

# ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЕ И АНТИАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ОРИГИНАЛЬНОГО ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 615.272, 4.015, 4.07  
<https://doi.org/10.7816/RCF17379-84>

© **И.В. Окуневич, Н.Н. Ключева, Н.С. Парфенова, Е.В. Белова**

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Окуневич И.В., Ключева Н.Н., Парфенова Н.С., Белова Е.В. Гиполипидемическое и антиатеросклеротическое действие отечественного оригинального ферментного препарата в эксперименте // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2019. – Т. 17. – № 3. – С. 79–84. <https://doi.org/10.7816/RCF17379-84>

Поступила: 04.07.2019

Одобрена: 14.08.2019

Принята: 19.09.2019

Экспериментальное масштабное исследование посвящено результатам многолетнего изучения биологической, гиполипидемической и антиатеросклеротической активности оригинального отечественного ферментного препарата микробного происхождения холестериноксидазы (ХСО). В опытах *in vitro* была выявлена способность ХСО снижать содержание холестерина в пищевых продуктах (молоко и яичные желтки). Данный способ перспективен для использования в пищевой промышленности при получении диетических продуктов, обедненных холестерином. Для возможного применения ферментного препарата ХСО в медицинской практике в качестве гиполипидемического и антиатеросклеротического средства были проведены доклинические исследования. В хронических опытах *in vivo* (крысы, кролики, собаки) была установлена низкая токсичность, хорошая переносимость и антиатеросклеротическое действие препарата ХСО. Для оценки действия ХСО в условиях уме-

ренной алиментарной дислипидемии проведены эксперименты на трех видах животных (крысы, морские свинки, кролики). Было показано, что при пероральном введении в дозах от 0,16 до 2–20 единиц активности ферментный препарат ХСО оказывает выраженное гиполипидемическое действие. Отмечено, что в результате применения ХСО значительно улучшается липидный спектр сыворотки крови, нарушенный при моделировании дислипидемии, при этом снижается содержание холестерина атерогенных липопротеинов низкой и промежуточной плотности и увеличивается концентрация холестерина антиатерогенных липопротеинов высокой плотности. Обнаруженные ценные свойства ферментного препарата ХСО представляют интерес для будущего внедрения в качестве липидснижающего средства.

◆ **Ключевые слова:** холестерин; атеросклероз; дислипидемия; холестериноксидаза.

## LIPID-LOWERING AND ANTI-ATHEROSCLEROTIC ACTIVITY OF THE NATURAL ORIGINAL ENZYME PREPARATION IN THE EXPERIMENT

© **I.V. Okunevich, N.N. Klyueva, N.S. Parfenova, E.V. Belova**

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

For citation: Okunevich IV, Klyueva NN, Parfenova NS, Belova EV. Lipid-lowering and anti-atherosclerotic activity of the natural original enzyme preparation in the experiment. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(3):79-84. <https://doi.org/10.7816/RCF17379-84>

Received: 04.07.2019

Revised: 14.08.2019

Accepted: 19.09.2019

The experimental large-scale investigation *in vitro* and *in vivo* is devoted to the results of a long-term study of the biological, lipid-lowering and anti-atherosclerotic activity of the original natural microbial enzyme preparation of cholesterol oxidase (CHO). In chronic experiments (rats, rabbits, dogs), low toxicity, good tolerability, and anti-atherosclerotic activity of the CHO preparation were established. To assess the effect

of CHO in conditions of moderate nutritional dyslipoproteinemia, experiments were carried out in 3 species of animals (rats, guinea pigs, rabbits). It was shown the pronounced lipid-lowering effect of CHO in modeling dyslipoproteinemia.

◆ **Keywords:** cholesterol; atherosclerosis; dyslipoproteinemia; cholesterol oxidase.

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что развитие атеросклероза (АС) вызывает появление наиболее серьезных клинических осложнений (ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт), которые приводят к инвалид-

ности и высокой смертности больных сердечно-сосудистыми заболеваниями [3, 5]. Одной из причин коморбидного патогенеза АС является накопление в организме человека избыточного количества холестерина (ХС) в артериальной стенке (атеросклеротические повреждения) и в крови — в виде ате-

рогенной дислипотеинемии (ДЛП). Известно, что атерогенная ДЛП относится к ведущему, но модифицируемому фактору риска АС. Для лечения АС и ДЛП применяются немногочисленные гиполипидемические препараты, имеющие серьезные побочные эффекты. Помимо использования липид-снижающих средств профилактики АС необходимо сокращать поступление ХС с пищей, то есть больным рекомендуется употреблять продукты с низким содержанием ХС. Данные ряда популяционных исследований показывают, что существует прямая корреляционная связь между количеством ХС в пище и уровнем ХС в крови, поэтому ограничение приема пищевого ХС — необходимый шаг перед началом интенсивной фармакотерапии АС. Следует подчеркнуть, что уменьшать количество ХС можно и путем его повышенного выведения из организма. Это происходит после длительного приема синтетического сорбента холестирамина в дозе 18–24 г в день, но это крайне неудобно для пациента, так как вызывает выраженные нарушения деятельности желудочно-кишечного тракта. Следовательно, по-прежнему актуален направленный поиск биологически активных веществ различного происхождения, которые корректируют нарушение липидного обмена, особенно среди соединений, близких естественным метаболитам организма. С этой целью применяются как природные ферменты, так и препараты, полученные биотехнологическим путем. Препараты ферментов — амилазы, липоксигеназы, липазы, галактозидазы, пектиназы, пепсина и многих других — находят широкое применение в пищевой промышленности и медицинской практике. Эти ферменты являются действительно высоко активными, а главное, нетоксичными катализаторами, которые обладают исключительной субстратной специфичностью, без них в организме невозможны многие жизненно важные биохимические процессы. Например, при инфаркте миокарда весьма информативны диагностические пробы с ферментами аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ) и КФ (креатинфосфат). Лактат и глюкозооксидаза используются для определения концентрации глюкозы в крови и моче. Липазы требуются для гидролиза жиров и эфиров жирных кислот. Препарат фермента супероксиддисмутазы применяют в качестве метаболического средства для лечения гипоксии, болезней сердца, при трансплантации почек. Протеолитические ферменты (стрептокиназа, урокиназа) необходимы для растворения тромбов, удаления из организма токсических веществ [1, 2].

Источником фермента холестериноксидазы (ХСО) [ЕС1.1.3.6.] являются бактерии *Streptomyces lavendulae*. ХСО относится к классу оксидоредуктаз, имеет молекулярную массу 55 кДа и катализирует окислительно-восстановительные реакции, в частности окисление гидроксильного радикала ХС в положении С3 с образованием кетона (холест-4-ен-3-он)

и перекиси водорода. ХСО применяют в лабораторной диагностике для определения в сыворотке крови уровня общего ХС и ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). В научной литературе отмечен значительный интерес к проблемам, связанным с изучением модификаций ХСО. Современное биотехнологическое применение ХСО, получаемой из различных источников, ее новые физико-химические, биологические и физиологические свойства активно изучаются во многих зарубежных лабораториях [2, 4, 6, 8].

Наше внимание привлек оригинальный отечественный препарат фермента ХСО природного происхождения. Технология получения субстанции ХСО из *Streptomyces lavendulae* штамм ВКМА-5921 почвенного происхождения была разработана в Институте антибиотиков и ферментов медицинского назначения (Санкт-Петербург).

*Цель исследования* — выявить биологическую активность, гиполипидемическое и антиатеросклеротическое действие бактериального ферментного препарата ХСО из источника (*Streptomyces lavendulae* штамм ВКМА-5921) в модельных опытах *in vitro* и *in vivo*.

## МЕТОДИКА

Экспериментальные исследования проведены в два этапа. Первый, начальный этап был необходим для выявления специфического действия ХСО. Второй этап посвящен задаче определения влияния ХСО на развитие умеренно высокой ДЛП в модельных опытах на трех видах экспериментальных животных.

В начале первого этапа изучали способность препарата ХСО связывать ХС из пищевых продуктов в опытах *in vitro*, затем исследовали биологическую активность *in vivo* (острую и хроническую токсичность на мышах и крысах) и антиатеросклеротическое действие на кроликах. Всего было использовано следующее количество половозрелых экспериментальных животных (самцов): 100 мышей (18–20 г), 350 крыс (180–200 г), 30 кроликов (2,5–2,7 кг), 5 собак (15–18 кг). Эксперименты выполнены в соответствии с Правилами работы с лабораторными животными, которых содержались в условиях искусственного освещения в помещении со свободным доступом к воде и корму.

Во втором этапе серия опытов проведена на более взрослых самцах животных: 155 крысах (250–300 г), 20 морских свинок (360–380 г) и 18 кроликах (3,0–3,5 кг), которых содержались в тех же стандартных условиях вивария. Опытные образцы ферментного препарата ХСО вводили ежедневно, перорально, в дозах, рассчитанных в единицах активности (от 0,16 до 10 ЕД).

Экспериментальную, алиментарную ДЛП (гиперлипидемию) у крыс, морских свинок и кроликов

вызывали в соответствии с «Методическими рекомендациями по доклиническому изучению новых гиполипидемических и антиатеросклеротических средств» (2012). Для этого использовали атерогенный рацион — гиперхолестериновую (ГХС) диету. У крыс умеренно высокую гиперлипидемию вызывали применением специальной ГХС диеты, скармливая опытным рацион, обогащенный пищевым холестерином (ХС) в виде 5 % прогретой смеси с подсолнечным маслом и повреждающим тиреоидсупрессорным агентом — метилтиоурацилом (МТУ 0,12 %) в течение 20 дней. Гиперлипидемию у морских свинок создавали кормлением ГХС диетой, содержащей избыточное количество пищевого ХС (0,5 г/кг) и смесью жиров (подсолнечное масло / свиной жир 3 : 1) в течение 20 дней. Умеренно высокую гиперлипидемию у кроликов моделировали, используя пищевой ХС (0,5 г/кг), перемешанный вместе с небольшим количеством капусты, в течение 12–24 дней. Перед окончанием опытов всех подопытных животных отсаживали на голод в течение 18 ч. Крыс и морских свинок забивали быстрой декапитацией, кроликов — мгновенной воздушной эмболией. В полученной крови и печени определяли содержание общего ХС (ОХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) с помощью наборов реактивов Ranbaxy (Великобритания). По общепринятой формуле А.Н. Климова рассчитывали важный коэффициент — индекс атерогенности крови (ИА):

$$\text{ОХС} - \text{ХС ЛПВП} / \text{ХС ЛПВП}.$$

Кроме того, сыворотку крови крыс, морских свинок и кроликов исследовали, используя метод ультрацентрифугирования в градиенте плотности калия бромида (KBr) для анализа распределения спектра липопротеинов: ЛП промежуточной плотности (ЛППП), ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП), ЛП низкой плотности (ЛПНП), ЛПВП. Статистическую обработку данных производили, сравнивая средние значения величин, с помощью однофакторного ANOVA теста при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение биологической активности препарата ХСО для коррекции экспериментального АС в опытах *in vitro* и *in vivo* коллектив авторов проводил в течение трех лет в четырех сериях исследований комплексно — в лаборатории экспериментальной фармакотерапии и отделе биохимии Института экспериментальной медицины (Санкт-Петербург).

Первый, начальный этап исследований выявил отчетливую специфическую активность тестируемого препарата — микробного ферментного препарата ХСО. Согласно протоколам опытов были получены следующие результаты.

В первой серии исследований в опытах *in vitro* было показано, что микробный препарат фермента ХСО в суммарной дозе 300–400 ЕД проявляет специфическую биологическую активность в уменьшении концентрации ХС в натуральных пищевых продуктах. Так, после добавления препарата ХСО с исходной концентрацией 0,16 ЕД/мл активности к 1 л цельного 6 % молока было обнаружено, что после инкубации в термостате при 37 °С в течение 3 ч наблюдалось снижение уровня общего ХС на 48 % ( $p < 0,05$ ). После аналогичной инкубации пяти яичных желтков (с исходным содержанием ХС 15,64 мг/мл) концентрация ХС в них уменьшилась на 51 % ( $p < 0,05$ ). Кроме того, при инкубации смешанных образцов в течение 3 ч при комнатной температуре концентрация в яичных желтках была в 1,5 раза ниже, чем в исходном продукте. Важно подчеркнуть, что при этом способе пищевые продукты не потеряли своих вкусовых и естественных качеств.

Во второй серии исследований в опытах *in vivo* у мышей и крыс определяли острую токсичность ХСО. Хроническую токсичность препарата изучали в длительных экспериментах (крысы — 3 месяца) и (собаки — 5 месяцев). Острую токсичность ХСО у мышей и крыс определить не удалось, так как даже большие дозы ХСО не оказывали патологического действия. Обнаружено, что пероральное введение препарата ХСО в опытах в дозах 300–400 ЕД животные переносят без осложнений. Кроме того, для выяснения влияния на жизненно важные системы и органы были проведены хронические опыты на крысах и собаках. Установлено, что ежедневное применение ХСО пероральной дозы с исходной активностью от 0,16 до 1,0–20,0 ЕД/мг не оказывает токсического действия на организмы крыс и собак при длительном применении (3 и 5 месяцев соответственно). Анализ деятельности желудочно-кишечного тракта, крови по форменным элементам и морфологии органов (сердце, печень, почки, надпочечники, селезенка) не выявил серьезных патологических изменений у опытных животных.

В третьей серии опытов моделирования на кроликах алиментарного АС (3 месяца) без использования ферментного препарата ХС было отмечено появление и развитие выраженных атеросклеротических повреждений в аортах опытных животных при ежедневном скармливании яичных желтков. В то же время в аортах группы кроликов, получавших в тех же условиях в качестве препарата сравнения гиполипидемический препарат клофибрат, наблюдались начальные диффузные поражения стенки аорты.

В четвертой серии опытов при изучении переносимости ХСО в эффективной дозе 20 ЕД у кроликов (3 месяца) и собак (5 месяцев) обнаружено, что ежедневное пероральное введение тестируемого препарата в разных дозах и яичных желтков не вызывало никаких поражений в аортах экспериментальных животных.

Таким образом, в опытах *in vitro* и *in vivo* была установлена низкая токсичность, биологическая

активность и антиатеросклеротическое действие изучаемого микробного препарата ХСО.

На втором этапе исследований была поставлена задача — выяснить, в какой степени препарат ХСО может влиять на развитие умеренно высокой алиментарной ДЛП у крыс, морских свинок и кроликов. Использование в опытах трех видов экспериментальных животных (грызунов) обусловлено особенностями липидного спектра их крови, который различается следующим образом. У кроликов основное количество ХС распределено по фракциям атерогенных липопротеинов (ЛПОНП, ЛППП и ЛПНП) и антиатерогенных ЛПВП равномерно. У крыс основной пул ХС находится в антиатерогенных ЛПВП, а у морских свинок — в атерогенных фракциях ЛПОНП и ЛПНП. Следует отметить, что морские свинки более чувствительны к созданию моделируемой ДЛП, чем кро-

лики и крысы. Моделирование алиментарной ДЛП (гиперлипидемии) у морских свинок осуществляли пероральным введением с помощью зонда прогретой смеси жиров и избытка пищевого ХС в течение 20 дней. Крысы менее чувствительны к воздействию скармливания атерогенного рациона, поэтому им необходимо длительно вводить ГХС диету не только со смесью жиров и избыточным количеством ХС, но и использовать в высоких дозах такие повреждающие агенты, как МТУ, холевая кислота, витамин D<sub>2</sub> в течение 21–30 дней. Разработкой и внедрением алиментарных моделей ДЛП для экспериментальной работы занималась одна из авторов данной статьи — И.В. Окуневич [7].

Полученные во втором этапе результаты опытов по изучению влияния ХСО на развитие умеренной алиментарной ДЛП представлены в табл. 1–4.

■ Таблица 1. Влияние препарата холестериноксидазы на показатели липидного обмена в сыворотке крови и печени морских свинок при пероральном введении в течение 20 дней

Группа животных	ХС сыворотки	ТГ сыворотки	ХС печени	ТГ печени
1. Интактные морские свинки	1,19 ± 0,13	0,61 ± 0,14	2,5 ± 0,07	5,8 ± 0,4
2. ГХС диета	6,49 ± 0,72*	18,0 ± 0,36*	13,8 ± 0,09*	26,5 ± 3,2*
3. ГХС диета + ХСО	4,14 ± 0,54#	14,3 ± 0,27#	10,5 ± 0,08#	20,0 ± 1,7#

Примечание: \* различия достоверны в сравнении групп 1 и 2 при  $p < 0,05$ ; # различия достоверны в сравнении групп 2 и 3, при  $p < 0,05$ . ХС — холестерин, ХСО — холестериноксидаза, ТГ — триглицериды, ГХС — гиперхолестериновая.

■ Таблица 2. Влияние препарата разных доз холестериноксидазы на показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс при пероральном введении в течение 30 дней

Группа животных	ХС сыворотки	ТГ сыворотки	ХС ЛПВП	Индекс атерогенности
1. Интактные крысы	1,40 ± 0,03	0,78 ± 0,02	0,93 ± 0,07	0,50
2. ГХС диета	4,69 ± 0,13*	0,42 ± 0,05*	0,55 ± 0,06*	7,43
3. ГХС диета + ХСО 2 ЕД	4,01 ± 0,15*.#	0,56 ± 0,07*	0,64 ± 0,08*.#	5,26
4. ГХС диета + ХСО 4 ЕД	3,96 ± 0,17*.#	0,52 ± 0,04*	0,73 ± 0,06*.#	4,43
5. ГХС диета + ХСО 8 ЕД	3,78 ± 0,31*.#	0,50 ± 0,03*	0,81 ± 0,09*.#	3,66
6. ГХС диета + ХСО 10 ЕД	2,92 ± 0,18*.#	0,51 ± 0,08*	0,96 ± 0,08*.#	2,04
7. ГХС диета + ХСО 20 ЕД	2,79 ± 0,27*.#	0,49 ± 0,06*	0,97 ± 0,05*.#	1,74

Примечание: \* различия достоверны в сравнении групп 1 и 2 при  $p < 0,05$ ; # различия достоверны в сравнении групп 2 (ГХС диета) и 3, 4, 5, 6, 7, при  $p < 0,05$ . ХС — холестерин, ХСО — холестериноксидаза, ТГ — триглицериды, ЛПВП — липопротеины высокой плотности, ГХС — гиперхолестериновая.

■ Таблица 3. Влияние препарата холестериноксидазы на показатели липидного обмена в сыворотке крови и печени крыс при пероральном введении в течение 13 дней (диета — 22 дня)

Группа животных	ХС сыворотки	ТГ сыворотки	ХС печени	ТГ печени
1. Интактные крысы	1,32 ± 0,08	0,73 ± 0,06	4,45 ± 0,38	7,53 ± 0,91
2. ГХС диета	3,17 ± 0,13*	0,42 ± 0,05*	21,15 ± 0,96*	23,4 ± 1,03*
3. ГХС диета + ХСО 2 ЕД	1,71 ± 0,05*.#	0,32 ± 0,07*	14,48 ± 1,03*.#	12,0 ± 1,13*.#

Примечание: \* различия достоверны в сравнении групп 1 и 2 при  $p < 0,05$ ; # различия достоверны в сравнении групп 2 и 3 при  $p < 0,05$ . ХС — холестерин, ХСО — холестериноксидаза, ТГ — триглицериды, ГХС — гиперхолестериновая.

■ Таблица 4. Влияние препарата холестериноксидазы, вводимой перорально в течение 12 и 24 дней, на изменение уровня липидов сыворотки крови у кроликов с дислипидемией

Группа животных	n	ХС сыворотки крови (ммоль/л)			ТГ сыворотки (ммоль/л)			Индекс атерогенности, ЕД 24 дня
		Начало опыта	Через 12 дней	Через 24 дня	Начало опыта	Через 12 дней	Через 24 дня	
1. Интактные морские свинки	5	1,1 ± 0,21	2,0 ± 0,44	1,4 ± 0,10	0,94 ± 0,10	0,90 ± 0,28	1,04 ± 0,08	1,0
2. ГХС диета	5	1,2 ± 0,16	29,7 ± 3,80*	45,0 ± 2,82*	0,62 ± 0,11*	1,67 ± 0,32*	2,45 ± 0,24*	149,0
3. ГХС диета + ХСО	8	1,2 ± 0,05	24,5 ± 2,70*.#	11,7 ± 2,64*.#	0,91 ± 0,15*.#	0,42 ± 0,11*.#	0,97 ± 0,21*.#	12,0

Примечание: n — число животных в группе, \* различия достоверны в сравнении групп 1 и 2, \*,\*# различия достоверны в сравнении с группами 2 и 3, при  $p < 0,05$ . ХС — холестерин, ХСО — холестериноксидаза, ТГ — триглицериды.

Введение препарата ХСО морским свинкам способствовало снижению уровня липидов в сыворотке крови и в печени данных животных (см. табл. 1). Так, уровень ХС в крови снизился на 49 %, в печени — на 26 %, содержание в сыворотке крови уменьшилось на 21 %, в печени — на 25 %, что свидетельствовало о выраженном гиполлипидемическом действии изучаемого препарата. При тестировании влияния разных доз ХСО на модели алиментарной ДЛП у крыс (см. табл. 2) обнаружено, что при увеличении дозирования препарата наблюдалось достоверное снижение общего ХС сыворотки крови (группы 3–7 в сравнении с группой 2). Отмечено также позитивное увеличение концентрации ХС антиатерогенных ЛП — ХС ЛПВП (сниженной в результате моделирования ДЛП). При этом при анализе степени атерогенности сыворотки крови обнаружено снижение величины расчетного коэффициента: ИА составляет от 5,26 до 1,74 (группа 2 и опытные группы 3–7). В следующем эксперименте на модели ДЛП у крыс на ГХС диете было показано гиполлипидемическое действие ХСО у крыс, получавших тестируемый препарат ХСО: ХС в сыворотке крови снижался на 47 %, в печени — на 34 %. Из-за использования в атерогенном рационе тиреоид-супрессорного агента МТУ уровень ТГ сыворотки крови не увеличивался. Липид-снижающий эффект ХСО — снижение ТГ под влиянием препарата — наблюдался только в печени (см. табл. 3, группы 3 и 2). В табл. 4 приведены результаты, полученные после перорального введения ХСО кроликам. Из данных видно, что через 12 дней и, в большей степени, через 24 дня кормления животных гиперхолестериновой диетой значительно увеличилось содержание ХС в сыворотке крови и величина ИА (более чем в 12 раз) по сравнению с нормальными животными (группы 3 и 2). Результаты опытов, проведенных на трех видах экспериментальных животных (грызунов), свидетельствуют об имеющемся у препарата ХСО гиполлипидемическом действии в условиях моделирования алиментарной ДЛП.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в двухэтапном экспериментальном исследовании установлены биологическая активность, гиполлипидемическое и антиатеросклеротическое действия ферментного препарата микробного происхождения холестериноксидазы. Полученные данные расширяют наше представление о фармакологическом действии фермента холестериноксидазы, что может иметь перспективу его внедрения в практику.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Безбородов А.М., Загустина Н.А. Ферментативные реакции в химикоэнзиматическом синтезе лекарственных препаратов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016. – Т. 52. – № 3. – С. 257–271. [Bezborodov AM, Zagustina NA. Fermentativnye reaktsii v khimikoenzimaticheskom sinteze lekarstvennykh preparatov. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2016;52(3):257-271. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S055510991603003X>.
2. Bogdanov M. Mapping of membrane protein topology by substituted cystein accessibility method (SCAM™). *Methods Mol Biol*. 2017;1615:105-128. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7033-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7033-9_9).
3. Catapano AL, Lautsch D, Tokgözüglü L, et al. Prevalence of potential familial hypercholesterolemia (FH) in 54,811 statin-treated patients in clinical practice. *Atherosclerosis*. 2016;252:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.007>.
4. Gadberry JE, Sampson NS. Use of an Isotope-Coded Mass Tag (ICMT) method to determine the orientation of cholesterol oxidase on model membranes. *Biochemistry*. 2018;57(36):5370-5378. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b00788>.
5. Khatib R, Mckee M, Shannon H, et al. Availability and affordability of cardiovascular disease medicines and their effect on use in high-income, middle-income and low-income countries: an analysis of PURE study data. *Lancet*. 2016;387(10013):61-9. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00469-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00469-9).

6. Kreit I, Sampson NS. Cholesterol oxidase: biochemistry and structure features: Review. *FEBS J.* 2009;276(23):6844-56. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07378.x>
7. Okunevich IV, Knychenko LK, Sapronov NS. Pharmacological activity of sulfobisanion in models of experimental dyslipoproteinemia *Pharm Chem J.* 2013;47(7):374-377. <https://doi.org/10.1007/s11094-013-0962-x>.
8. Vrilink A, Ghisla S. Cholesterol oxidase: biochemistry and features. *FEBS J.* 2009;276(23):6826-6843. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07377.x>.

## ♦ Информация об авторах

*Ирина Викторовна Окуневич* — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: [irina\\_okunevich@mail.ru](mailto:irina_okunevich@mail.ru).

*Наталья Николаевна Ключева* — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела биохимии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: [nnklyueva@gmail.com](mailto:nnklyueva@gmail.com).

*Нина Соломоновна Парфёнова* — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела биохимии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: [nina.parf@mail.ru](mailto:nina.parf@mail.ru).

*Елена Владимировна Белова* — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела биохимии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: [irina\\_okunevich@mail.ru](mailto:irina_okunevich@mail.ru).

## ♦ Information about the authors

*Irina V. Okunevich* — Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [irina\\_okunevich@mail.ru](mailto:irina_okunevich@mail.ru).

*Natalia N. Klyueva* — Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Department of Biochemistry. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [nnklyueva@gmail.com](mailto:nnklyueva@gmail.com).

*Nina S. Parfenova* — Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher of the Department of Biochemistry. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [nina.parf@mail.ru](mailto:nina.parf@mail.ru).

*Elena V. Belova* — Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Department of Biochemistry. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [irina\\_okunevich@mail.ru](mailto:irina_okunevich@mail.ru).