

ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТА ХИТОЗАНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Л.А. Вережкина, О.А. Сафонова, Т.Н. Попова, Т.И. Рахманова,
А.А. Нежинский, Е.С. Звягинцев

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»
Поступила в редакцию 12.06.2023 г.

Аннотация. Проведена оценка воздействия сукцината хитозана на содержание продуктов пероксидного окисления липидов и окислительной модификации белков, а также активность чувствительной мишени действия свободных радикалов – аконитатгидратазы – у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда. Данное соединение было выбрано в связи с широким спектром активности его компонентов – сукцинат способен проявлять антигипоксантные и антиоксидантные свойства, хитозан – антиоксидантные, иммуномодулирующие и другие. Повреждение миокарда у животных опытных групп было индуцировано путем подкожного введения синтетического катехоламина изопротеренола. В качестве препарата сравнения использовали милдронат. Анализ уровня диеновых конъюгатов проводили спектрофотометрически при 233 нм, продуктов окислительной модификации белков – по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином. Активность аконитатгидратазы оценивали спектрофотометрически при 240 нм. Введение исследуемого протектора в дозе 12 мг/кг веса на фоне развития патологии способствовало снижению уровня диеновых конъюгатов и продуктов окислительной модификации белков в сердце животных в 1.8 и 1.9 раза, в сыворотке крови – в 2.0 и 1.6 раза в сторону контроля. В этих условиях активность аконитатгидратазы возросла по сравнению с данными, полученными при экспериментальном инфаркте миокарда, что может быть связано с меньшей степенью повреждения молекулы фермента под действием свободных радикалов. Так, активность аконитазы, выраженная в виде Е/г сырой массы, в сердце возросла в 1.9 раза, выраженная в виде Е/мл, в сыворотке крови – в 2.8 раза. Полученные результаты могут быть связаны с ингибирующим влиянием сукцината хитозана на процессы свободнорадикального окисления биомолекул при развитии патологии и реализацией его кардиопротекторного эффекта. О последнем свидетельствует изменение в сторону контроля активности маркерных ферментов цитолиза кардиомиоцитов – креатинкиназы-МВ и аспаргатаминотрансферазы – в сыворотке крови животных. При действии милдроната также были выявлены изменения регистрируемых параметров – активности маркеров цитолиза кардиомиоцитов, содержания продуктов окислительной модификации липидов и белков, активности аконитатгидратазы – в сторону контроля, однако, в большинстве случаев, выраженные в меньшей степени.

Ключевые слова: изопротереноловый инфаркт миокарда, сукцинат хитозана, милдронат, свободнорадикальные процессы, аконитатгидратаза

Вопросы лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) входят в число ключевых проблем современного здравоохранения [1]. Наиболее клинически и прогностически тяжелой формой патологии сердца, сопровождающейся высокой летальностью и инвалидизацией, остается инфаркт миокарда (ИМ). С появлением COVID-19 значительно ухудшилось положение с

ССЗ. Данная вирусная инфекция, особенно перенесенная в тяжелой форме, негативно сказывается на состоянии сосудов, повышает содержание триглицеридов и тропонинов I, параллельно понижая уровень липопротеинов высокой плотности. Все это усиливает риск возникновения ССЗ и ряда сопряженных с ними осложнений, включая повреждения миокарда [2,3]. Развитие патологических процессов при ИМ связано с активацией каскадных реакций свободнорадикального окисления (СО) биомолекул, инициацией механизмов

© Вережкина Л.А., Сафонова О.А., Попова Т.Н., Рахманова Т.И., Нежинский А.А., Звягинцев Е.С., 2023

некроза и апоптоза и иммунного воспалительного ответа [4-9]. В этих условиях чувствительной мишенью действия свободных радикалов является аконитатгидратаза (аконитаза, К.Ф. 4.2.1.3; АГ), в связи с чем ее активность может служить показателем усиления СО биомолекул [10,11]. Инактивация данного фермента может сопровождаться накоплением субстрата - цитрата, способного оказывать антиоксидантный эффект за счет хелатирования прооксидантных ионов Fe^{2+} .

В плане терапии ишемических состояний сердечной мышцы в настоящее время большое значение приобретает такое направление, как миокардиальная цитопротекция, направленная на оптимизацию процессов образования и расходования энергии, коррекцию функций дыхательной цепи, нормализацию баланса между интенсивностью процессов СО и антиоксидантной защитой [12]. Интерес с точки зрения проявления активности подобного рода вызывают производные сукцината и хитозана. Сукцинат (янтарная кислота) обладает антигипоксантами и антиоксидантными свойствами, способностью восстанавливать НАД-зависимое дыхание и ресинтез АТФ, усиливать устойчивость митохондрий к пероксидной деградации, увеличивать концентрацию такого антиоксиданта, как восстановленный глутатион [13-16]. Хитозан – β -(1,4)-2-амино-2-дезоксид-глюкан (рис. 1) – деацетилованный аналог хитина, также обладающий широким спектром биологической активности – антимуtagenной, антиоксидантной, иммуномодулирующей, гиполипидемической, гипохолестеринемической и другими [17,18].

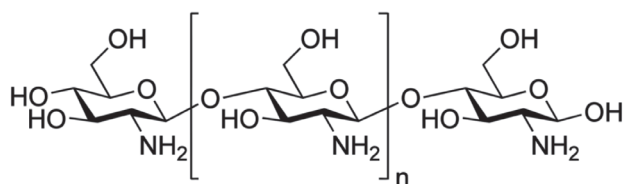


Рис. 1. Структурная формула хитозана

В связи с вышесказанным, актуальным представляется исследование воздействия сукцината хитозана на интенсивность свободнорадикальных процессов на фоне развития экспериментального инфаркта миокарда у крыс, которое было принято в данной работе.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объекта исследования использовали белых лабораторных крыс-самцов линии Вистар массой 200-250 г. Все манипуляции

были выполнены в соответствии с требованиями Международных правил гуманного обращения с лабораторными животными и Санитарными правилами по отбору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Повреждение миокарда у животных опытных групп было индуцировано путем подкожного введения синтетического катехоламина изопротеренола (изопреналин, L- β -(3,4-дигидроксифенил)- α -изопропиламиноэтанолгидрохлорид) в дозе 85 мг/кг в виде раствора в 0.5 мл 0.9% NaCl в течение 2-х суток с интервалом в 24 часа [19]. Забор материала для исследований – венозной крови и ткани миокарда, производили через 48 часов после первой инъекции изопротеренола.

В ходе работы животные были разделены на 4 экспериментальные группы: 1 (n=14) – контрольная; 2 (n=12) – животные с индуцированным ИМ; 3 (n=9) – крысы, которым на фоне развития патологии вводили внутривенно препарат сравнения Милдронат («Grindex», Латвия) в дозе 3.5 мг/кг в виде раствора в 0.5 мл 0.9% NaCl трижды в день в течение 2-х суток; 4 (n=10) – животные, которым на фоне развития повреждения миокарда вводили сукцинат низкомолекулярного хитозана (соль, молекулярная масса 5 кДа; содержание примесей не более 1.2%; получен на фармацевтическом факультете Воронежского государственного университета) в дозе 12 мг/кг веса по той же схеме. Первое введение милдроната или сукцината хитозана осуществляли через 15 минут после подкожной инъекции изопротеренола.

Для получения сыворотки кровь забирали из правого предсердия в чистую стеклянную пробирку без антикоагулянта и помещали на 15 минут в термостат при температуре 37°C, затем центрифугировали 15 мин при 2500g. Извлеченное сердце после промывания гомогенизировали в 3-х-кратном объеме охлажденной среды выделения следующего состава: 50 мМ трис-HCl-буфер (pH 7.8), 1 мМ ЭДТА, 1% β -меркаптоэтанол.

В качестве маркеров цитолиза кардиомиоцитов использовали креатинкиназу-МВ (КК-МВ) и аспаратаминотрансферазу (АсАТ). Активность ферментов определяли с помощью диагностических наборов ООО «Ольвекс Диагностикум», Россия: КК-МВ – по энзиматическому кинетическому иммунологическому методу, АсАТ – методом Райтмана-Френкеля по конечной точке.

Содержание диеновых конъюгатов – продуктов пероксидного окисления липидов – определяли спектрофотометрически при длине волны

233 нм. Для оценки уровня продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) использовали метод, основанный на взаимодействии окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином. Активность АГ определяли спектрофотометрически при 240 нм в среде, содержащей 50 мМ трис-НСI-буфер (рН 7.8), 4 мМ цитрат. Содержание белка определяли по унифицированному биуретовому методу.

Для статистической обработки полученных данных использовали стандартные методы. Обсуждаются статистически достоверные различия при $p < 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе работы обнаружено возрастание активности КК-МВ и АсАТ в сыворотке крови животных 2-ой группы относительно контроля, что свидетельствует о цитолизе кардиомиоцитов и развитии повреждения миокарда в условиях эксперимента (рис. 2). При введении крысам на фоне развития экспериментального ИМ милдроната и сукцината хитозана было отмечено снижение активности маркерных ферментов цитолиза по сравнению с патологией: АсАТ – в 1.3 и 1.7 раза, КК-МВ – в 1.1 и 1.3 раза (рис. 2). Наблюдаемое снижение активности исследуемых ферментов относительно данных для животных 2-ой группы может быть объяснено с точки зрения меньшей степени повреждения клеток миокарда у крыс в условиях действия препарата сравнения и тестируемого соединения, то есть наличия у них кардиопротекторных свойств.

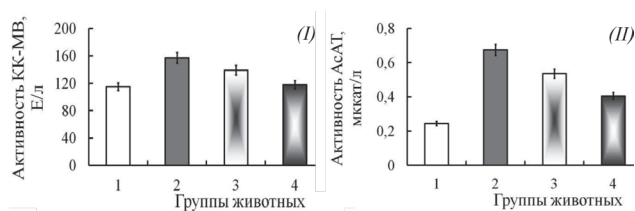


Рис. 2. Активность КК-МВ (I) и АсАТ (II) в сыворотке крови животных экспериментальных групп: 1 – контроль, 2 – экспериментальный ИМ, 3 – введение милдроната на фоне развития патологии, 4 – введение сукцината хитозана на фоне развития патологии

Поскольку развитие оксидативного стресса, приводящее к повреждению структур биомолекул, является общепринятым звеном патогенеза ИМ, в данной работе было предпринято изучение содержания продуктов СО биомолекул – диеновых конъюгатов и продуктов ОМБ. Подтвержде-

нием усиленной генерации активных форм кислорода и их атаки на липиды и белки в условиях индукции повреждения миокарда под действием изопротеренола может служить накопление продуктов липопероксидации и СО белков, выявленное как в сердечной мышце, так и в сыворотке крови (рис. 3, 4).

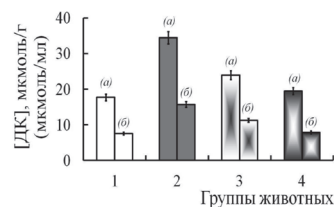


Рис. 3. Содержание диеновых конъюгатов в сердце (а) и сыворотке крови (б) животных экспериментальных групп: 1 – контроль, 2 – экспериментальный ИМ, 3 – введение милдроната на фоне развития патологии, 4 – введение сукцината хитозана на фоне развития патологии

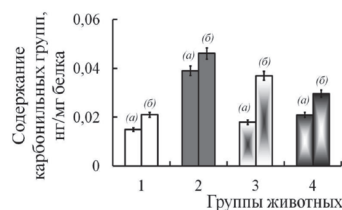


Рис. 4. Содержание продуктов окислительной модификации белков в сердце (а) и сыворотке крови (б) животных экспериментальных групп: 1 – контроль, 2 – экспериментальный ИМ, 3 – введение милдроната на фоне развития патологии, 4 – введение сукцината хитозана на фоне развития патологии

При введении сукцината хитозана на фоне развития ИМ уровень диеновых конъюгатов и продуктов ОМБ снижался в сердечной мышце крыс в 1.8 и 1.9 раза, в сыворотке крови – в 2.0 и 1.6 раза по сравнению с патологией. Действие милдроната также сопровождалось изменением данных показателей в сторону контрольных – так, содержание продуктов перексидного окисления липидов в этом случае уменьшалось в сердце и сыворотке крови в 1.4 раза, продуктов ОМБ – в 2.2 и 1.3 раза соответственно (рис. 3,4). Полученные данные могут быть объяснены ингибирующим влиянием препарата сравнения и сукцината хитозана на процессы СО окисления биомолекул в организме при развитии патологии, в основе которого лежат различные механизмы. Так, мельдоний (действующее вещество милдроната) способен вызывать торможение СО липидов в результате

ингибирования карнитин-зависимого окисления жирных кислот, его применение у пациентов с ССЗ способствует снижению содержания в крови продуктов пероксидного окисления липидов. Предполагают, что кроме метаболического действия мелдоний может и сам выступать в роли «ловушки» свободных радикалов [20-22]. Что касается сукцината хитозана, то в основе его действия может лежать проявление компонентами данного средства антигипоксанта и антиоксидантного эффектов. Так, сукцинат может быть вовлечен в нормализацию работы дыхательной цепи митохондрий, улавливание свободных радикалов и хелатирование прооксидантных металлов переменной валентности, протекание рециклов других низкомолекулярных антиоксидантов, направленных на восстановление активной формы антиоксидантов [13-15]. Выраженность антиоксидантных свойств хитозана зависит от молекулярной массы, степени деацелирования и полимеризации олигомеров, типа и степени замещения функциональных групп, разветвления полисахаридной цепи и других особенностей [17,18]. Более выраженные антиоксидантные свойства характерны для олигомеров хитозана с низкой молекулярной массой, что делает более доступными участки молекулы, ответственные за антиоксидантные свойства – аминогруппы (в целом, различные формы атома азота) и гидроксильные группы) [23].

Наряду с определением содержания продуктов окислительной модификации липидов и белков, было проведено исследование активности АГ – данный показатель также может выступать характерным критерием для развития оксидативного стресса. Было показано, что при моделировании изопротеренол-индуцированного повреждения миокарда активность фермента в сердце, выраженная в виде Е/г сырой массы ткани, снижалась в 2.3 раза, в сыворотке крови, выраженная в виде Е/мл, – в 3.5 раза относительно контрольных значений (рис. 5). При введении сукцината хитозана было отмечено повышение активности фермента относительно данных при патологии. Так, активность АГ, выраженная в виде Е/г сырой массы, в сердце возрастала в 1.9 раза, выраженная в виде Е/мл, в сыворотке крови, – в 2.8 раза. При действии милдроната было выявлено повышение данных показателей в 1.7 раза по сравнению с данными при ЭИМ. Сходные значения были получены при расчете активности аконитазы в виде Е/мг белка (рис. 5). Увеличение активности АГ, вероятно, обусловлено уменьшением степени повреждения

молекулы фермента свободными радикалами и реконструкцией его железо-серного кластера в условиях реализации протекторных свойств тестируемых фармакологических средств.

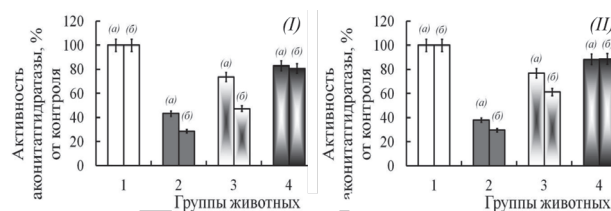


Рис. 5. Активность аконитатгидратазы в сердце (а) и сыворотке крови (б) животных экспериментальных групп: 1 – контроль, 2 – экспериментальный ИМ, 3 – введение милдроната на фоне развития патологии, 4 – введение сукцината хитозана на фоне развития патологии; (I) – выраженная в виде Е/г сырой массы сердца или Е/мл сыворотки крови, (II) – выраженная в виде Е/мг белка

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты указывают на способность сукцината хитозана и милдроната оказывать протекторное и позитивное регулирующее воздействие на свободнорадикальный гомеостаз при повреждении миокарда, индуцированном введением изопротеренола. Это подтверждается снижением в сторону контроля содержания продуктов липопероксидации и окислительной модификации белков, которые накапливаются в организме при развитии оксидативного стресса, а также возрастанием активности АГ. Приведенные в работе данные в большинстве случаев свидетельствуют о более выраженном позитивном действии сукцината хитозана по сравнению с милдронатом, что может быть связано с более широким спектром видов активности данного соединения.

Авторы выражают благодарность заведующему кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государственного университета, профессору, доктору фармацевтических наук А.И. Сливкину за предоставленный образец для исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глуценко В.А., Иркиенко Е.К. // Медицина и организация здравоохранения. 2019. Т.4, №1. С. 56-63.
2. Ложкина Н.Г., Гущина О.И., Велькин Р.А. // «Российский Национальный Конгресс Кардиологов. Кардиология 2022: Новая стратегия в новой реальности — открытость, единство, суверени-

тет», сборник трудов конгресса, 29 сентября - 1 октября 2022 г., Казань, 2022, С. 244.

3. Стрюкова Е.В., Карасева А.А., Евдокимова Н.Е., Худякова А.Д., Щербакова Л.В., Логвиненко И.И. // «Российский Национальный Конгресс Кардиологов. Кардиология 2022: Новая стратегия в новой реальности — открытость, единство, суверенитет», сборник трудов конгресса, 29 сентября - 1 октября 2022 г., Казань, 2022, С. 341.

4. Павлющенко Л.В., Рудь С.С., Ковальский Ю.Г., Лебедько О.А., Обухова Г.Г., Березина Г.П., Миляева Л.Н., Шульмина Е.В. // Дальневосточный медицинский журнал. 2012. №3. С. 6-9.

5. Голиков А.П., Бойцов С.А., Михин В.П. // Кардиология. 2003. №4. С. 70-74.

6. Константинова Е.В., Константинова Н.А. // Вестник РГМУ. 2010. №1. С. 60-64.

7. Madamanchi N.R., Vendrov A., Runge M.S. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005. Vol. 25, pp. 29–38.

8. Closa D., Folch-Puy E. // IUBMB Life. 2004. Vol. 56, No. 4, pp. 185–191.

9. Watson W.H., Chen Y., Jones D.P. // Biofactors. 2003. Vol. 17, pp. 307-314.

10. Gardner P.R., Nguyen D.M., White C.W. // Proc. Nat. Acad. Sci. 1994. Vol. 91, No. 25, pp. 12248-12252.

11. Murakami K., Yoshino M. // Biochem. Mol. Biol. Int. 1997. Vol. 41, No. 3, pp. 481-486.

12. Михин В.П. // Архив внутренней медицины. 2011. №1. С. 21-27.

13. Коваленко А.В., Белякова Н.В. // Фармация. 2000. № 5-6. С. 40-43.

14. Ивницкий Ю.Ю., Головки А.И., Софронов Г.А. Янтарная кислота в системе средств метаболической коррекции функционального состояния и резистентности организма. СПб., Лань, 1998, 82 с.

15. Румянцева С.А. // Вести интенсивной терапии. 2005. № 3. С. 23-26.

16. Орлов Ю.П., Говорова Н.В. // Общая реаниматология. 2014. Т. 10, № 6. С. 65-78.

17. Biopolymers for medical and pharmaceutical applications / Ed. by A. Steinbeuchel and R.H. Marchessault. Vol.1: Humic substances, polyisoprenoids, polyesters, and polysaccharides. Weinheim, Wiley-VCH, 2005, 1145 p.

18. Ильина А.В., Варламов В.П. // Прикладная биохимия и микробиология. 2016. Т. 52, №1. С. 5-20.

19. Korkmaz-Icöz S. // The Journal of Physiological Sciences. 2016. Vol. 66, No. 2, pp. 113-125.

20. Dambrova M., Liepinsh E., Kalvinsh I. // Trends Cardiovasc. Med. 2002. Vol. 12, No. 6, pp. 275–279.

21. Гордеев И.Г., Лучинкина Е.Е., Люсов В.А. // Российский кардиологический журнал. 2009. Т.1, №75. С. 31–37.

22. Михин В.П., Поздняков Ю.М., Хлебодаров Ф.Е., Кольцова О.Н. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2012. Т.11, № 1. С. 96–103.

23. Петрович Ю.А., Григорьянц Л.А., Гурин А.Н., Гурин Н.А. // Стоматология. 2008. Т.87, №4. С. 72-78.

*Воронежский государственный университет
Веревкина Л. А., аспирант кафедры медицинской биохимии и микробиологии
E-mail: kirichencko.liudm@yandex.ru*

**Сафонова О. А., кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биохимии и микробиологии
E-mail: solya333@mail.ru*

*Попова Т. Н., доктор биологических наук, профессор, декан медико-биологического факультета, зав. кафедрой медицинской биохимии и микробиологии
E-mail: popova@bio.vsu.ru*

*Voronezh State University
Verevkina L.A., postgraduate student, Department of Medical Biochemistry and Microbiology
E-mail: kirichencko.liudm@yandex.ru*

**Safonova O. A., PhD., Associate Professor, Department of Medical Biochemistry and Microbiology
E-mail: solya333@mail.ru*

*Popova T. N., PhD., DSci., Full Professor, Dean of the Faculty of Medicine and Biology, Head of the Department of Medical Biochemistry and Microbiology
E-mail: popova@bio.vsu.ru*

Рахманова Т. И., кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биохимии и микробиологии

E-mail: rtyana@mail.ru

Rakhmanova T. I., PhD., Associate Professor, Department of Medical Biochemistry and Microbiology

E-mail: rtyana@mail.ru

Нежинский А. А., студент кафедры медицинской биохимии и микробиологии

E-mail: nejinsky2011@yandex.ru

Nezhinskij A. A., student, Department of Medical Biochemistry and Microbiology

E-mail: nejinsky2011@yandex.ru

Звягинцев Е. С., студент кафедры медицинской биохимии и микробиологии

E-mail: stride.red@mail.ru

Zvyagincev E. S., student, Department of Medical Biochemistry and Microbiology

E-mail: stride.red@mail.ru

EFFECT OF CHITOSAN SUCCINATE ON THE INTENSITY OF FREE RADICAL PROCESSES IN RATS WITH EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

L.A. Verevkina, O.A. Safonova, T.N. Popova, T.I. Rakhmanova,
A.A. Nezhinsky, E.S. Zvyagintsev

Voronezh State University

Abstract. The influence of chitosan succinate on the content of lipid peroxidation and proteins oxidative modification products, as well as the activity of aconitate hydratase, which is a sensitive target for free radicals, in rats with experimental myocardial infarction was assessed. This compound was chosen due to the wide spectrum of activity of its components - succinate is able to exhibit antihypoxant and antioxidant properties, chitosan - antioxidant, immunomodulatory ones and others. Myocardial damage in animals of the experimental groups was induced by subcutaneous injection of synthetic catecholamine isoproterenol. Mildronate was used as a reference drug. The analysis of the conjugated dienes level was carried out spectrophotometrically at 233 nm. The content of proteins oxidative modification products was measured by reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine. The activity of aconitate hydratase was evaluated spectrophotometrically at 240 nm. The introduction of the studied protector at a dose of 12 mg/kg of weight against the background of the pathology development contributed to a decrease in the level of conjugated dienes and proteins oxidative modification products in the heart of animals by 1.8 and 1.9 times, in blood serum - by 2.0 and 1.6 times towards the control. Under these conditions, the aconitate hydratase activity increased in comparison with the data obtained at experimental myocardial infarction, which may be associated with a lower degree of enzyme molecule damage under the action of free radicals. Thus, the activity of aconitase, expressed as U/g wet weight, increased 1.9 times in the heart, expressed as U/ml, in blood serum - 2.8 times. The obtained results may be associated with the inhibitory effect of chitosan succinate on the processes of biomolecules free radical oxidation during the pathology development and the implementation of its cardioprotective effect. The latter is evidenced by a change in the activity of cardiomyocytes cytolysis marker enzymes - creatine kinase-MB and aspartate aminotransferase - in the blood serum of animals towards control. Under the action of mildronate, changes in the recorded parameters - the activity of cardiomyocytes cytolysis markers, the content of lipids and proteins oxidative modification products, the aconitate hydratase activity - towards control were also revealed, however, in most cases, they expressed to a lesser extent.

Keywords: isoproterenol myocardial infarction, chitosan succinate, mildronate, free radical processes, aconitate hydratase

REFERENCES

1. Glushchenko V.A., Irklienko E.K., Meditsina i organizatsiya zdravookhraneniya, 2019, Vol. 4, No. 1, pp. 56-63.

2. Lozhkina N.G., Gushchina O.I., Vel'kin R.A., «Rossiiskii Natsional'nyi Kongress Kardiologov. Kardiologiya 2022: Novaya strategiya v novoi real'nosti — otkrytost', edinstvo, suverenitet».

Proceedings of the Congress, September 29 – October 1, 2022, Kazan', 2022, p. 244.

3. Stryukova E.V., Karaseva A.A., Evdokimova N.E., Khudyakova A.D., Shcherbakova L.V., Logvinenko I.I., «Rossiiskii Natsional'nyi Kongress Kardiologov. Kardiologiya 2022: Novaya strategiya v novoi real'nosti — otkrytost', edinstvo, suverenitet», Proceedings of the Congress, September 29 – October 1, 2022, Kazan', 2022, p. 341.

4. Pavlyushchenko L.V., Rud' S.S., Koval'skii Yu.G., Lebed'ko O.A., Obukhova G.G., Berezina G.P., Milyaeva L.N., Shul'mina E.V., Dal'nevostochnyi meditsinskii zhurnal, 2012, No. 3, pp. 6-9.

5. Golikov A.P., Boitsov S.A., Mikhin V.P., Kardiologiya, 2003, No. 4, pp. 70-74.

6. Konstantinova E.V., Konstantinova N.A., Vestnik RGMU, 2010, No. 1, pp. 60-64.

7. Madamanchi N.R., Vendrov A., Runge M.S., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2005, Vol. 25, pp. 29–38.

8. Closa D., Folch-Puy E., IUBMB Life, 2004, Vol. 56, No. 4, pp. 185–191.

9. Watson W.H., Chen Y., Jones D.P., Biofactors, 2003, Vol. 17, pp. 307-314.

10. Gardner P.R., Nguyen D.M., White C.W., Proc. Nat. Acad. Sci., 1994, Vol. 91, No. 25, pp. 12248-12252.

11. Murakami K., Yoshino M., Biochem. Mol. Biol. Int., 1997, Vol. 41, No. 3, pp. 481-486.

12. Mikhin V.P., Arkhiv vnutrennei meditsiny, 2011, No. 1, pp. 21-27.

13. Kovalenko A.V., Belyakova N.V., Farmatsiya, 2000, No. 5-6, pp. 40-43.

14. Ivnitiskii Yu.Yu., Golovko A.I., Sofronov G.A. Yantarnaya kislota v sisteme sredstv metabolicheskoi korreksii funktsional'nogo sostoyaniya i rezistentnosti organizma, SPb., Lan', 1998, 82 p.

15. Rumyantseva S.A., Vesti intensivnoi terapii, 2005, No. 3, pp. 23-26.

16. Orlov Yu.P., Govorova N.V., Obshchaya reanimatologiya, 2014, Vol. 10, No. 6, pp. 65-78.

17. Biopolymers for medical and pharmaceutical applications / Ed. by A. Steinbeuchel and R.H. Marchessault. Vol.1: Humic substances, polyisoprenoids, polyesters, and polysaccharides. Weinheim, Wiley-VCH, 2005, 1145 p.

18. Il'ina A.V., Varlamov V.P., Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya, 2016, Vol. 52, No. 1, pp. 5-20.

19. Korkmaz-Icöz S., The Journal of Physiological Sciences, 2016, Vol. 66, No. 2, pp. 113-125.

20. Dambrova M., Liepinsh E., Kalvinsh I., Trends Cardiovasc. Med., 2002, Vol. 12, No. 6, pp. 275–279.

21. Gordeev I.G., Luchinkina E.E., Lyusov V.A., Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal, 2009, Vol. 1, No. 75, pp. 31–37.

22. Mikhin V.P., Pozdnyakov Yu.M., Khlebodarov F.E., Kol'tsova O.N., Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika, 2012, Vol. 11, No. 1, pp. 96–103.

23. Petrovich Yu.A., Grigor'yants L.A., Gurin A.N., Gurin N.A., Stomatologiya, 2008, Vol. 87, No. 4, pp. 72-78.