируя полученные данные можно отметить, что метаболические изменения в мышечной ткани животных после длительного приема симвастатина при разном функциональном состоянии организма имеют свои особенности. Так в мышцах интактных животных после введения симвастатина наблюдали накопление лактата (дисбаланс в I и II звеньях ферментативной антиоксидантной защиты), что характерно для гипоксического повреждения клеток.

В условиях моделируемой гиперхолестеринемии введение симвастатина, напротив, способствовало снижению тяжести гипоксии, хотя уровень узловых метаболитов оставался повышенным.

Динамика активности антиоксидантных ферментов после введения симвастатина животным с экспериментальной гиперхолестеринемией свидетельствует о прогрессирующем разобщении основных звеньев антиоксидантной защиты.

Полученные данные согласуются с ранее опубликованными работами, указывающими на прооксидантные свойства симвастатина (Ланкин В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

ГЛАВА 5

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ДО И ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СИМВАСТАТИНА

5.1 Интактные животные после длительного введения симвастатина

5.1.1 Метаболиты гликолиза: пируват, лактат, 2,3-дифосфоглицерат

Широко известен тот факт, что эритроциты, вступают в тесные морфофункциональные взаимоотношения со всеми тканями организма и отражают происходящие в организме изменения, как физиологические, так и патологические, своей качественной и количественной перестройкой (Еникеев Д.А., Срубиллин Д.В., Мышкин В.А. [и др.], 2010; Микашинович З.И., Белоусова Е.С., 2013, 2016).

Энергетическое обеспечение эритроцитов зависит от интенсивности гликолиза. Особенностью гликолиза в эритроцитах является существование в них 2,3 – дисфосфоглицератного цикла.

2,3 - дисфосфоглицерат связывается с гемоглобином, понижая сродство последнего к кислороду, т.е. сдвигает кривую диссоциации оксигемоглобина вправо и является регулятором сродства гемоглобина к кислороду. Таким образом, присутствие его в эритроцитах способствует диссоциации кислорода из оксигемоглобина и переходу его в ткани (MacDonald R., 1977).

Результаты наших исследований показали, что применение симвастатина у интактных животных (группа сравнения) вызвало статистически значимое увеличение концентрации 2,3-ДФГ на 97,66% ($p < 0,001$) и лактата на 92,87% ($p < 0,001$), а также снижение концентрации ПВК на 42,81% ($p > 0,05$) относительно контрольной группы (таблица 10, рисунок 16).

Таблица 10 – Концентрация метаболитов гликолиза в эритроцитах интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина ($M \pm m$)

показатели / группы	контрольная группа, n=35	группа сравнения, n=35
лактат [мкмоль/мл плотного осадка]	4,879 ± 0,396	9,41 ± 0,81 p < 0,001
пировиноградная кислота [мкмоль/мл плотного осадка]	2,203 ± 0,734	1,26 ± 0,18 p > 0,05
2,3-дифосфолицерат [мкмоль/мл плотного осадка]	8,14 ± 0,900	16,09 ± 1,66 p < 0,001

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы

Выраженное увеличение концентрации 2,3-ДФГ указывает на снижение сродства гемоглобина к кислороду и формировании гипоксии. Можно предположить, что адаптивная перестройка энергетического гомеостаза эритроцитов при длительном приеме симвастатина у животных, возможно, связана с переключением продукции гликолиза на синтез 2,3-ДФГ, как молекулярного регулятора транспорта кислорода.

Также о развитии гипоксии свидетельствует накопление продукта гликолиза - лактата, которое происходит на фоне снижения концентрации пирувата (таблица 10, рисунок 16). Кроме того, по мнению ряда авторов, резкое увеличение концентрации лактата может свидетельствовать о развитии патологического процесса (Крузе Д.А., 1997).

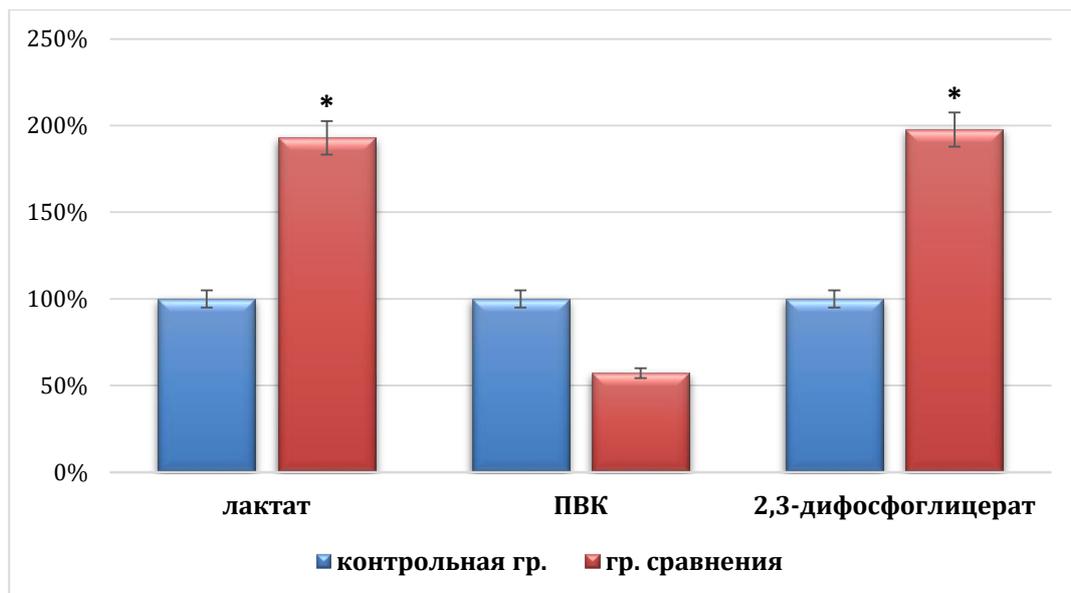


Рисунок 16 – Изменение концентрации метаболитов гликолиза в эритроцитах интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

5.1.2 Ферменты антиоксидантной защиты

Супероксиддисмутаза, каталаза

Одной из особенностей метаболизма эритроцитов является высокая скорость образования свободных радикалов, обусловленная значительным содержанием кислорода. Их токсическое действие предотвращается за счет функционирования мощной системы антиоксидантной защиты. В норме сохраняется баланс между антиоксидантами и прооксидантами (Джалабова М.И., Ломсадзе Б.А., Бурлакова Е.В., 1999)

Учитывая важнейшую роль эритроцитов в механизмах адаптации и компенсации в условиях гипоксии, газотранспортных процессах и других жизненно важных функциях организма, мы провели исследование активности ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах животных исследуемых групп.

В проведенных нами исследованиях в эритроцитах интактных животных после длительного применения симвастатина, были получены следующие результаты: снижение активности СОД и каталазы, на 22,95% ($p>0,05$) и на 13,57% ($p>0,05$) соответственно, относительно контрольной группы (таблица 11, рисунок 17).

Таблица 11 – Активность ферментов СОД, каталазы в эритроцитах интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина ($M\pm m$)

показатели	контрольная группа, n=35	группа сравнения, n=35
супероксиддисмутаза [усл. ед./г Hb]	817,088 ± 85,239	629,56±62,78 $p>0,05$
каталаза [мКат/г Hb]	2,615 ± 0,731	2,26±0,24 $p>0,05$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что снижение активности СОД, и тенденция к снижению активности каталазы вызывает ослабление активности антиоксидантной защиты в эритроцитах животных исследуемой группы, что может являться показателем окислительного стресса (Менабде К.О., Бурджанадзе Г.М., Чачуа М.В. [и др.], 2011).

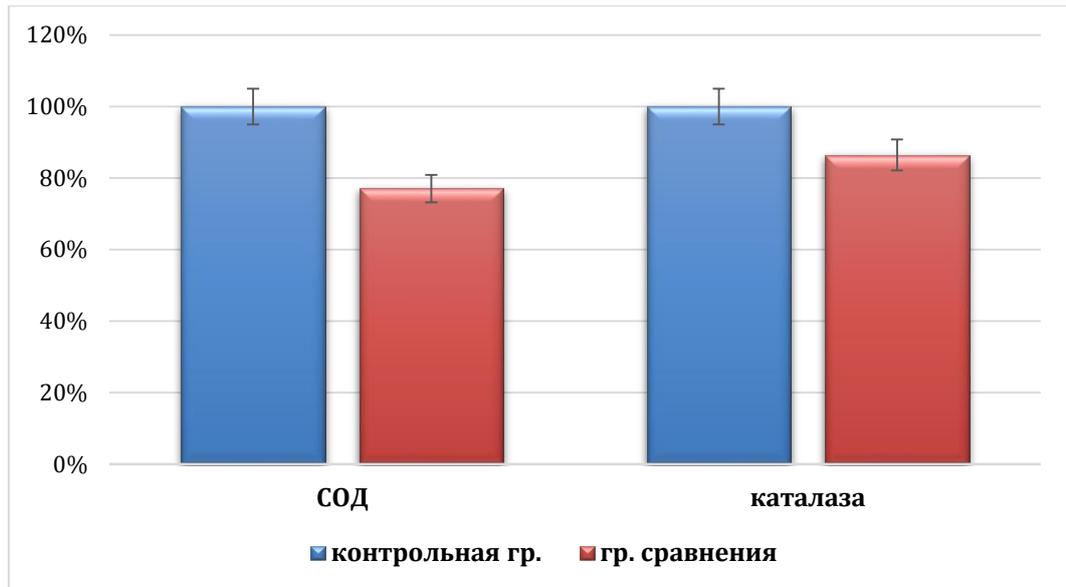


Рисунок 17 – Изменение активности ферментов СОД, каталаза в эритроцитах интактных животных на фоне длительного приема симвастатина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Снижение активности СОД может способствовать повреждению эритроцитов, поскольку данный фермент, выступая мощным ингибитором окислительных процессов, предотвращает гемолиз, способствует поддержанию формы и стабильности мембран эритроцитов (Гуськова Р.А., Виленчик М.М., Кольтовер В.Н., 1980).

Система глутатиона

Известно, что система глутатиона играет исключительную роль в поддержании структурной целостности эритроцитов и в защите гемоглобина от действия разнообразных окислителей, также она оказывает значительное влияние на активность гемоглобина и механизмы регуляции кислородтранспортной функции крови в целом (Лановенко И.И., Гащук А.П., 2012).

При исследовании активности ферментов глутатиона в эритроцитах интактных животных на фоне длительного приема симвастатина было выявлено снижение концентрации GSH на 34,54% ($p > 0,05$) и активности

ГПО на 18,69% ($p>0,05$), в то время как активность ГР статистически значимо увеличилась на 64,54% ($p<0,005$) относительно контрольной группы (таблица 12, рисунок 18).

Таблица 12 – Активность ферментов системы глутатиона в эритроцитах интактных животных, на фоне длительного приема симвастатина ($M\pm m$)

показатели / группы	контрольная группа, n=35	группа сравнения, n=35
восстановленный глутатион [мкмоль/г Hb]	17,185 ± 2,783	11,25 ± 1,11 $p>0,05$
глутатионпероксидаза [мкмоль/г Hb]	14,856 ± 2,676	12,08 ± 0,640 $p>0,05$
глутатионредуктаза [мкмоль/г Hb]	3,92 ± 0,550	6,45 ± 0,640 $p<0,005$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы

Недостаток GSH подвергает клетку риску окислительного повреждения, поскольку сохранение баланса в системе GSH/GSSG является важным показателем ее жизнеспособности (Larsson E., 1983; Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1990).

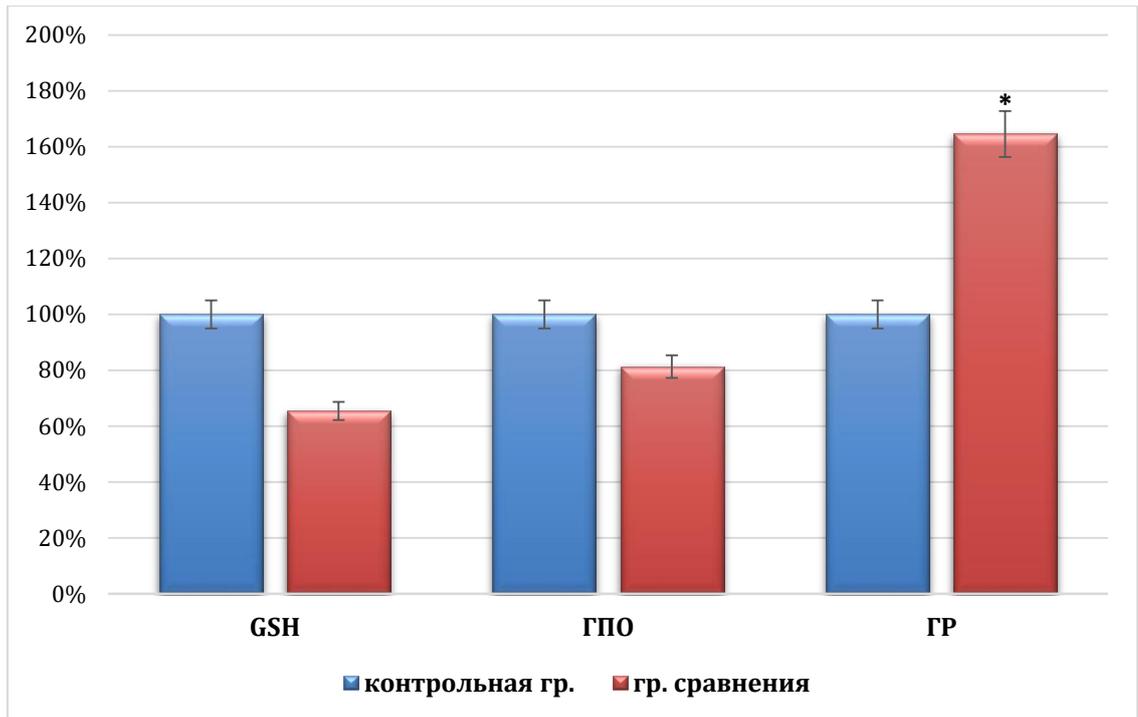


Рисунок 18 – Изменение активности ферментов системы глутатиона в эритроцитах интактных животных на фоне длительного приема симвастатина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Выявленное увеличение активности ГР, очевидно, играет важную роль в развитии адаптивного антиоксидантного ответа, направленного на поддержание уровня GSH.

5.2. Животные с экспериментальной гиперхолестеринемией до и после длительного введения симвастатина

5.2.1. Метаболиты гликолиза: пируват, лактат, 2,3-дифосфолицерат

В эритроцитах животных с индуцированной гиперхолестеринемией (группа 1) было отмечено увеличение концентрации лактата на 42,77% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, а также статистически значимое увеличение на 385,28% ($p < 0,001$) концентрации 2,3-ДФГ - аллостерического регулятора сродства гемоглобина к кислороду, в то время

как концентрация ПВК снизилась на 15,84% ($p>0,05$) (таблица 13, рисунок 19).

Таблица 13 – Концентрация метаболитов гликолиза в эритроцитах животных исследуемых групп ($M\pm m$)

показатели	контрольная группа, n=35	экспериментальные группы	
		группа 1 (ГХ), n=35	группа 2 (ГХ+Zocor), n=35
лактат [мкмоль/мл плотного осадка]	4,879 ± 0,396	6,966 ± 0,898 $p<0,001$	18,243 ± 0,785 $p<0,001$ $p_1<0,001$
пировиноградная кислота [мкмоль/мл плотного осадка]	2,203 ± 0,734	1,854 ± 0,112 $p>0,05$	1,211 ± 0,116 $p>0,05$ $p_1<0,001$
2,3-дифосфолицерат [мкмоль/мл плотного осадка]	8,14 ± 0,900	39,502 ± 5,038 $p<0,001$	46,419 ± 2,981 $p<0,001$ $p_1<0,001$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы; p_1 – уровень значимости различий относительно показателей группы 1.

Такое значительное увеличение концентрации 2,3-ДФГ на фоне увеличения концентрации лактата, свидетельствуют об усилении отдачи кислорода тканям и формировании тканевой гипоксии.

Важно подчеркнуть, что разнонаправленные изменения концентрации ПВК и лактата в эритроцитах животных, получавших симвастатин, могут свидетельствовать о нарушении равновесия между этими метаболитами, что наблюдается при различных патологических состояниях.

После длительного введения животным с экспериментальной гиперхолестеринемией симвастатина, в эритроцитах наблюдалось

достоверное увеличение концентрации лактата на 161,89% ($p_1 < 0,001$) и 2,3-ДФГ на 17,51% ($p_1 < 0,001$), а также уменьшение концентрация ПВК на 34,68% ($p_1 < 0,001$), относительно группы 1 (таблица 13, рисунок 19).

Из таблицы 13 видно, что, относительно контрольной группы в группе 2, было отмечено увеличение концентрации лактата на 273,91% ($p < 0,001$), в тоже время снизилась концентрация ПВК 45,02% ($p > 0,05$).

Особенно следует отметить, значительное увеличение концентрации 2,3-ДФГ на 470,25% ($p < 0,001$). Резкое увеличение содержания 2,3-ДФГ в эритроцитах происходит в условиях выраженной гипоксемии, и направлено на улучшение перехода кислорода в ткани (таблица 13, рисунок 19).

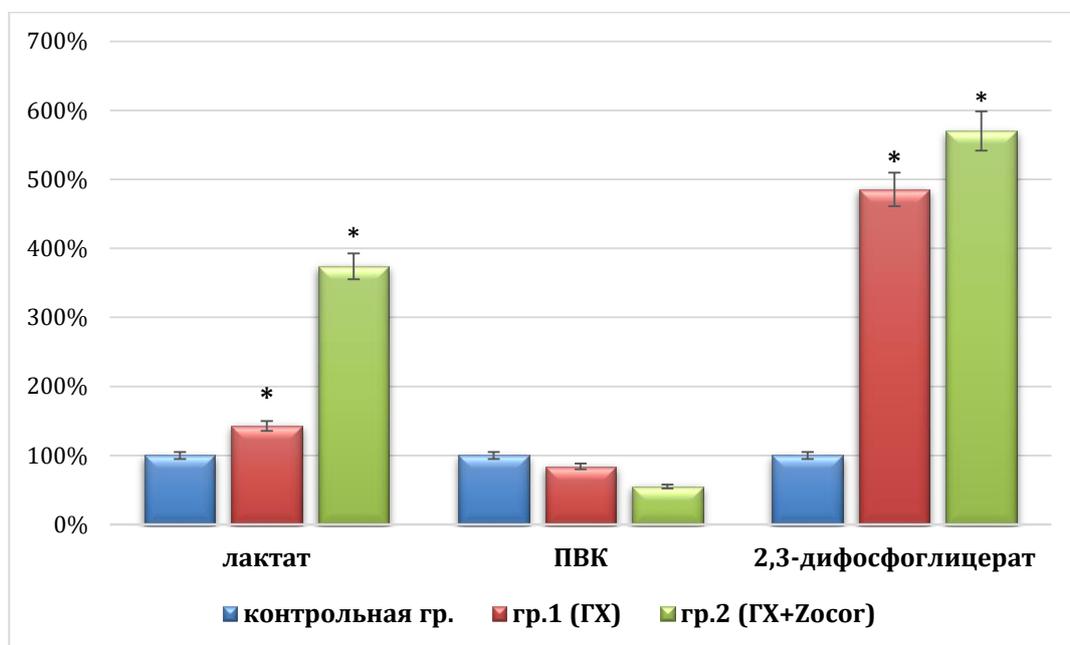


Рисунок 19 – Изменение концентрации метаболитов гликолиза в эритроцитах животных исследуемых групп, на фоне длительного приема симвастатина.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

Существенное увеличение концентрации лактата, на фоне снижения ПВК свидетельствует о развитии метаболического ацидоза, что способствует нарушению работы ферментных систем клетки и формированию

«метаболических блоков» на уровне ключевых метаболитов. Изменение внутриклеточного рН за счет накопления молочной кислоты, является сигналом к активированию механизмов, направленных на продукцию 2,3-ДФГ (Микашинович З.И., Шепотиновский В.И., 1988).

5.2.2. Ферменты антиоксидантной защиты

Супероксиддисмутаза, каталаза

В эритроцитах животных с гиперхолестеринемией (группа 1) было выявлено статистически значимое ингибирование СОД на 60,46% ($p < 0,001$), в то время как активность каталазы существенно повысилась на 143,33% ($p < 0,001$) (таблица 14, рисунок 20).

Таблица 14 – Активность ферментов СОД, каталаза в эритроцитах животных исследуемых групп ($M \pm m$)

показатели \ группы	контрольная группа, n=35	экспериментальные группы	
		группа 1 (ГХ), n=35	группа 2 (ГХ+Zocor), n=35
супероксиддисмутаза [усл. ед./гНб]	817,088 ± 85,239	323,043 ± 90,856 $p < 0,001$	245,583 ± 98,229 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
каталаза [мКат/г Нб]	2,615 ± 0,731	6,363 ± 0,359 $p < 0,001$	3,833 ± 0,243 $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы; p_1 – уровень значимости различий относительно показателей группы 1

Согласно данным литературы, антиоксидантной паре СОД/каталаза, присуще явление перекрёстной регуляции активности (Marklund S.L., 1984), а именно: для каталазы супероксид-анион O_2^- является отрицательным

эффектором, а H_2O_2 положительным, а для СОД – наоборот (Сторожук П.Г., 2003).

Полученные нами разнонаправленные изменения активностей ферментов этой пары, могут рассматриваться, как неблагоприятный фактор, способствующий накоплению потенциально опасных активных форм кислорода.

В эритроцитах животных с гиперхолестеринемией, длительное время получавших симвастатин были получены следующие результаты, а именно, снижение активности СОД на 23,98% ($p_1 < 0,001$) и каталазы на 39,76% ($p_1 < 0,001$), относительно группы 1 (таблица 14, рисунок 20).

Относительно контрольной группы в эритроцитах животных данной группы наблюдалось снижение активности СОД на 69,94% ($p < 0,001$), в то время как активность каталазы, напротив была увеличена 46,58% ($p > 0,05$) (таблица 14, рисунок 20).

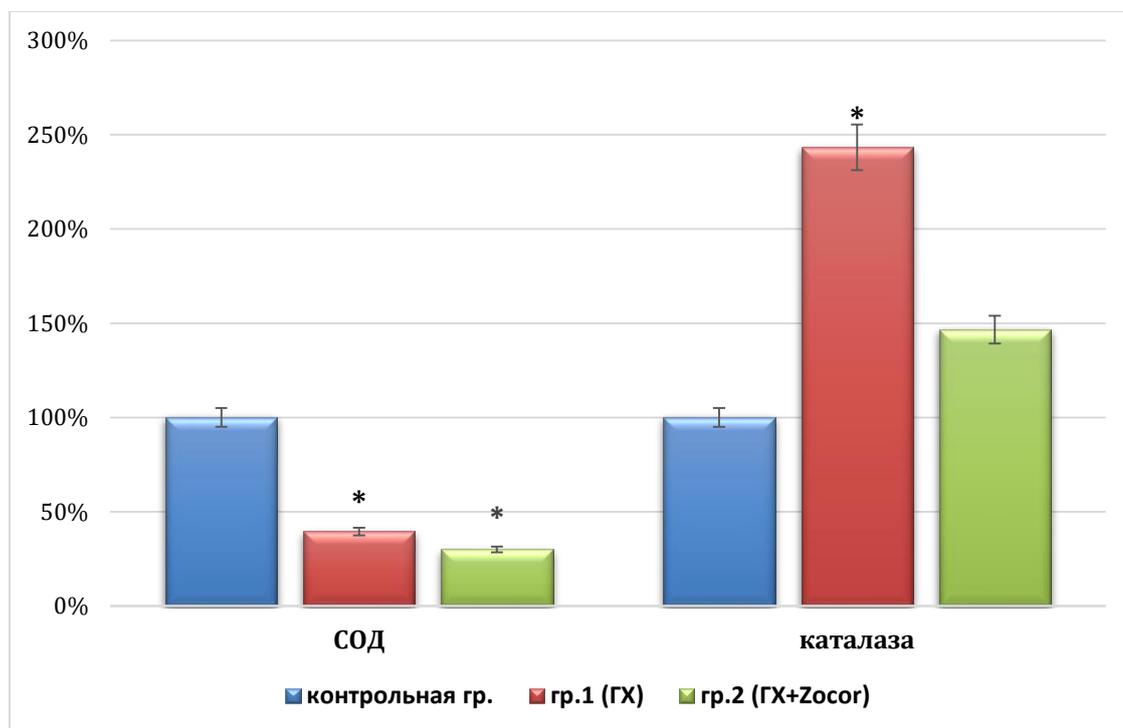


Рисунок 20 – Изменение активности СОД и каталазы в эритроцитах животных исследуемых групп.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

В процессе метаболического превращения «гемоглобин/метгемоглобин» могут образовываться промежуточные продукты, продуцирующие активные формы кислорода, что также объясняет необходимость поддержания активности СОД и каталазы в эритроцитах на высоком уровне (Capel I.D. 1981; Глинских Т.А. Микашинович З.И., Белоусова Е.С., 2013).

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что длительное введение симвастатина способствует усугублению разбалансировки работы антиоксидантной пары - супероксиддисмутаза и каталаза, что, в итоге может привести к развитию окислительного стресса.

Однако тенденция к снижению значительного уровня каталазной активности относительно группы 1, возможно можно рассматривать, как механизм адаптации, направленный на снижение гипоксии (Доценко О.И., Доценко В.А., Мищенко А.М., 2010).

Система глутатиона

В эритроцитах крыс с эссенциальной гиперхолестеринемией (группа 1) было выявлено статистически значимое снижение концентрации GSH на 37,8% ($p < 0,001$), активности ГПО на 83,12% ($p < 0,001$), в то время как активность ГР практически не изменилась относительно контрольной группы (таблица 15, рисунок 21).

В данном случае можно предположить, что при снижении активности ферментов глутатионзависимого звена основная защитная роль принадлежит каталазе, которая обладает меньшим сродством к пероксиду водорода и эффективно удаляет его избыток в случае, повышенной продукции (Зенков Н.К. Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б., 2001).

У животных с экспериментальной гиперхолестеринемией на фоне применения симвастатина были получены следующие результаты: тенденция к снижению концентрации GSH на 9,23% ($p_1 > 0,05$), увеличение активности ГПО на 7,10% ($p_1 > 0,05$) и активности ГР на 47,01% ($p_1 < 0,001$) относительно группы 1 (таблица 15, рисунок 21).

Таблица 15 – Активность ферментов системы глутатиона в эритроцитах животных исследуемых групп ($M \pm m$)

показатели \ группы	контрольная группа, n=35	экспериментальные группы	
		группа 1 (ГХ), n=35	группа 2 (ГХ+Zocor), n=35
восстановленный глутатион [мкмоль/г Hb]	17,185 ± 2,783	10,689 ± 1,787 p<0,001	9,702 ± 0,878 p<0,02 p ₁ >0,05
глутатионпероксидаза [мкмоль/г Hb]	14,856 ± 2,676	2,507 ± 0,381 p<0,001	2,685 ± 0,351 p<0,001 p ₁ >0,05
глутатионредуктаза [мкмоль/г Hb]	3,92 ± 0,550	3,988 ± 0,734 p>0,05	5,863 ± 0,803 p>0,05 p ₁ <0,001

Примечание: p – уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы; p₁ – уровень значимости различий относительно показателей группы 1

В работах Кулинского В.И. и соавторов приводятся данные, что активное функционирование ГПО постепенно приводит к накоплению GSSG и смешанных дисульфидов глутатиона и белка, снижению уровня НАДФН, а при большей выраженности стресса - к снижению уровня GSH, а затем белковых SH. Это приводит к нарушению гомеостаза Ca²⁺ и различных видов мембранного транспорта, активация Ca²⁺-зависимых протеаз, позднее нарушение морфологии мембран, структуры цитоскелета и формы клеток, в итоге лизис клетки (Кулинский В.И., 1993; Кулинский В.И., Щербатых А.В., Большешапов А.А. [и др.], 2008).

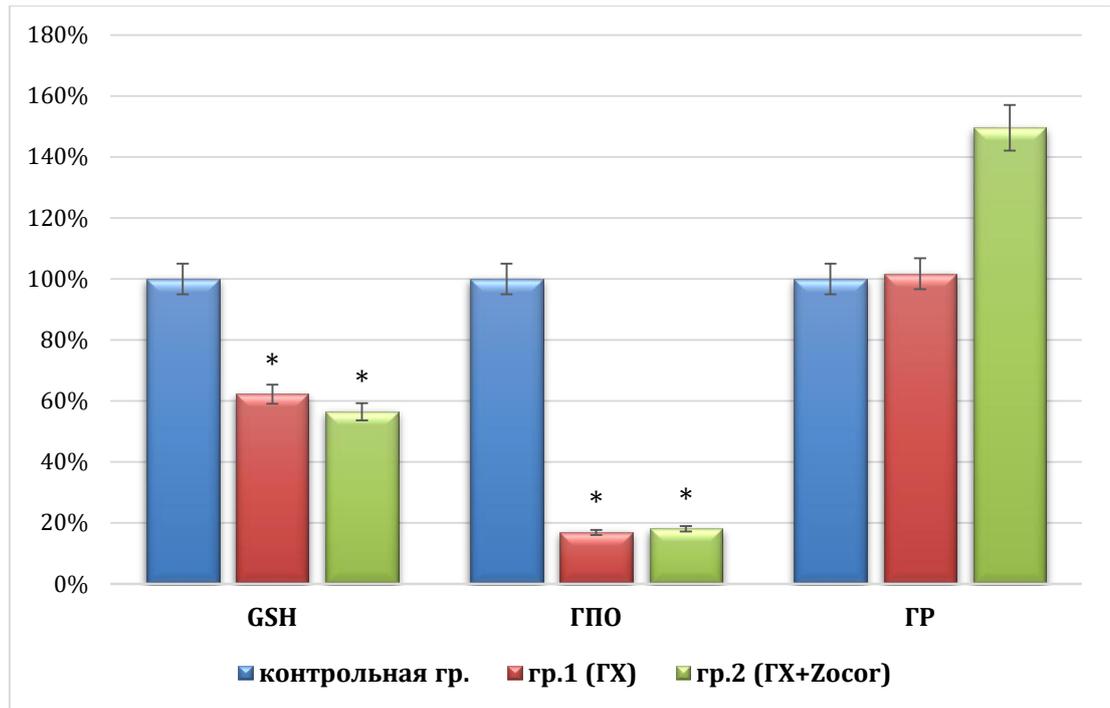


Рисунок 21 – Изменение активности ферментов системы глутатиона в эритроцитах животных исследуемых групп.

Примечание: * - при $p \leq 0,05$ различия относительно контрольной группы статистически значимы

У животных с индуцированной гиперхолестеринемией на фоне длительного приема симвастатина, относительно контрольной группы наблюдались изменения активности ферментов системы глутатиона, аналогичные группе 1: снижение концентрации GSH на 43,54% ($p < 0,02$), статистически значимое снижение активности ГПО на 81,93% ($p < 0,001$) и повышение активности ГР на 49,56% ($p > 0,05$), относительно контрольной группы (таблица 15, рисунок 21).

Сохранение низкой активности СОД и ГПО, а также низкого уровня GSH свидетельствует о снижении мощности антиоксидантной защиты эритроцитов в целом. Повышенная активность ГР, с одной стороны, может быть обусловлена высокой «метаболической» устойчивостью данного фермента. С другой стороны это может привести к постепенному истощению

пула восстановленных коферментов и развитию перекисного гемолиза эритроцитов.

Характер изменения основных антиоксидантных ферментов после длительного введения симвастатина подтверждает выдвинутый ранее тезис о прооксидантных свойствах статинов I и II поколения (Ланкин В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

При проведении анализа фактического материала, представленного в главе, установлено, что независимо от исходного функционального состояния животных длительное введение симвастатина способствует накоплению лактата и 2,3-ДФГ, а также снижению уровня ПВК.

Выявленные изменения свидетельствуют, что прием агрессивной дозы симвастатина способствует формированию тканевой гипоксии, поскольку уровень 2,3-ДФГ является чувствительным индикатором, информативно отражающим степень напряжения кислородного обеспечения тканей и органов. В условиях изменения тканевой утилизации кислорода накопление 2,3-ДФГ обеспечивает формирование модуляционного типа адаптации к гипоксии, что нашло отражение в сдвиге кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и усилении отдачи кислорода.

Накопление лактата обуславливает развитие лактоацидоза и уменьшает скорость метаболизма глюкозы за счет снижения активности гексокиназы.

Поскольку энергетические потребности эритроцитов полностью обеспечиваются за счет анаэробного окисления глюкозы, то выявленные изменения могут рассматриваться как один из важнейших механизмов, лежащих в основе изменения структурно-функционального состояния эритроцитов при длительном приеме агрессивных доз статинов. Гипоксический стимул приводит к активации механизмов гликолиза.

Введение симвастатина как интактным животным, так и животным с экспериментальной гиперхолестеринемией, способствует снижению мощности антиоксидантной системы за счет выраженного уменьшения

активности СОД, ГПО и концентрации GSH. Полученные изменения отражают прооксидантное действие симвастатина. Снижение активности основных антиоксидантных ферментов способствует окислительной модификации компонентов клеточной мембраны эритроцитов, искажению сигнальной роли АФК и усугубляет дезрегуляторные изменения внутри клетки.

Выявленные сдвиги в системе белков, обеспечивающих функциональную состоятельность мышечных тканей в сочетании с изменениями в метаболическом обеспечении этих процессов ставят вопрос об их взаимосвязях и взаимозависимости, что важно для понимания как теоретических, так и практических аспектов разрабатываемой темы.

ГЛАВА 6

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ИНФОРМАТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ УГЛЕВОДНО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА, АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И СТРУКТУРНЫХ БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Задачей данной главы является выяснение закономерностей между показателями углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и структурными белками мышечной ткани у животных на фоне длительного применения симвастатина, способствующих повышению точности диагностики статиновой миопатии, а также разработки системы прогнозирования развития данного побочного эффекта.

В ходе исследования обнаружены положительные корреляционные зависимости между следующими показателями:

- ✓ содержанием NT – изоформы титина и активностью ГР;
- ✓ содержанием NT – изоформы титина и активностью СОД.

Одновременно отмечены отрицательные корреляционные зависимости между показателями:

- ✓ содержанием N2A-изоформы титина и уровнем лактата;
- ✓ содержанием T2-протеолитического фрагмента титина и уровнем лактата.

Для таких параметров, как содержание NT – изоформы титина и активность ГР в мышечной ткани животных с индуцированной гиперхолестеринемией на фоне длительного применения симвастатина наблюдалась линейная умеренная прямая корреляционная зависимость $r=0,39$ при $p=0,02$, с уровнем значимости $p \leq 0,05$, (рисунок 22).

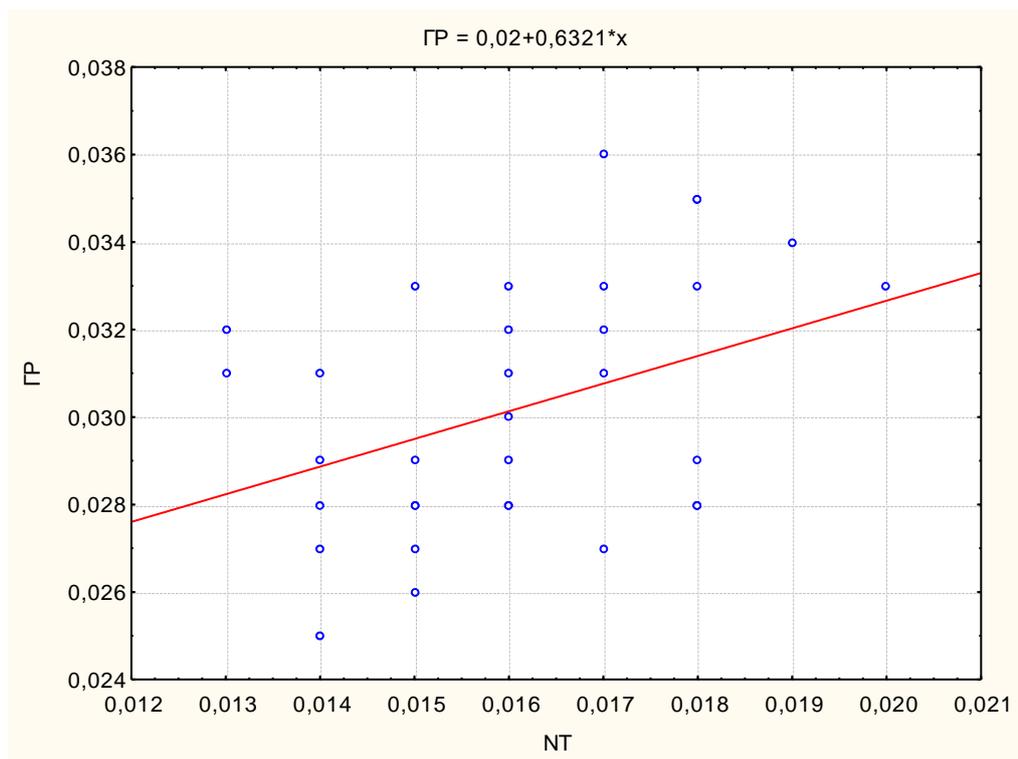


Рисунок 22 – Корреляционные взаимоотношения показателей: содержание NT-изоформ титина и активность ГР в мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией на фоне применения симвастатина

Для параметров: содержание NT – изоформы титина и активность СОД в мышечной ткани наблюдалась линейная умеренная прямо пропорциональная корреляция $r=0,34$ при $p=0,05$ (уровень значимости $p \leq 0,05$), (рисунок 23).

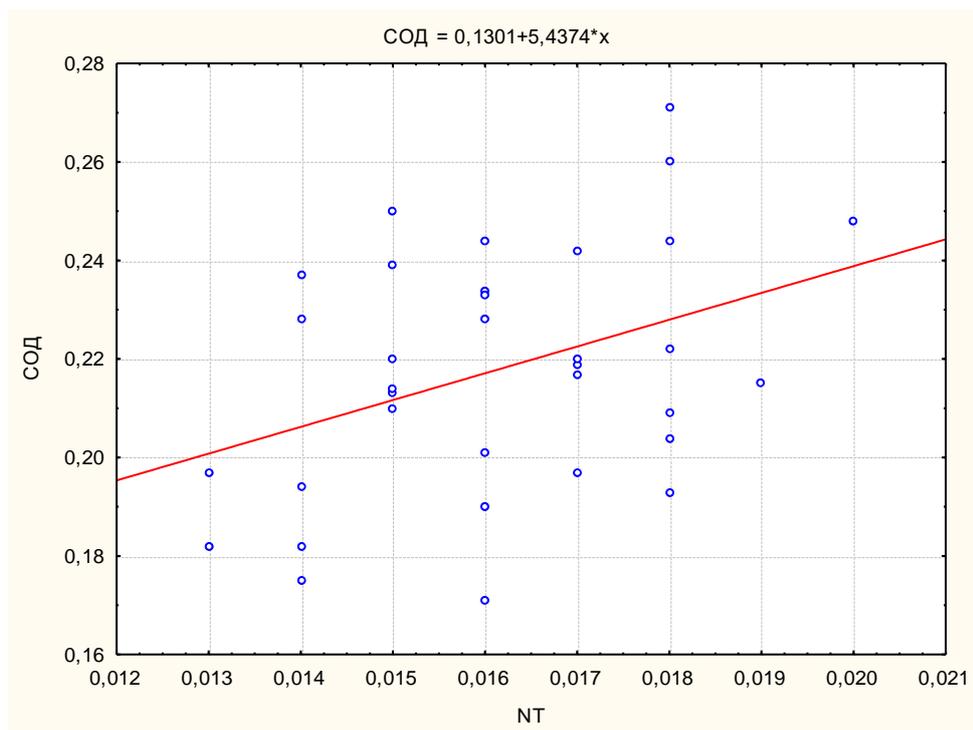


Рисунок 23 – Корреляционные взаимоотношения показателей: содержание NT-изоформ титина и активность СОД в мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией на фоне применения симвастатина

У животных на фоне длительного применения симвастатина для параметров: содержание N2A-изоформы титина и уровень лактата в мышцах отмечена линейная слабая обратно пропорциональная корреляционная зависимость $r = -0,29$ при $r = 0,10$, с уровнем значимости $p \leq 0,05$, (рисунок 24).

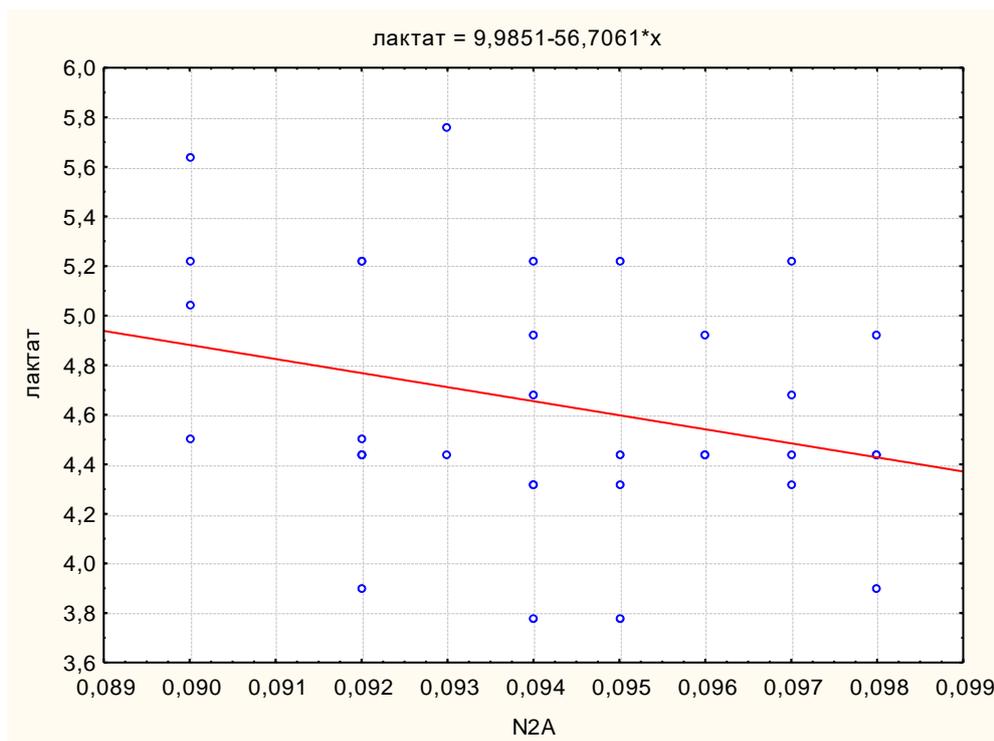


Рисунок 24 – Корреляционные взаимоотношения показателей: содержание N2A-изоформ титина и уровень лактата в мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией на фоне применения симвастатина

А для параметров таких, как содержание протеолитического фрагмента T2 и уровень лактата в мышечной ткани наблюдалась линейная умеренная обратная корреляция $r = -0,35$ при $p = 0,04$ (уровень значимости $p \leq 0,05$), (рисунок 25).

Обнаруженные достоверные корреляции между отдельными показателями углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и показателями, отражающими функциональное состояние титина, свидетельствуют о перспективности определения наиболее информативных показателей: активности ГР, СОД и концентрации лактата в биоптатах мышечной ткани у пациентов со статиновой миопатией.

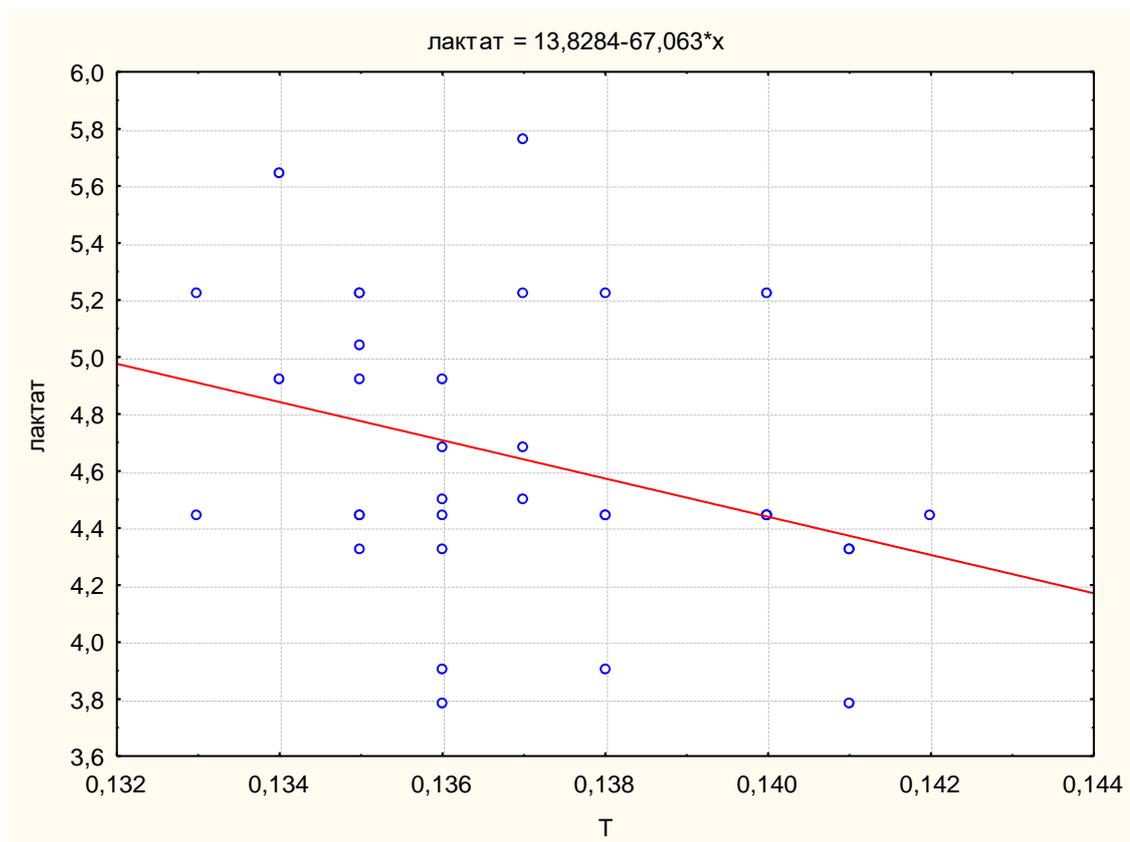


Рисунок 25 – Корреляционные взаимоотношения показателей: содержание протеолитического фрагмента T2 и уровень лактата в мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией на фоне применения симвастатина

Однонаправленные изменения активности ГР, СОД с содержанием NT – изоформы титина, а также обратно пропорциональная корреляционная зависимость уровня лактата и содержания N2A-изоформ титина позволяет расширить диагностические возможности при исследовании биопсийного материала, а также обеспечить экспрессность проводимого исследования, поскольку определение изоформ титина является достаточно трудоемким и длительным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные исследования, проведенные отечественными и зарубежными учеными убедительно доказывают необходимость гиполипидемической терапии для уменьшения риска сердечно-сосудистых осложнений и снижения общей смертности (Bruckert E., Ferrieres J., 2014; Смирнова М.Д., Агеев Ф.Т., 2017; Бойцов С.А., Погосова Н.В., Бубнова М.Г., Драпкина О. М. [и др.], 2018).

Известно, что ведущую позицию среди гиполипидемических препаратов сегодня уверенно занимают статины. В отношении прогноза сердечно-сосудистых патологий данная группа лекарственных препаратов продемонстрировала свою эффективность в ряде крупных клинических исследований (Ohsfeldt R.L., 2006; Steinberg D., 2006; Мишланов В.Ю., Туев А.В., Черешнев В.А, 2018). Первым таким препаратом данной фармакологической группы стал Zocor® (оригинальный симвастатин) (Сусеков А.В. [и др.], 2001, 2005; Mihaylova B., Briggs A., Armitage J. [et al.], 2006; Fattah T.A., Saeed A., Shehzadi S.A., 2019).

Однако, при приеме статинов, возникает риск развития такого серьезного побочного эффекта, как токсическое воздействие на мышечную ткань, а именно статиновой миопатии.

Исследования показывают, что при монотерапии статинами, частота ее возникновения составляет 1:1000 (Карпов Ю.А. 2005, Grundy S.M., 2005). Однако, по статистике, симптомы поражения мышц отмечают 7-29% пациентов (Stroes E.S., Thompson P.D., Corsini A. [et al.], 2015; Зыков М.В., 2019), принимающих статиновую терапию. Если при появлении мышечных симптомов лечение статинами продолжить, развивается острая деструкция мышц - рабдомиолиз (Tomaszewski M., Stępień K.M., Tomaszewska J., Czuczwar S.J., 2011).

А учитывая, что терапия статинами зачастую является высокодозовой, и как правило, пожизненной, то данная проблема является весьма актуальной. Тем не менее, приходится констатировать тот факт, что единого мнения о механизмах развития статиновой миопатии на сегодняшний день не существует.

В связи с чем, представляется актуальным проведение экспериментальных исследований, позволяющих расширить представление о молекулярных механизмах, лежащих в основе поражения мышц. Исходя из вышеизложенного, было проведено комплексное исследование, включающее в себя выяснение особенностей перестройки метаболических реакций, обеспечивающих кислородтранспортную функцию крови, а также ферментативных антиоксидантных процессов в клетках крови и скелетной мускулатуре животных с гиперхолестеринемией до и после длительного приёма статинов, а также выявлена взаимосвязь перестройки обменных процессов и изменения ультраструктуры миоцитов.

Мышцы

Согласно последним данным, в развитии атрофического процесса в скелетных мышцах ключевую роль играют структурные белки саркомера – титин и небулин. При этом патологическом процессе в результате протеолиза происходит снижение содержания этих белков, что приводит к ухудшению сократительной способности и эластических свойств мышечного волокна (Gregorio C.C., Trombitas K., Centner T. [et al.], 1998).

В результате выполненных исследований, установлено, что у животных на фоне длительного применения симвастатина в *m.biceps* произошли изменения качественного и количественного состава титина и небулина, по сравнению с животными, которым симвастатин не вводили.

Исследования показали, что длительное применение симвастатина у животных с индуцированной гиперхолестеринемией этой группы, вызывало снижение содержания NT-изоформы титина ниже 0,019 и N2A-изоформы

титина до 0,095 и ниже. Кроме того, на фоне применения симвастатина у животных в мышечной ткани отмечено увеличение содержания протеолитического фрагмента T2 в 1,2 раза, а также полное отсутствие небулина относительно животных, которым лекарственный препарат не вводили. Опираясь на запатентованные "Способ моделирования миопатии" (№2632624 от 06.10.2017г.) и "Способ диагностики миопатии в эксперименте" (№2625743 от 18.07.2017г.) у исследуемых животных можно диагностировать миопатию.

Эти выводы подтверждаются исследованиями, проведенными в ИТЭБ РАН, г. Пущино, которые доказали, что дистрофические процессы в скелетных мышцах сопровождаются уменьшением содержания изоформ титина N2A, снижением содержания и разрушением более высокомолекулярной NT-изоформы и увеличением содержания протеолитических фрагментов титина T2. Отсутствие небулина на электрофореграмме свидетельствует о дезрегуляции актин-миозинового взаимодействия и дестабилизации актиновых нитей (Вихлянцев И.М., 2011).

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что длительное применение симвастатина у животных исследуемых групп приводит к протеолитической деградации структурных белков саркомера – титина и небулина, наблюдаемой при мышечной атрофии (Вихлянцев И.М., 2011). Таким образом, изменение уровня мышечных белков - титина и небулина в биопсийном материале может нести информацию о мышечной дистрофии.

Выявленные структурные сдвиги явились основанием для выяснения молекулярных механизмов формирования миопатии и поиска маркеров для диагностики статиновой миопатии. Для решения этих вопросов был проведен анализ динамики показателей, отражающих состояние энергетического обмена клетки, активности основных ферментативных антиоксидантов в скелетной мускулатуре и эритроцитах животных с гиперхолестеринемией до и после приёма статинов.

Известно, что уровень конечных продуктов гликолиза пирувата и лактата, отражает эффективность утилизации молекулярного кислорода при внутриклеточном метаболизме.

Длительное введение симвастатина интактным животным и животным с индуцированной гиперхолестеринемией вызвало разнонаправленные изменения концентрации метаболитов гликолиза в мышечной ткани.

У интактных животных на фоне применения симвастатина было отмечено значительное увеличение лактата на 157,03% ($p < 0,001$) и снижение концентрации ПВК ($p < 0,001$). Такое резкое повышение уровня лактата может свидетельствовать о гипоксии мышечных клеток. Кроме того, согласно данным литературы, лактат является ингибитором СОД, фермента антиоксидантной системы, то есть значительное накопление лактата, ослабляет защиту клеток от свободно-радикального окисления. (Колотьева Н.А. [и др.], 2016).

Нельзя не отметить, что статистически значимое повышение уровня лактата на фоне снижения пирувата, может приводить к нарушению двигательной активности животных, за счет инактивации ферментов, регулирующих мышечное сокращение (Минигалин А.Д., Шумаков А.Р., Баранова Т.И. [и др.], 2011; Huang J., Du J., Lin W., Long Z. [et al.], 2019).

Применение симвастатина у животных с индуцированной гиперхолестеринемией вызвало синхронное снижение концентрации метаболитов гликолиза: лактата и ПВК ($p_1 < 0,001$), относительно группы животных с гиперхолестеринемией, не получавших симвастатин. А относительно контрольной группы наблюдалось увеличение концентрации ПВК ($p < 0,001$) и тенденция к увеличению уровня лактата ($p > 0,05$).

Таким образом, можно полагать, введение симвастатина животным с гиперхолестеринемией способствовало снижению тяжести гипоксии, по сравнению с животными, у которых не применялся симвастатин, что вероятно носит адаптационное значение, и связано с уменьшением

негативного влияния высоких концентраций лактата и ПВК. Однако, относительно животных контрольной группы, уровень метаболитов гликолиза оставался повышенным, что свидетельствует о дезинтеграции метаболизма и провоцирует накопление веществ радикальной природы (Микашинович З.И, Белоусова Е.С., Саркисян О.Г., 2016).

Показано, что развитие патологических процессов, как правило, сопровождается усилением образования активных форм кислорода и свободных радикалов, которые вступают в различные химические реакции. В результате которых происходит деструкция клеточных структур и биомолекул, что при несостоятельности работы системы АОЗ может привести к гибели организма (Доценко О.И., Доценко В.А., Мищенко А.М., 2010).

Проведенные нами исследования выявили дисбаланс основных звеньев системы АОЗ, в том числе и антиоксидантной пары СОД/каталаза. Так, применение симвастатина у животных разных групп вызывало синхронное снижение активности СОД и разнонаправленные изменения активности каталазы относительно групп животных, не получавших статины.

Введение симвастатина интактным животным вызвало снижение СОД ($p < 0,001$) и каталазы ($p > 0,05$), относительно контрольной группы, что является показателем снижения антиоксидантного потенциала миоцитов.

Введение симвастатина животным с экспериментальной гиперхолестеринемией способствовало снижению активности СОД ($p_1 < 0,001$), активность каталазы осталась практически без изменений относительно показателей животных, не получавших симвастатин, тогда как относительно показателей животных контрольной группы было выявлено значительное снижение активности СОД ($p < 0,001$), а активность каталазы была увеличена ($p < 0,001$).

Полученные результаты свидетельствуют о разбалансировке в работе антиоксидантной пары - супероксиддисмутаза и каталаза. Значительное

уменьшение активности СОД приведет к образованию свободных радикалов, провоцируя развитие окислительного стресса, несмотря на увеличенную активность каталазы, которую можно рассматривать как адаптационный механизм.

Результаты наших исследований нашли подтверждение в работах В.Л. Лакомкина и др., согласно которым статины обладают прооксидантным действием, о чем свидетельствует повышение окисляемости биомембран и снижение сократительной активности миокарда в эксперименте при моделировании окислительного стресса, путем введения пероксида водорода. (Лакомкин В.Л., Капелько В.И., Ланкин В.З., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

Система глутатиона играет важную роль в антиоксидантной защите. Определение активности глутатионзависимых ферментов в мышечной ткани животных на фоне длительного применения симвастатина показало нарушение сбалансированной работы ее ферментов.

Обращает на себя внимание снижение активности ГПО на фоне применения симвастатина у всех групп животных, которая предотвращает избыточное накопление реактивных метаболитов O_2 и вторичных продуктов пероксидации, вызываемых, в том числе многими ксенобиотиками. (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1993, 2009).

Введение симвастатина интактным животным, привело к статистически незначимому повышению концентрации GSH ($p>0,05$), увеличению активности ГР ($p<0,05$), а также снижению активности ГПО ($p<0,001$). Показано, что увеличение активности ГР играет важную роль в развитии адаптивного антиоксидантного ответа, направленного на поддержание уровня GSH (Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р. [и др.], 2010)

Длительное применение симвастатина у животных с гиперхолестеринемией привело к значительным изменениям активности глутатионзависимых ферментов: резкое снижение активности ГПО и ГР

($p_1 < 0,001$) и концентрации GSH ($p_1 < 0,001$) относительно показателей животных, не принимавших симвастатин. Снижение уровня GSH может быть обусловлено влиянием гипоксии, которая способствует истощению GSH как в цитозоле, так и в митохондриях, увеличивая оксидативное повреждение (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1993).

Относительно показателей контрольной группы активность ГПО была снижена ($p < 0,001$), повышены активности ГР ($p > 0,05$) и концентрация GSH ($p < 0,001$), что указывает на нарушение сбалансированной работы ферментов системы глутатиона, и превалированию реакций адаптивной направленности.

Для выяснения закономерностей между показателями углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и структурными белками мышечной ткани у животных на фоне длительного применения симвастатина был проведен корреляционный анализ. В результате были выявлены положительные корреляционные зависимости между следующими показателями: содержанием NT – изоформы титина и активностью ГР; содержанием NT – изоформы титина и активностью СОД. Также были отмечены отрицательные корреляционные зависимости между показателями: содержанием N2A-изоформы титина и уровнем лактата; содержанием T2-протеолитического фрагмента титина и уровнем лактата.

Анализ изменения исследуемых параметров позволяет четко определить наиболее информативные показатели (активности ГР, СОД и концентрации лактата) в биоптатах мышечной ткани у пациентов со статиновой миопатией.

Эритроциты

Показано, что эритроциты в организме играют полифункциональную роль и являются неспецифическим показателем, который отражает его морфофункциональное состояние (Микашинович З.И., 1989).

Эти высокоспециализированные клетки крови играют значительную роль в механизмах адаптации, компенсации в условиях гипоксии и многих других жизненно важных процессах. Поэтому изучение функциональных изменений

в эритроцитах является высоко информативным показателем состояния всего организма (Теплый Д.Д., 2009; Доценко О.И., Доценко В.А., Мищенко А.М., 2010; Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Саркисян О.Г., Лосева Т.Д., 2019).

Известно, что эритроциты лишены митохондрий, поэтому главным путем удовлетворения их энергетических потребностей является гликолиз, особенностью которого является наличие шунта, который приводит к образованию 2,3-дифосфоглицерата – одного из регуляторов переноса кислорода.

Исследования показали, что длительное введение симвастатина привело к однонаправленным изменениям показателей метаболитов гликолиза в эритроцитах как у интактных животных, так и у животных с индуцированной гиперхолестеринемией. Отмечалось увеличение концентрации 2,3-ДФГ и лактата, а также снижение концентрации ПВК относительно групп животных, которым симвастатин не вводили. Такие результаты свидетельствуют о развитии гипоксии на фоне применения симвастатина: накопление продукта гликолиза - лактата, которое происходит на фоне снижения концентрации пирувата, а также увеличение концентрации 2,3-ДФГ, которое указывает на снижение сродства гемоглобина к кислороду.

Важно отметить, что относительно контрольной группы у животных с индуцированной гиперхолестеринемией применение симвастатина привело к резкому увеличению концентрации 2,3-ДФГ на 470,25% ($p < 0,001$) и лактата на 273,91% ($p < 0,001$). Такое резкое увеличение содержания 2,3-ДФГ в эритроцитах свидетельствует о выраженной гипоксии и направлено на улучшение снабжения тканей кислородом. А значительное увеличение концентрации лактата, на фоне снижения ПВК свидетельствует о развитии метаболического ацидоза.

В эритроцитах постоянно образуется большое количество АФК, благодаря высокому содержанию кислорода. Протекание многих

патологических процессов в организме проявляется в первую очередь нарушением сбалансированной работы системы АОЗ.

В эритроцитах животных всех групп, которым вводили симвастатин, были получены результаты, доказывающие ослабление активности антиоксидантной защиты в эритроцитах, что может рассматриваться как показатель снижения адаптивного потенциала клетки.

Так, в эритроцитах интактных животных и животных с индуцированной гиперхолестеринемией на фоне применения симвастатина выявлены синхронные изменения показателей относительно групп животных, не получавших лекарственный препарат: снижение активности СОД и каталазы.

Снижение активности СОД может способствовать повреждению эритроцитов, поскольку данный фермент, ингибируя окислительные процессы, предотвращает гемолиз, способствует поддержанию формы и стабильности мембран эритроцитов (Гуськова Р.А., Виленчик М.М., Кольтовер В.Н., 1980). А снижение каталазной активности можно рассматривать, как механизм адаптации, направленный на снижение гипоксии (Доценко О.И., Доценко В.А., Мищенко А.М., 2010).

Относительно контрольной группы в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией, длительное время получавших симвастатин были получены следующие результаты: активность СОД была снижена ($p < 0,001$), а активности каталазы, напротив увеличена ($p > 0,05$). Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что длительное введение симвастатина способствует усугублению разбалансировки работы антиоксидантной пары - супероксиддисмутаза и каталаза, что, в итоге может привести к развитию окислительного стресса.

При исследовании активности ферментов обмена глутатиона у животных на фоне длительного применения симвастатина было выявлено снижение концентрации GSH. Недостаток GSH подвергает клетку риску окислительного повреждения, поскольку сохранение баланса в системе

GSH/GSSG является важным показателем ее жизнеспособности (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1990; J. Bouitbir, F. Singh, A.-L. Charles, A.-I. Schlagowski [et al.], 2016).

Также во всех группах было отмечено статистически значимое увеличение активности ГР. Выявленное увеличение активности ГР, очевидно, играет важную роль в развитии адаптивного антиоксидантного ответа, направленного на поддержание уровня GSH. Изменение активности ГПО носило разнонаправленный характер, но у интактных животных и у животных с гиперхолестеринемией применение симвастатина относительно контрольной группы вызывало снижение активности ГПО. Характер изменения основных антиоксидантных ферментов после длительного введения симвастатина подтверждает выдвинутый ранее тезис о прооксидантных свойствах статинов I и II поколения (Ланкин В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г. [и др.], 2007).

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что в основе миотоксичности статинов лежит сложный комплекс структурно-функциональных изменений в мышечной ткани, характеризующейся развитием тканевой гипоксии, снижением адаптивного потенциала клетки и истощением неспецифических защитных реакций, что запускает каскад изменений, приводящих к деградации мышечных белков и в конечном итоге к функциональной неполноценности саркомера (рисунок 26).



Рисунок 26 – Структурно-функциональные и метаболические изменения в эритроцитах и мышечной ткани, обусловленные длительным применением симвастатина

Полученные данные позволяют полагать, что для повышения эффективности и безопасности терапии с применением агрессивных доз статинов целесообразным является включение в схемы терапии препаратов, обладающих антигипоксантами и антиоксидантными эффектами.

Таким образом, на основании представленного фактического материала можно сделать следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Выявленное в эксперименте снижение уровня титина и небулина в мышечной ткани животных после длительного применения симвастатина является информативным показателем, который отражает наличие дистрофических изменений в мышцах и указывает на развитие миопатии. На основании полученных результатов исследования разработаны "Способ диагностики миопатии в эксперименте" (патент на изобретение №2625743 18.07.2017г.) и "Способ моделирования миопатии" (патент на изобретение №2632624 от 06.10.2017г.).

2. Введение симвастатина интактным животным способствовало накоплению лактата и снижению уровня ПВК в эритроцитах и мышцах, что в сочетании с повышением уровня 2,3-ДФГ в эритроцитах, свидетельствует об активации гликолитических процессов и изменении кислородного потенциала клеток.

3. В условиях моделируемой гиперхолестеринемии введение симвастатина способствовало уменьшению гипоксических сдвигов в мышцах, на что указывает снижение уровня лактата и ПВК.

4. Введение симвастатина животным с экспериментальной гиперхолестеринемией, сопровождается снижением мощности антиоксидантной системы, как в мышцах, так и в эритроцитах, за счет выраженного уменьшения активности СОД, ГПО и концентрации GSH.

5. Достоверные корреляции между отдельными показателями углеводно-энергетического обмена, антиоксидантной защиты и показателями, отражающих функциональное состояние сократительного белка титина, позволили выделить наиболее информативные показатели, такие как, активность ГР, СОД и концентрация лактата в биоптатах мышечной ткани у пациентов со статиновой миопатией, что дает новое направление в оценке функционального состояния саркомера при длительном применении статинов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Снижение уровня титина в скелетной мускулатуре является маркером развития миопатии, что может быть использовано для ранней диагностики дистрофических процессов в мышцах (патент на изобретение №2625743).

2. Достоверные корреляции между уровнем титина и активностью ГР, СОД, концентрацией лактата обосновывают возможность их использования, с целью повышения экспрессивности и упрощения диагностики, наряду с определением активности КФК, в качестве дополнительных лабораторных критериев статин-индуцированной миопатии.

3. Отображенные информативные метаболические показатели могут быть использованы для оценки эффективности проводимой терапии и прогноза развития статиновой миопатии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

2,3-ДФГ	- 2,3-дифосфоглицерат
АОЗ	- антиоксидантная защита
АТФ	- аденозинтрифосфат
АФК	- активные формы кислорода
ВОЗ	- Всемирная организация здравоохранения
ГМГ-КоА	- 3-гидрокси-3-метилглутарил кофермент А
ГПО	- глутатионпероксидаза
ГР	- глутатионредуктаза
ГХ	- гиперхолестеринемия
ИБС	- ишемическая болезнь сердца
КФК	- креатинфосфокиназа
ЛП	- липопротеиды
ЛПВП	- липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	- липопротеиды низкой плотности
ЛПОНП	- липопротеиды очень низкой плотности
ЛППП	- липопротеиды промежуточной плотности
НЗР	- нормальный закон распределения
МДА	- малоновый диальдегид
ОХС	- общий холестерин
ПВК	- пировиноградная кислота
ПНЖК	- полиненасыщенные жирные кислоты
ПОЛ	- перекисное окисление липидов
СОД	- супероксиддисмутаза
ССЗ	- сердечно-сосудистые заболевания
Т	- титин
ТГ	- триглицериды

ХС	- холестерин
GSH	- восстановленный глутатион
Нб	- гемоглобин

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zlatohlavek L. Статиновая миопатия как клиническая проблема. Можем ли мы помочь? / L. Zlatohlavek // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. - 2014. - Т.2, №3.- С. 33-38.
2. 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.
3. Банзаракшеев В.Г. Патофизиологическая оценка состояния антиоксидантной системы организма крыс при дислипидемии / В.Г. Банзаракшеев, Е.Г. Седунова // Сибирский медицинский журнал. - 2016. - № 1. - С. 29-32.
4. Банзаракшеев В.Г. Патофизиологическое обоснование результатов моделирования атерогенной дислипидемии у крыс / В.Г. Банзаракшеев // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2016. - Т.1, №3. - С. 33-36.
5. Белоусова Е.С. Влияние биологически активной добавки «Ко Q10» на обменные процессы в тканях и эритроцитах крыс при различном температурном воздействии: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04, 03.00.13 / Белоусова Елена Сергеевна. – Н. Новгород, 2009. – 158 с.
6. Белоусова Е.С. Гипоксия как патофизиологическая основа изменения метаболических процессов в эритроцитах и гепатоцитах крыс после длительного приема симвастатина (зокора) / Е.С. Белоусова, З.И. Микашинович, О.Г. Саркисян // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2015. -Т. 59, № 4. - С. 93-96.
7. Белоусова Е.С. Морфо-молекулярные изменения в мышечной ткани крыс после длительного введения симвастатина / Е.С. Белоусова, З.И. Микашинович, О.Г. Саркисян, В.Ю. Мажугин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2017, №9. - С. 96-100.

8. Белоусова Е.С. Признаки риска развития миопатии, вызванной длительным приёмом симвастатина (зокора) / Е.С. Белоусова, З.И. Микашинович, Т.Д. Коваленко // Фундаментальные исследования. - 2014. - №5-6. - С. 1197-1200.
9. Белоусова Е.С. Структурно-функциональные изменения мембран эритроцитов крыс с гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина / Е.С. Белоусова, З.И. Микашинович, О.Г. Саркисян, Т.Д. Лосева // Успехи современного естествознания. - 2019. - № 3-2. - С. 117-121.
10. Биохимические исследования слюны в клинической практике / З.И. Микашинович, А.В. Летуновский, О.О. Волжин, Е.С. Белоусова. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2004. - 80 с.
11. Бойцов С.А. Кардиоваскулярная профилактика 2017. Российские национальные рекомендации / С.А. Бойцов, Н.В. Погосова, М.Г. Бубнова, О. М. Драпкина [и др.]. // Российский кардиологический журнал. – 2018, №23(6). - С. 7–122.
12. Бубнова М.Г. Статины в профилактической терапии атеросклероза: современная стратегия и тактика назначения / М.Г. Бубнова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2009. - Т.8, №3. - С. 94-102.
13. Вихлянец И.М. Изоформный состав тайтина в мышцах при патологических процессах / И.М. Вихлянец, З.А. Подлубная // Биофизика. - 2008. - Т. 53, № 6. - С. 1058-1065.
14. Вихлянец И.М. К вопросу об изоформах тайтина / И.М. Вихлянец, З.А. Подлубная // Биофизика. - 2006. -Т. 51, -№ 5, -С. 951-958.
15. Вихлянец И.М. Новые изоформы тайтина (коннектина) и их функциональная роль в поперечно-полосатых мышцах млекопитающих: факты и предположения, их функциональная роль / И.М. Вихлянец,

- З.А. Подлубная // Успехи биологической химии. - 2012. - Т. 52. - С. 239-280.
16. Вихлянцев И.М. Новые изоформы тайтина в скелетных мышцах млекопитающих / И.М. Вихлянцев, З.А. Подлубная, И.Б. Козловская // Доклады РАН. - 2004. - Т. 395, - № 6. - С. 828-831.
 17. Вихлянцев И.М. Полиморфизм тайтина поперечно-полосатых мышц в норме, адаптации и патологии: автореф дис. ... докт. биол. наук: 03.01.02 / Вихлянцев Иван Милентьевич. – Пушкино, 2011. – 50 с.
 18. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН. -1998. - №7. - С. 43-51.
 19. Галявич А.С. Нарушение обмена жирных кислот при атеросклерозе и возможности его коррекции / А.С. Галявич, Л.Р. Салахова // Кардиология. - 2006. - №12. - С. 36-39.
 20. Глинских Т.А. Динамика активности антиоксидантных ферментов у пациентов с артериальной гипертензией до и после гипотензивной терапии / Т.А. Глинских, З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова // Кубанский научный медицинский вестник. - 2011. - №3 (126). - С. 46-48.
 21. Грацианский Н.А. Статины как противовоспалительное средство / Н.А. Грацианский // Кардиология. - 2001. - №12. - С. 14-26.
 22. Грицына Ю.В. Изменение экспрессии гена и содержания тайтина (коннектина) в поперечно-полосатых мышцах хронически алкоголизированных крыс / Ю.В. Грицына [и др.]. // Молекулярная биология. - 2013. - Т.47, №6. - С. 996-1003.
 23. Гуревич В.С. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы / В.С. Гуревич, К.Н. Конторщикова, Л.В. Шатилина // Лаб. дело. - 1990. - № 4. - С.44-47.
 24. Гуськова Р.А. Роль свободных супероксидных радикалов в старении биологических объектов / Р.А. Гуськова, М.М. Виленчик, В.Н. Кольтовер // Биофизика. - 1980. - Т. 25, № 1. - С. 102-105.

25. Деева Т.А. Алгоритм ведения пациентов с подозрением на статининдуцированную миопатию (клинический случай тяжелой врожденной миопатии, развившейся на фоне длительного приема статинов) / Т.А. Деева, О.М. Драпкина // *Consilium Medicum*. - 2015. - №2. - С. 21- 26.
26. Джалабова М.И., Ломсадзе Б.А., Бурлакова Е.В. Антиоксиданты и окислительный стресс / М.И. Джалабова, Б.А. Ломсадзе, Е.В. Бурлакова // I Кавказ. симп. по мед.-биол. наукам. - Тбилиси, - 1999. - С. 69.
27. Дизрегуляционная патология: руководство для врачей и биологов / под ред. Г.Н. Крыжановского. - М.: Медицина, 2002. - 632 с.: ил.
28. Долгов М.А. Гидродинамический механизм сокращения и расслабления мышечной ткани и его энергетическое обеспечение / М.А. Долгов, А.В. Косарев // *Вестник ОГУ*. - 2005. - №10-2(48). - С.14-17.
29. Долженко М. Н. Безопасность статинов: за и против / М. Н. Долженко, А.Я. Базилевич, Т.В.Симагина, Л.И. Конопляник // *Дистанційне навчання*. - 2010. - Т.2, №68. - С. 26-31.
30. Доценко О.И. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышц в условиях низкочастотной вибрации / О.И. Доценко, В.А. Доценко, А.М. Мищенко // *Физика живого*. - 2010. - Т. 18, № 1. - С. 107-113.
31. Драпкина О.М. Миопатия как побочный эффект терапии статинами: механизмы развития и перспективы лечения / О.М. Драпкина, Е.М. Чернова // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. - 2015. - Т. 11, № 1. - С. 96-101.
32. 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.

33. Дубинина Е.Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма / Е.Е. Дубинина // Успехи совр. биологии. - 1989. - Т.108, N4. - С. 3-18.
34. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е.Е. Дубинина // Вопросы медицинской химии. - 2001. - Т. 47, № 6. - С. 561-581.
35. 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.
36. Еникеев Д.А. Антиоксидантная и лазерная терапия в коррекции функциональных нарушений эритроцитов при эндогенной интоксикации перитонеального генеза / Д.А. Еникеев, Д.В. Срубиллин, В.А. Мышкин [и др.]. // Успехи современного естествознания. - 2010. - № 5. - С. 26-34.
37. Житникова Л.М. «Новые» статины – новые возможности для врача и пациента / Л.М. Житникова // Русский Медицинский Журнал. - 2011. - Т.19, №29. - С.1832-1834.
38. Залуцкая Н.М. Сравнительная характеристика ферментативной антиоксидантной защиты у больных с мягким когнитивным снижением и депрессией позднего возраста. Возможна ли терапевтическая коррекция? / Н.М. Залуцкая, К.В. Ющин, Л.В. Щедрина // Обзорение психиатрии и медицинской психологии им. В.М. Бехтерева. – 2018. -№1. – С. 101-109.
39. Заугольников В.С. Рабдомиолиз в клинической практике / В.С. Заугольников, Н.Н. Теплова // Вятский медицинский вестник. - 2002. - №3. - С. 7-11.

40. Захарченко И.В. Влияние иммобилизационного стресса на содержание продуктов гликолиза в печени взрослых и старых крыс / И.В. Захарченко, Н.А. Григорян // Валеология. -2017. -№ 2. - С. 25-29.
41. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. – М.: «МАИК Наука/Интерпериодика», 2001. - 343 с.
42. Зиганшина Л.Е. Ингибиторы редуктазы 3-гидрокси-3-метилглутарил кофермент А (статины). Клиническая фармакология, позиция доказательной медицины / Л.Е. Зиганшина // Практическая медицина. - 2003. - №2. - С. 8-9.
43. Зиновьева О.Е. Изменение содержания и уровня фосфорилирования титина и небулина в четырехглавой мышце бедра при хронической алкогольной миопатии / О.Е. Зиновьева, Н.Д. Самхаева, И.М. Вихлянцев [и др.]. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. - 2019. - Т.11, №1. - С. 21-27.
44. Зыков М.В. Проблема безопасности липидснижающей терапии / М.В. Зыков // Кардиология. – 2019. – Т. 59, № 5S - С. 13-26.
45. Калинина Е.В. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, Р. Алеид [и др.]. // Вестник Российской АМН. - 2010.- №3. - С. 46-54.
46. Карпов Ю.А. Симвастатин: актуальная классика гиполипидемической терапии / Ю.А. Карпов // Атмосфера. - 2012. - №3. - С. 2-8.
47. Карпов Ю.А. Статины в профилактике и лечении связанных с атеросклерозом заболеваний: эффективность и безопасность / Ю.А. Карпов // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2005. -Т.1, №2. С. 48-53.

48. Карпов Ю.А. Факторы риска ИБС: когда и как проводить коррекцию? Повышение роли статинов / Ю.А. Карпов, Ю.В. Сорокин // Русский Медицинский Журнал. - 2003. - Т.11, №19. - С. 1041-1045.
49. Князькова И.И. Гиполипидемическая терапия: современный взгляд на симвастатин / И.И. Князькова, М.О. Бабак // Український терапевтичний журнал. - 2006. - №4. - С. 72-83
50. Колотьева Н.А. Лактат: есть ли тупик метаболизма? / Н.А. Колотьева, Потехина В.И., Горбачева И.В., Козлов А.В. [и др.]. // Наука молодых - Eruditio juvenium. - 2016. -№1. - С.28-32.
51. Коновалова Г.Г. Комплекс витаминов-антиоксидантов эффективно подавляет СРО фосфолипидов в ЛПНП плазмы крови и мембранных структурах печени и миокарда / Г.Г. Коновалова, М.О. Лисина, А.К. Тихазе [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2003. - №2. - С.166-169.
52. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы. / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. - 1988. - № 1. - С. 16-19.
53. Кравченко Л.В. Влияние количества жира в рационе на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков и антиоксидантной защиты у крыс / Л.В. Кравченко, И.В. Аксенов, Н.В. Трусов [и др.]. // Вопросы питания. - 2012. - Т.81, №1. - С. 24-29.
54. Крузе Д.А. Клиническое значение определения лактата крови / Д.А. Крузе // Анестезиол. и реаниматол. – 1997. – № 3. – С. 77-83.
55. Кулинский В.И. Биологическая роль глутатиона / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Успехи современной биологии. -1990. -Т. 110 (1). - С. 20-33.
56. Кулинский В.И. Система глутатиона I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы. / В.И. Кулинский, Колесниченко Л.С. // Биомедицинская химия. - 2009. - №3. - С. 255-277.

57. Кулинский В.И. Система глутатиона II. / В.И. Кулинский, Колесниченко Л.С. // Биомедицинская химия. - 2009. - №4. - С 365-379.
58. Кулинский В.И. Система глутатиона эритроцитов и плазмы при язвенной болезни / В.И. Кулинский, А.В. Щербатых, А.А. Большешапов [и др.]. // Биомедицинская химия. - 2008.- №5. - С. 607-613.
59. Кулинский В.И. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Успехи современной биологии. -1993. -Т.113. -№1. -С.107-122.
60. Кухарчук В.В. Дислипидемии и сердечно-сосудистые заболевания / В.В. Кухарчук // Consilium. - 2009. - № 5. - С. 61-64.
61. Кухарчук В.В., Титов В.Н. Заболевания сердечно-сосудистой системы: Руководство по кардиологии: учеб. пособие / под ред. Е.И. Чазова. М.: «Практика»; 2014. -Т.3. - 864 с.
62. Лакомкин В.Л. Влияние ингибитора β -гидрокси- β -метилглутарил коэнзим А-редуктазы аторвастатина на сократимость изолированного сердца крыс в норме и при окислительном стрессе / В.Л. Лакомкин, В.И. Капелько, В.З. Ланкин, Г.Г. Коновалова [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. - Т. 143, №4. - С. 383-385.
63. Ланкин В.З. Влияние ингибиторов 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 [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. - Т. 143. - №4. - С. 390-393.
64. Лановенко И.И. Взаимодействие глутатиона эритроцитов и кислородтранспортной функции крови при гемической гипоксии железодефицитного генеза / И.И. Лановенко, А.П. Гащук // Доповіди Національної академії наук України. - 2012. - № 12. - С. 178-185.

65. Луганова И.С. Определение 2,3-дифосфоглицерата неэнзиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом / И.С. Луганова, М.Н. Блинов // Лаб. дело. - 1975. - № 7. - С.652-654.
66. Малышев С.Л. Роль легких цепей миозина в регуляции сокращения поперечно-полосатых мышц позвоночных/ С.Л. Малышев, Н.А. Фрейдина, И.М. Вихлянцев [и др.]. // Биофизика. – 2010. – Т. 55, №5. – С.790-802.
67. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 16 изд. перераб., испр. и доп.. – М. : ООО «Издательство Новая Волна», 2017. - 2016с.:ил.
68. Менабде К.О. Тканевая специфичность пероксидного окисления липидов при эмоциональном стрессе у крыс / К.О. Менабде, Г.М. Бурджанадзе, М.В. Чачуа [и др.]. // Укр. біохім. журн. - 2011. - Т. 83, № 3. - С. 85-90.
69. Метаболический синдром: монография / под ред. Г.Е. Ройтберга. - М.: МЕДпресс информ, 2007. - 224 с.: ил.
70. Микашинович З.И. Анализ биохимических изменений в эритроцитах крыс при длительном приеме симвастатина / З.И. Микашинович, Е.С.Белоусова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013. - Т.155, №5. - С.576-579.
71. 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.122-125.
72. Микашинович З.И. Влияние пирувата на обменные процессы в эритроцитах после острой массивной потери крови / З.И. Микашинович, В.И. Шепотиновский // Украинский биохимический журнал. - 1988. - Т.60, №2. - С.57-61.
73. Микашинович З.И. Нарушение энергозависимых процессов в мышечной ткани как один из патогенетических механизмов статиновой миопатии /

- З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, О.Г. Саркисян // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2016. - Т.162, №10. - С.426-429.
74. Микашинович З.И. Общие и частные закономерности изменений метаболизма в эндокринных органах и крови при разной тяжести травматического шока и острой кровопотери: дис. ... докт. биол. наук: 03.00.04; 14.00.16 / Микашинович Зоя Ивановна. - Ростов-на-Дону, 1989. - 409 с.
75. Минигалин А.Д. Срочные и отдаленные биохимические и физиологические эффекты предельной силовой нагрузки / А.Д. Минигалин, А.Р. Шумаков, Т.И. Баранова [и др.] // Физиология человека. – 2011. – Т. 37. - № 2, С. 86–91.
76. Мишланов В.Ю. Атеросклероз: новое в патогенезе, диагностике, лечении (лейкоцитарно-липопротеиновая теория) / В.Ю. Мишланов, А.В. Туев, В.А. Черешнев. – Издание РАН, 2018. – 128с.
77. Напалков Д.А. Симвастатин в клинической практике: известные факты, плейотропные свойства и новые перспективы / Д.А. Напалков, В.В. Жиленко // Лечащий врач. - 2009. - №2. - С.48-51.
78. Новгородцева Т.П. Состав липидов эритроцитов крыс при развитии фиброза печени в условиях алиментарной дислипидемии / Т.П. Новгородцева, Ю.К. Караман, Н.В. Бивалькевич, Н.В. Жукова // Бюллетень СО РАМН. - 2010. - Т.30, №1. - С. 53-58.
79. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, И.А. Зенков [и др.]. – М.: Фирма «Слово», - 2006. – 553с.
80. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания: монография / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин [и др.]. - Новосибирск: Арта, -2008. - 284 с.

81. Орлова М.А. Разработка проблемы когнитивного развития детей с соединительнотканной патологией и наследственными нарушениями опорно-двигательного аппарата: результаты историко-психологического анализа / М.А. Орлова, Л.А. Троицкая // Материалы III Международной научно-практической конференции «Психология XXI века: теория, практика, перспективы». Прага. - 2013. С. 12-20.
82. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий – М. «Медицина», - 1982. - 304 с.
83. Родненкова О.С. Плейотропные биохимические эффекты статинов и возможности их коррекции: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04 / Родненкова Ольга Сергеевна. - Рязань, 2006. – 23 с.
84. Рожков Д.О. Состояние скелетных мышц при хронической неспецифической боли в нижней части спины иходы к терапии/ Д.О. Рожков, О.Е. Зиновьева, А.Н. Баринов [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2018. –Т.2, №11. С. 24-32
85. Рудакова А.В. Розувастатин: фармакоэкономические аспекты применения / А.В. Рудакова // Клиническая фармакология и терапия. - 2004. - Т.13, №4. - С. 61-64.
86. Салмов Н.Н. Роль фосфорилирования тайтина в развитии атрофии скелетных мышц: факты и предположения / Н.Н. Салмов [и др.]. // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация. - 2015. - С. 296-301.
87. Северин Е.С. Биохимия: учебник для вузов/ под ред. Е.С. Северина - 5-е изд., - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009, - 768 с.
88. Семенова А.Е. Фармакологические аспекты терапии статинами / А.Е. Семенова, И.В. Сергиенко // Атеросклероз и дислипидемии. - 2013. - №2(11). – С. 4-18.
89. Симптомы поражения мышц, обусловленные приемом статинов — влияние на тактику применения статинов: основные положения согласованного мнения экспертов Европейского общества по изучению

- атеросклероза о подходах к оценке, об этиологии и тактике ведения // Доказательная кардиология. - 2015. - Т.8, №1. - С. 36-46.
90. Смирнова М.Д. Статины – старые мифы и новые факты / М.Д. Смирнова, Ф.Т. Агеев // Русский медицинский журнал. – 2017, №20. – С.1421-1428.
91. Солошенкова О.О. Дислипидемии в клинической практике / О.О. Солошенкова, И.И. Чукаева, Н.В. Орлова // Лечебное дело. - 2009. - № 3. - С.12-17.
92. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / под ред. В.С. Камышникова. – М.: МЕДпресс-информ, 2004, - 920 с.
93. Справочник по лабораторным исследованиям / под ред. Л.А. Даниловой. - СПб.: Питер, 2003. - 736 с.
94. Сторожук П.Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток / П.Г. Сторожук // Вестник интенсивной терапии. - 2003. - № 3. - С. 8-13.
95. Суворова И.Н. Возрастные особенности изменения активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы в мозгу крыс при иммобилизационном стрессе / И.Н. Суворова, В.В. Давыдов // Украинский биохимический журнал. - 2004. - Т. 76, № 3. - С. 74-78.
96. Сусеков А.В. Ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы при вторичной профилактике атеросклероза: 30 лет спустя / А.В. Сусеков // Consilium medicum. - 2005. - № 11. - С. 896–903.
97. Сусеков А.В. Симвастатин (Зокор) 20 мг и ловастатин (Холетар) 40 мг у больных ИБС и первичной гиперхолестеринемией: исследование эквивалентности доз / А.В. Сусеков [и др.] // Клин. фармакология и терапия. - 2001. - № 4. - С. 57-61.

98. Телушкин П.К. Гликолиз и активность окислительных ферментов в головном мозге крыс при инсулиновой гипогликемии на фоне аллоксанового диабета / П.К. Телушкин [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. -2005. -Т. 140, №12. С. 647-649.
99. Теплый Д.Д. Возрастные особенности эритроцитов периферической крови белых крыс и их реакции на действие биологического и синтетического антиоксидантов / Д.Д. Теплый // Естественные науки. – 2009. - №3(28). – С. 143-152.
100. Ушкалова Е.А. Миопатии и рабдомиолиз при применении гипохолестеринемических препаратов / Е.А. Ушкалова // Фарматека. - 2002 . - №7/8 - С. 74-80.
101. Цветкова О.А. Гиполипидемическая терапия симвастатином / О.А. Цветкова, О.Л. Агапова // Русский Медицинский Журнал. - 2010. - Т.18, №10. - С. 668-674.
102. Чекман И.С. Поражения мышц, вызванные лекарственными средствами / И.С. Чекман [и др.]. // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. -1991. -Т.91, №9. - С. 106-110.
103. Шойбонов Б.Б. Простой способ определения модифицированных липопротеинов низкой плотности / Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф. [и др.]. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2012. - Т. 56, № 2. - С. 77-83.
104. Шульгин К.К. Получение и свойства глутатионпероксидазы / Шульгин К.К., Рахманова Т.П., Попова Т.Н. // Прикладная биохимия и микробиология. -2008. - Т.44, №3. - С. 276-280.
105. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов //Лабораторное дело. - 1989. - № 4. - С. 19-21.

106. Afilalo J. Intensive statin therapy in acute coronary syndromes and stable coronary heart disease: a comparative meta-analysis of randomised controlled trials / J. Afilalo, A.A. Majdan, M.J. Eisenberg // Heart. - 2007. -Vol. 93(8). - P. 914-921
107. Antonopoulos A.S. Statins as Anti-Inflammatory Agents in Atherogenesis: Molecular Mechanisms and Lessons from the Recent Clinical Trials / A.S. Antonopoulos, M. Margaritis, R. Lee [et al.] // Curr Pharm Des. – 2012. - Vol. 18 (11). - P. 1519-1530.
108. 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.105-12.
109. Bäck M. The main function of lipoproteins is lipid transport / M. Bäck, A. Yurdagul Jr., I. Tabas, K. Öörni [et al.] // Nat Rev Cardiol. -2019. - Vol. 16 (7). – P. 389-406.
110. Ballatori N. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases / N. Ballatori, S.M. Krance, S. Notenboom // Biol. Chem. - 2009. - № 3. - P. 191-214.
111. Benzie I. Evolution of antioxidant defence Mechanisms/ I. Benzie // Eur.J.Nutr. -2000. - Vol. 39. - P.53-61.
112. Bouitbir J. Statins Trigger Mitochondrial Reactive Oxygen Species-Induced Apoptosis in Glycolytic Skeletal Muscle / J. Bouitbir, F. Singh, A.-L. Charles, A.-I. Schlagowski [et al.] // Antioxid Redox Signal. – 2016. - Vol. 24(2). – P. 84-98.
113. Bradley C.K. Patient-Reported Reasons for Declining or Discontinuing Statin Therapy: Insights From the PALM Registry / C.K. Bradley, T.Y. Wang, S. Li, J.G. Robinson [et al.] // J Am Heart Assoc. – 2019. - Vol.8 (7). e011765
114. Bruckert E. Evidence supporting primary prevention of cardiovascular diseases with statins: Gaps between updated clinical results and actual

- practice / E. Bruckert, J. Ferrieres // Arch Cardiovasc Dis. - 2014. - Vol. 107. № 3 - P.188-200.
115. Bruckert E. Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients - the PRIMO study / E. Bruckert, G. Hayem, S. Dejager [et al.] // Cardiovasc. Drugs Ther. -2005. - Vol. 19. - P. 403-414.
116. Buettner C. Statin use and musculoskeletal pain among adults with and without arthritis / C. Buettner, M.J. Rippberger, J.K. Smith [et al.] // Am J Med. - 2012. - Vol. 125. - P.176-182.
117. Byung Pal Yu. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species / Byung Pal Yu // Physiol. Rev. - 1994. - Vol.74. - P.139-162.
118. Capel I.D. Antioxidant defence in hypoxic region of tumor / I.D. Capel // Med. biol. - 1981. - Vol. 62, № 2. - P. 119-120.
119. Choe H. Spatial and temporal ontogenies of glutathione peroxidase and glutathione disulfide reductase during development of the prenatal rat / H. Choe, J. Hansen, C. Harris // J. Biochem. Mol. Toxicol. 2001. -Vol.15 (4).-P. 197-206.
120. Collins R. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy / R. Collins, C. Reith, J. Emberson, J. Armitage [et al.] // Lancet. – 2016. Vol. 388(10059). – P. 2532–2561.
121. Comhair S.A. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase / S.A. Comhair, S.C. Erzurum // Antioxid. Redox. Signal. - 2005. - Vol. 7, № 1-2. - P. 72-79.
122. Cotgreave I. Recent trends in glutathione biochemistry: glutathione-protein interactions: a molecular link between oxidative stress and cell proliferation / I. Cotgreave, R. Gerdes // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1998. - Vol.242. -P. 1-9
123. Cristiano F. Changes in the levels of enzymes which modulate the antioxidant balance occur during aging and correlate with cellular damage / F. Cristiano,

- J. Dehaan, R. Ianello [et al.] // *Mech. Ageing and development*. - 1995. - Vol.80. - P.93-105.
124. De Lemos J.A. A to Z Investigators. Early intensive vs a delayed conservative simvastatin strategy in patients with acute coronary syndromes: phase Z of the A to Z trial / J.A. De Lemos, M.A. Blazing, S.D. Wiviott [et al.] // *JAMA*. - 2004. - Vol. 292. - P. 1307-1316.
125. Dunning S. Glutathione and antioxidantenzymes serve complementary roles in protecting activated hepatic stellate cells against hydrogen peroxide-induced cell death / Dunning S., A. Ur Rehman, M.H. Tiebosch [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2013. - Vol. 1832 (12). P. - 2027-2034.
126. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. / G.L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys*. - 1959. - Vol. 82. - P.70-77.
127. El-Salem K. Prevalence and risk factors of muscle complications secondary to statins / K. El-Salem, B. Ababeneh, S. Rudnicki [et al.] // *Muscle Nerve*. - 2011. - Vol. 44. - P. 877-881.
128. Elshourbagy N.A. Cholesterol: the good, the bad, and the ugly - therapeutic targets for the treatment of dyslipidemia / N.A. Elshourbagy, H.V. Meyers, S.S. Abdel-Meguid // *Med Princ Pract*. -2014. - Vol. 23(2). - P. 99-111.
129. Fattah T.A. Synthetic Approaches Towards Antihypercholesterolemic Drug Simvastatin / T.A. Fattah, A. Saeed, S.A. Shehzadi // *Curr Org Synth*. -2019. - Vol. 16 (5). - P. 652-670.
130. Fernandes V. Statin-related Myotoxicity / V. Fernandes, M.J. Santos, A. Perez // *Endocrinol. Nutr*. – 2016. - Vol. 63 (5). - P. 239-249.
131. Frederickson D.S. A system for phenotyping hyperlipidemia / D.S. Frederickson, R.S. Lee // *Circulation*. - 1965. - Vol. 31. - P.321-327.
132. Fridovich I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters / I. Fridovich // *J. Biol. Chem*. - 1997. - Vol.272. - P.18515-18517.

133. Gerull B. The Rapidly Evolving Role of Titin in Cardiac Physiology and Cardiomyopathy / B. Gerull *Can J Cardiol.* – 2015. - Vol. 31(11). - P. 1351–1359.
134. Goldberg I.J. Atherosclerosis: Making a U Turn / I.J. Goldberg, G. Sharma, E.A. Fisher // *Annu Rev Med.* – 2020. - Vol. 71. – P.191-201.
135. Goll D.E. Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains / D.E. Goll, G. Neti, S.W. Mares [et al.] // *J Anim Sci.* - 2008. - P.19-35.
136. 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.
137. Gonzalez J. High fat diet induces adhesion of platelets to endothelium in two models of dyslipidemia / J. Gonzalez, W. Donoso, N. Díaz, [et al.] // *J Obes.* – 2014. - Vol. 2014. – P.1-7.
138. Gregorio C.C. The NH2 terminus of titin spans the Z-disc: its interaction with a novel 19-kD ligand (T-cap) is required for sarcomeric integrity / C.C. Gregorio, K. Trombitas, T. Centner [et al.] // *J Cell Biol.* - 1998. - Vol.143, №4. - 1013-27.
139. Grundy S.M. Effectiveness and tolerability of simvastatin plus fenofibrate for combined hyperlipidemia (the SAFARI trial) / S.M. Grundy, G.L. Vega, Z. Yuan // *Am. J. Cardiol.* - 2005. - Vol. 95 (4). - P. 462-468.
140. Grundy S.M. National Heart, Lung and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation, American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines / S.M. Grundy, J.I. Cleeman, C.N. Merz [et al.] // *Circulation.* - 2004. -Vol. 110. - P. 227-239.
141. Halliwell B. Free Radicals in biology and medicine / Halliwell B., JMC. Gutteridge // 4th Edition. Oxford University Press.UK. - 2007.
142. Hamilton-Craig I. Statin-associated myopathy / I. Hamilton-Craig // *Med J Aust.* 2001. - Vol.175. - P.486-489.

143. Harris E. Regulation of antioxidant enzymes / E. Harris // *FASEB J.* - 1992. - Vol. 6. - P.2675-2683.
144. Hirayama K. Effect of oxidative stress on interorgan metabolism of glutathione / K. Hirayama, A. Yasutake, M. Inoue // *Medical, Biochemical and Chemical Aspects of Free Radicals.* Amsterdam: Elsevier - 1989. - P.559-562.
145. Hodel C. Myopathy and rhabdomyolysis with lipid-lowering drugs / C. Hodel // *Toxicol Lett.* - 2002. - Vol. 128. - P. 159-168.
146. Horowitz R. Passive force generation and titin isoforms in mammalian skeletal muscle / R. Horowitz // *Biophys J.*- 1992 -Vol. 61(2) - P. 392-398.
147. Huang J. Regulation of Lactate Production Through p53/ β -enolase Axis Contributes to Statin-Associated Muscle Symptoms / J. Huang, J. Du, W. Lin, Z. Long [et al.] // *EBioMedicine.* – 2019. - Vol. 45, – P. 251-260.
148. Karahalil B. Hepatotoxicity associated with statins / B. Karahalil, E. Hare, G. Koç, İ. Uslu [et al.] // *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology.* - 2017. - Vol. 68(4). - P. 254-260.
149. Kidd P. Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage / P. Kidd // *Alter. Med. Rev.* 1997. - Vol.2. - P. 155-176.
150. Kitzmiller J.P. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects / J.P. Kitzmiller, E.B. Mikulik, A.M. Dauki, C. Mukherjee [et al.] // *Pharmgenomics Pers Med.* – 2016. - Vol. 9. – P. 97-106.
151. Kostapanos M.S. Rosuvastatin-associated Adverse Effects and Drug-Drug Interactions in the Clinical Setting of Dyslipidemia / M.S. Kostapanos, H.J. Milionis, M.S. Elisaf // *Am J Cardiovasc Drugs.* – 2010. - Vol. 10 (1). – P. 11-28.
152. Krüger M. Nebulin as a length regulator of thin filaments of vertebrate skeletal muscles: correlation of thin filament length, nebulin size, and epitope profile / M. Krüger, J. Wright, K. Wang // *J. Cell Biol.* - 1991. -Vol. 115(1). - P. 97-107.

153. Labeit S. Titins: giant proteins in charge of muscle ultrastructure and elasticity / S. Labeit, B. Kolmerer // *Science*. - 1995 - Vol. 270(5234). – P.293-296.
154. Landray M. The second United Kingdom Heart and Renal Protection (UK HARP II) Study: a randomized controlled study of the biochemical safety and efficacy of adding ezetimibe to simvastatin as initial therapy among patients with CKD // M. Landray, C. Baigent, C. Leaper [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* - 2006. - Vol. 47 (3). - P. 385-395.
155. Larsson E. Functions of glutathione: biochemical, physiological, toxicological, and clinical / E. Larsson // New York: Raven press. -1983. - P. 403.
156. Law M., Rudnicka A.R. Statin safety: a systematic review / M. Law, A.R. Rudnicka // *Am J Cardiol.* -2006. - Vol. 97. - P.52-60.
157. Licata A. Liver and Statins: A Critical Appraisal of the Evidence / A. Licata, A. Giammanco, M.G. Minissale, S. Pagano [et al.] // *Curr Med Chem.* – 2018. - Vol. 25 (42). – P. 5835-5846.
158. Lin J. Achieving Guideline-Driven High-Intensity Statin Dose in Cardiac Rehabilitation Patients With Coronary Artery Disease / J. Lin, A. Banathy, C. Winters, L. Andersen [et al.] // *J Cardiopulm Rehabil Prev.* – 2018. - Vol.38 (5). – P. 1-4.
159. Liversage A.D. Titin and the sarcomere symmetry paradox / A.D. Liversage, D. Holmes, P.J. Knight [et al.] // *J. Mol. Biol.* - 2001. - Vol. 305. - P. 401-19.
160. MacDonald R. Red cell 2,3-diphosphoglycerate and oxygen affinity / R. MacDonald // *Anesthesia.* – 1977. - Vol. 32 (6). P.- 544-53.
161. Maggo S.D. Clinical implications of pharmacogenetic variation on the effects of statins / S.D. Maggo, M.A. Kennedy, D.W. Clark // *Drug Saf.* - 2011. - Vol. 34(1). - P. 1-19.

162. Mannervik B., et al. Glutathione: Chemical, Biochemical and Medical Aspects. Part A. // By edit. D. Dolphin, O. Avramovic, R. Poulson. New York: John Wiley and Sons. - 1989. - P. 475-516.
163. Marcetou M. E. Early effects of simvastatin versus atorvastatin on oxidative stress and proinflammatory cytokines in hyperlipidemic subjects / M. E. Marcetou, E.A. Zacharis, D. Nokitovich et al. // *Angiology*. - 2006. - Vol. 57. - P. 211–218.
164. Marklund S.L. Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung / S. L. Marklund // *Biochem. J.* - 1984. - Vol. 220. - P. 269-272.
165. Maruyama K. Molecular size and shape of beta-connectin, an elastic protein of striated muscle / K. Maruyama, S. Kimura, H. Yoshidomi [et al.] // *J. Biochem.* - 1984. - Vol. 95(5). - P.1423-1433.
166. Mc Farline S.I. Pleotropic effects of statins: lipid reduction and beyond / S.I. Mc Farline, R. Miniyappa, R. Erancisco // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2002. - Vol. 4. - P. 42-7.
167. McElroy M. Catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities of lung and liver during human development / M. McElroy, A. Postle, F. Kelly // *Biochim. Biophys. Acta.* 1992. - Vol.1117 (2). - P.153-158.
168. 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.
169. Mihaylova B. Lifetime cost effectiveness of simvastatin in a range of risk groups and age groups derived from a randomised trial of 20536 people / B. Mihaylova, A. Briggs, J. Armitage [et al.] // *BMJ.* - 2006. 333 (7579):1145.
170. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk patients: a randomized placebo- controlled trial. Heart Protection Study Collaborative Group // *Lancet.* - 2002. - Vol. 360, № 9326. - P. 7–22.

171. Mushenkova N.V. Modelling of atherosclerosis in genetically modified animals, N.V. Mushenkova, V.I. Summerhill, Y.Y. Silaeva, [et al.] // *Am J Transl Res.* -2019. - Vol. 11(8). - P. 4614-4633.
172. Musunuru K. Atherogenic dyslipidemia: cardiovascular risk and dietary intervention / K. Musunuru // *Lipids.* – 2010. - Vol. 45(10). – P. 907-914.
173. Nakajima K. Atherogenic Postprandial Remnant Lipoproteins; VLDL Remnants as a Causal Factor in Atherosclerosis / K. Nakajima, A. Tanaka // *Clin Chim Acta.* – 2018. - Vol. 478. – P. 200-215.
174. Nikolic T. Effects of Atorvastatin and Simvastatin on Oxidative Stress in Diet-Induced Hyperhomocysteinemia in Wistar Albino Rats: A Comparative Study / T. Nikolic, V. Zivkovic, I. Srejovic, I. Stojic [et al.] // *Mol Cell Biochem.* – 2018. Vol. 437 (1-2). – P. 109-118.
175. Ohsfeldt R.L. Effectiveness and costeffectiveness of rosuvastatin, atorvastatin, and simvastatin among high-risk patients in usual clinical practice / R.L. Ohsfeldt, S.K. Gandhi, K.M. Fox [et al.] // *Am J Manag Care.* - 2006. - Vol. 12. - P. 412-23.
176. Omar M.A. FDA adverse events on statin-associated rhabdomyolysis / M.A. Omar, J.P. Wilson // *Ann Pharmacother.* - 2002 - Vol. 36 - P. 288-295.
177. Parker B.A. Effect of statins on skeletal muscle function / B.A. Parker, J.A. Capizzi, A.S. Grimaldi [et al.] // *Circulation.* - 2013. -Vol. 127. - P. 96-103.
178. Pasternak R.C. ACC/AHA/NHLBI clinical advisory on the use and safety of statins / R.C. Pasternak, S.C. Jr. Smith, C.N. Bairey-Merz [et al.] // *Circulation.* - 2002. - Vol. 106. - P. 1024-102.
179. 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.
180. Pedersen T.R. High-dose atorvastatin vs usual-dose simvastatin for secondary prevention after myocardial infarction: the IDEAL study: a

- randomized controlled trial / T.R. Pedersen, O. Faergeman, J.J. Kastelein [et al.] // JAMA. - 2005. - Vol. 294. P. 2437-2445.
181. Pfefferkorn J. Design and synthesis of hepatoselective, pyrrole-based HMG-CoA reductase inhibitors / J. Pfefferkorn, Y. Song, K-L. Sun, [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. - 2007. - Vol. 17(16). - P. 4538-4544.
182. Pigeolet E. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals / E. Pigeolet, P. Corbisier, A. Houbion [et al.] // Mech. Ageing Dev. - 1990. - Vol. 51. - P. 283-297.
183. Robergs R.A. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis / R.A. Robergs, F. Ghiasvand, D. Parker // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. - 2004. - Vol. 287. - №3, - P. 502-516.
184. 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. - P.558-571.
185. Rosenson R.S. Results of two clinical trials on the safety and efficacy of pravastatin 80 and 160 mg per day / R.S. Rosenson, H.E. Bays // Am. J. Cardiol. - 2003. - Vol. 91. - P. 878-881.
186. Russo M.W. Spectrum of statin hepatotoxicity: experience of the drug-induced liver injury network / M.W. Russo, J.H. Hoofnagle, J. Gu [et al.] // Hepatology. - 2014. - Vol. 60, №2. - P. 679-686.
187. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group: Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) // Lancet. - 1994. - Vol. 344, №8939-8940. - P. 1383-1389.
188. Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update / M. Schachter // Fundam Clin Pharmacol. – 2005. - Vol. 19 (1). – P. 117-125.

189. Sirvent P. Muscle mitochondrial metabolism and calcium signaling impairment in patients treated with statins / P. Sirvent, O. Fabre, S. Bordenave [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 2012. - Vol. 259. - № 2, – P. 263–268.
190. Song M. Trimetazidine Restores the Positive Adaptation to Exercise Training by Mitigating Statin-Induced Skeletal Muscle Injury / M. Song, F.-F. Chen, Y.-H. Li, L. Zhang [et al.] // *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* – 2018. - Vol. 9 (1). – P. 106-118
191. Soteriou A. A survey of interactions made by the giant protein titin / A. Soteriou, M. Gamage, J. Trinick // *J. Cell Sci.* - 1993. - Vol. 14. - P.119-123.
192. Stroes E.S. Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy- European Atherosclerosis Society Consensus Panel Statement on Assessment, Aetiology and Management / E.S. Stroes, P.D. Thompson, A. Corsini [et al.] // *Eur Heart J.* - 2015 -Vol. 36. - P.1012-1022.
193. Tatsumi R. Detection of giant myofibrillar proteins connectin and nebulin by electrophoresis in 2 % polyacrylamide slab gels strengthened with agarose / R. Tatsumi, A. Hattori // *Anal. Biochem.* - 1995 -Vol. 224. - P. 28-31.
194. Taylor B.A. Statin-Associated Muscle Disease: Advances in Diagnosis and Management / B.A. Taylor, P.D. Thompson // *Neurotherapeutics.* – 2018. - Vol. 15 (4). - P. 1006-1017.
195. 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.
196. Tomaszewski M. Statin-induced Myopathies / M. Tomaszewski, K.M. Stępień, J. Tomaszewska, S.J. Czuczwar // *Pharmacol Rep.* – 2011. - Vol.63 (4). – P. 859-866.
197. 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.

198. Tournel Th. Passive tension of rat soleus muscle fibers: effects of unloading conditions / Th. Tournel, L. Stevens, H. Granzier, Y. Mounier // *J. Appl. Physiol.* - 2002. - Vol. 92. - P. 1465-1472.
199. Tskhovrebova L. Titin and nebulin in thick and thin filament length regulation / L. Tskhovrebova, J. Trinick // *Subcell Biochem.* - 2017. - Vol.82. - P.285-318.
200. Udaka J. Disuse-induced preferential loss of the giant protein titin depresses muscle performance via abnormal sarcomeric organization. J. Udaka, S. Ohmori, T. Terui [et al.] // *J Gen Physiol.* – 2008. -Vol. 131(1). - P.33-41.
201. Vikhlyantsev I.M. New Titin (Connectin) Isoforms and their Functional Role in Striated Muscles of Mammals: Facts and Suppositions // I.M.Vikhlyantsev, Z.A. Podlubnaya // *Biochemistry (Moscow).* – 2012. - Vol. 77. - № 13. - P. 1515-1535.
202. Vikhlyantsev I.M. Nuances of electrophoresis study of titin/connectin / I.M.Vikhlyantsev, Z.A. Podlubnaya // *Biophys Rev.* - 2017 Jun; 9(3): - P. 189-199.
203. Wang K. Purification of titin and nebulin / K. Wang // *Methods Enzymol.* – 1982. - Vol. 85. - P. 264-74.
204. White C. M. A pharmacokinetic comparison of HMG CoA reductase inhibitors / C. M. White // *Connecticut. Medicine.* - 2000. - Vol. 64. - P. 533–535.
205. White C.M. A review of the pharmacologic and pharmacokinetic aspects of rosuvastatin / C.M. White // *J Clin Pharmacol.* – 2002. - Vol. 42(9). - P. 963-970.
206. Wu M.C. Disorder profile of nebulin encodes a vernierlike position sensor for the sliding thin and thick filaments of the skeletal muscle sarcomere / M.C. Wu, J.G. Forbes, K. Wang // *Phys Rev E.* – 2016. 93(6): 062406.
207. Wymann M.P. Lipid signaling in disease / M.P. Wymann, R. Schneiter // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* - 2008. - Vol. 9(2). - P. 162-176.

208. Yoshida M. Potential role of statins in inflammation and atherosclerosis / M. Yoshida // J. Atheroscler. Thromb. - 2003. -Vol. 10. - P. 140-144.
209. Zhang H. Discontinuation of statins in routine care settings: a cohort study / H. Zhang, J. Plutzky, S.Skentzos [et al.] // Ann Int Med. - 2013. - Vol.158. -P. 526-534.
210. Шамелашвілі К.Л. Супероксиддисмутаза та каталаза крові: активність ферментів в умовах оксидативного стресу / К.Л. Шамелашвілі [и др.]. // Scientific Journal «Science Rise: Medical Science». - 2015. - №5/1(10). - С.11-15.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2632624

СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ МИОПАТИИ

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *Белоусова Елена Сергеевна (RU), Микашинович Зоя Ивановна (RU), Саркисян Олег Грачинович (RU), Вихлянец Иван Миленьевич (RU), Виноградова Елена Викторовна (RU)*

Заявка № 2016122000

Приоритет изобретения 02 июня 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 06 октября 2017 г.

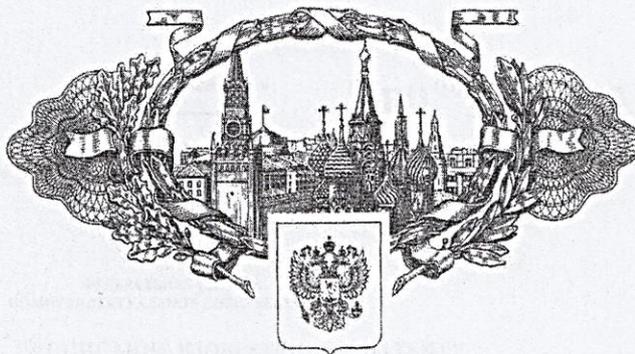
Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 02 июня 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Роспатент Г.П. Иванова

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2625743

СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ МИОПАТИИ В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *Белюсова Елена Сергеевна (RU), Микашинович Зоя Ивановна (RU), Саркисян Олег Грачинович (RU), Вишгородова Елена Викторовна (RU)*

Заявка № 2016122002

Приоритет изобретения: 02 июня 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации: 18 июля 2017 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает: 02 июня 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.Н. Николов