

На правах рукописи

АЗИМОВ Эрустам Адамович

**КОРРЕКЦИЯ ПАТОБИОХИМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ
ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕДСТВ ЭНЕРГОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ**

1.5.4. Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России).

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Быков Илья Михайлович.

Официальные оппоненты:

Терехина Наталья Александровна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии, заведующая кафедрой;

Микашинович Зоя Ивановна, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей и клинической биохимии № 1, профессор кафедры.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 14 февраля 2023 года в 13.00 час. на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (350063, Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861) 2625018).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан " ____ " _____ 202_ г.

Учёный секретарь

диссертационного совета 21.2.014.02

доктор медицинских наук,
профессор



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Ишемически-реперфузионный синдром широко встречается в клинической практике и является основой развития повреждения различных органов при нарушении и восстановлении их кровоснабжения, что имеет место при развитии сердечно-сосудистых заболеваний, некоторых хирургических заболеваний, сопровождающихся обтурацией или сдавлением кровеносных сосудов, а также при трансплантации органов [А.В. Шабунин и соавт., 2018]. Ишемические и реперфузионные поражения печени происходят при ее трансплантации и частичной резекции, при пережатии кровеносных сосудов гепатодуоденальной связки во время хирургических операций, при шоке различной этиологии [М.И. Ремизова, 2020; S. Shi et al., 2021]. Поэтому существенный интерес вызывают фундаментальные аспекты развития и течения метаболических изменений при реперфузии органа, а также способы профилактики развивающихся нарушений. В настоящее время разработано большое количество способов коррекции, а молекулярные основы ишемии-реперфузии изучены достаточно подробно [J. Li et al., 2015; M.E. Cornide-Petronio et al., 2020]. Между тем вопрос эффективной коррекции повреждения печени после ее частичной сосудистой изоляции остается нерешенным, тем более ни один из предлагаемых способов не внедрен в клиническую практику. Наиболее эффективным способом профилактики повреждения органа при гипоксии и реоксигенации сегодня считается ишемическое preconditionирование, реализация которого в реальной клинической ситуации связана с высокими рисками дополнительного повреждения патологически измененного органа [Y. Du et al., 2019; J. Wu et al., 2021]. Поэтому мы считаем, что разработка оптимальной комбинированной схемы коррекции с использованием эндогенных субстратов, коферментов и антиоксидантов имеет наибольшие перспективы использования в хирургической гепатологии.

Степень разработанности темы. Реперфузионный синдром печени сопровождается дисфункцией микроциркуляторного русла и оксидативным стрессом, приводящим к некрозу и апоптозу гепатоцитов. Важную роль в его патогенезе играют токсические вещества, поступающие в системный кровоток, что обуславливающие общую интоксикацию. Восстановление кровотока не способствует устранению этих изменений, наоборот, ситуация усугубляется повреждающим действием свободных радикалов и цитокинов, поступающих в печень по мере реперфузии [I. Prieto, M. Monsalve et al., 2017; A. Ramachandran, H. Jaeschke et al., 2018; E.S. Ali et al., 2021]. Реперфузионные повреждения печени развиваются в 2 фазы. Ранняя развивается в первые 6 часов после восстановления кровотока и рассматривается как результат быстрого изменения редокс-статуса печеночной ткани. Поздняя фаза характеризуется активацией цитокинов и хемокинов с последующим развитием воспаления и инфильтрации печеночной ткани лимфоцитами [X. Yang et al., 2020; J. Wang et al., 2022].

Одним из направлений в исследованиях по профилактике поражения гепатоцитов при ишемии-реперфузии печени была попытка использования химических соединений, влияющих на различные стороны патогенеза, лежащих в

основе патологического процесса [А.П. Довгань и соавт., 2018]. Фармакологическая коррекция, работающая на терминальном участке сигнальных защитных путей, представляет собой некоторое упрощение системы, реализующейся в виде всего набора сигнальных защитных путей, часть из которых или все вместе активируется при ишемическом прекондиционировании [J. Li et al., 2015]. Поиск фармакологических средств для прекондиционирования может сводиться к поиску средств, имитирующих ишемическое прекондиционирование. Примеры: аденозин, агонисты рецепторов аденозина, агонисты протеинкиназы C, препараты, открывающие АТФ-зависимые K⁺-каналы, доноры оксида азота [А.П. Тарасова, 2018; М.Н. Ходосовский, 2019; К.А. Попов и соавт., 2022; J.J. Franko et al., 2022]. Перспективные способы профилактики ишемически-реперфузионных нарушений связаны с воздействием на энергетический метаболизм с целью увеличения устойчивости клетки к гипоксии и повышению функциональных возможностей антиоксидантной системы [С. Hu et al., 2021]. Также такие энерготропные средства, как пропионил L-карнитин, оказывает защитное действие от повреждений, вызываемых ишемией/реперфузией, которое обусловлено снижением продукции гидроксил радикалов в реакции Фентона в результате связывания ионов железа. Имеются данные об эффективности использования различных антиоксидантных средств в коррекции ишемических нарушений, в частности перспективными являются ферментные препараты на основе супероксиддисмутазы и каталазы [K. Bavarsad et al., 2019; M. Ferreira-Silva et al., 2022]. Следовательно, коррекция патобиохимических нарушений при ишемически-реперфузионном поражении печени с использованием энерготропных средств может стать основой для разработки новых, научно обоснованных методик, позволяющих улучшить качество трансплантационных и других обширных операций на печени и снизить риск развития послеоперационных осложнений.

Цель исследования: повысить эффективность фармакологической коррекции патобиохимических нарушений при ишемически-реперфузионном поражении печени с использованием энерготропных средств.

Задачи исследования:

1. Определить особенности изменений показателей окислительного гомеостаза на местном и системном уровне в условиях частичной васкулярной эксклюзии печени у крыс.
2. Оценить эффективность метаболической коррекции патобиохимических изменений при ишемически-реперфузионном повреждении печени крыс с использованием гепатопротектора энерготропного действия – ремаксолола.
3. Проанализировать возможности повышения эффективности ремаксолола за счет использования в условиях ишемии-реперфузии печени энерготропных средств с разными механизмами действия: уменьшающие степень лактацидоза, компоненты дыхательной цепи, антиоксиданты.
4. Определить особенности влияния энерготропной коррекции на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови в условиях экспериментального моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени крыс.

5. Определить особенности влияния энерготропной коррекции на состояние окислительного гомеостаза в ткани печени крыс в условиях экспериментального моделирования ишемически-реперфузионного повреждения.

Научная новизна. В исследовании впервые:

1. Определено гепатопротекторное действие ремаксолола в условиях экспериментального моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени крыс, что выражалось в статистически значимо более низких значениях активности АЛТ и АСТ – на 18-21 % ниже в сравнении с показателями группы животных, которым метаболическая коррекция не проводилась.

2. Определен эффект усиления цитопротективного действия ремаксолола при дополнительном введении восстановленного глутатиона и убихинона в условиях моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени крыс.

3. Показано отсутствие какого-либо дополнительного эффекта, выражающегося в изменении характеристик цитолитического синдрома или окислительного стресса, при сочетанном введении дихлорацетата натрия или L-карнитина с ремаксололом в условиях моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени крыс.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о развитии и течении ишемически-реперфузионных повреждений печени, роли окислительного стресса на местном и системном уровне и возможности его коррекции для профилактики цитолиза гепатоцитов. Практическая значимость диссертационного исследования заключается в экспериментальном обосновании возможности повышения гепатопротекторной активности ремаксолола при острых повреждениях печени за счет дополнительного введения средств энерготропной направленности с разными механизмами действия, что может послужить основой для разработки и апробации в клинических условиях новых схем терапии или лекарственных средств.

Методология и методы исследования. Исследование проведено с использованием самцов белых беспородных крыс ($n = 90$). Были использованы половозрелые особи массой 200–250 грамм, прошедшие карантин на базе учебно-производственного отдела (вивария) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Животные были разделены на девять групп: контрольная группа животных (1-я группа), 2-я группа сравнения (ИРП без коррекции), 3-я группа – животные с ИРП и введение ремаксолола, 4-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и дихлорацетата натрия, 5-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и убихинона, 6-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и глутатиона, 7-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и L-карнитина, 8-я группа – животные с ИРП с предварительным введением убихинона, 9-я группа – животные с ИРП с предварительным введением глутатиона. Ишемически-реперфузионное повреждение печени моделировали путем пережатия сосудистых ножек, питающих левую боковую и левую центральную доли на 40 минут. Эксперимент выполняли на фоне общего обезболивания Золетилом 100. После снятия зажима выжидали ре-

перфузионный период длительностью 3 часа с последующим забором крови и ткани печени. Введение средств для метаболической профилактики осуществляли внутривенно предварительно за сутки до и непосредственно перед выполнением эксперимента. Спектр лабораторных исследований включал определение маркеров цитолиза гепатоцитов – активность АСТ, АЛТ и ЛДГ в плазме крови, маркеров окислительного стресса в крови и гомогенате печени, содержания лактата и пирувата в гомогенате печени.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Экспериментальное моделирование повреждения печени в условиях 40-минутной частичной ишемии и 3-х часового реперфузионного периода сопровождается увеличением активности аминотрансфераз в плазме крови в 17–19 раз и развитием окислительного стресса, проявления которого в гомогенате печени в 2 раза превышали системные изменения в крови.

2. Ремаксол в условиях ишемии-реперфузии печени способен оказывать небольшое гепатопротекторное действие, что подтверждено статистически значимо более низкими значениями активности АЛТ и АСТ – на 18–21 % ниже группы сравнения.

3. Введение на фоне моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени убихинона или глутатиона совместно с ремаксолом позволило увеличить эффективность гепатопротекторного действия.

4. Введения глутатиона совместно с ремаксолом крысам с ишемически-реперфузионным повреждением печени обеспечивало поддержание состояния ферментного звена антиоксидантной системы, введение убихинона совместно с ремаксолом обеспечивало дополнительную поддержку преимущественно ферментативного звена.

5. Для снижения выраженности цитолитического синдрома на фоне ишемии-реперфузии необходимым является нормализация баланса прооксидантно-антиоксидантной системы, дополнительное снижение уровня лактатацидоза в этих условиях не способствовало усилению гепатопротекторного действия ремаксолом.

Степень достоверности и апробации работы. Экспериментальные работы и лабораторные исследования выполнены на базе учебно-производственного отдела (вивария) и лаборатории кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, оснащенными всем необходимым современным оборудованием. Для выполнения статистической обработки результатов исследования использовали AnalystSoft Inc., StatPlus – программа статистического анализа, версия 7. Обработку данных проводили с учетом проверки нормальности распределения выборок и использования непараметрических критериев.

Диссертационное исследование выполнено в рамках комплексной темы научно-исследовательской работы кафедры фундаментальной и клинической биохимии № 121110900082-3 «Исследование молекулярных механизмов патологических процессов в условиях коморбидных форм социально значимых заболеваний» в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Основные результаты выполненной диссертационной работы доложены и обсуждены на XIII Всемирном конгрессе по астме, аллергии и иммунопатологии, III Международном конгрессе по молекулярной аллергологии (Москва, 2020), III объединенном научном форуме физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII Съезде биохимиков России, X Российском симпозиуме «Белки и пептиды», VII Съезде физиологов СНГ (Сочи – Дагомыс, 2021), научно-практической конференции с международным участием «Биохимия XXI века», посвященной 90-летию кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (Краснодар, 2021).

Внедрение результатов исследования. Основные результаты диссертационного исследования, сформулированные в качестве практических рекомендаций, внедрены в лабораторную практику Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Ключевые теоретические положения, сформулированные в результате выполнения диссертации, внедрены в учебный процесс кафедры общей и клинической патологической физиологии, и кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и используются для чтения лекционного материала и проведения практических занятий по дисциплине «Клиническая биохимия».

Публикации. Всего по материалам диссертационного исследования опубликовано 10 научных работ, из которых 5 – 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.

Личный вклад автора в исследование. Диссертантом разработан дизайн исследования (90 %), выполнен информационный поиск, включающий анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы (92 %), самостоятельно выполнены все экспериментальные и лабораторные исследования, проведена статистическая обработка данных (88 %). Соискателем сформулированы выводы, положения, выносимые на защиту, предложения для внедрения и практические рекомендации (90 %). Диссертант принимал непосредственное участие в написании статей (72 %) и тезисов (83 %), подготовил текст, таблицы и рисунки для диссертации (97 %).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, иллюстрирована 12 таблицами и 22 рисунками. Список литературы содержит 139 источников, из которых 33 отечественных и 106 зарубежных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено с использованием самцов белых беспородных крыс ($n = 90$). Были использованы половозрелые особи массой 200–250 грамм, прошедшие карантин на базе учебно-производственного отдела (вивария) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Проведение экспериментальных работ с лабораторными животными было одобрено на заседании независимого этического комитета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 80 от 27.09.2019 г.) и было основано на этических принципах, изложенных в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986). Все болезненные манипуляции выполняли только после общего обезболивания с использованием препарата «Золетил 100» (Франция).

Животные были разделены в соответствии с дизайном исследования на девять групп: контрольная группа животных (1-я группа), 2-я группа сравнения (ИРП без коррекции), 3-я группа – животные с ИРП и введение ремаксолола, 4-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и дихлорацетата натрия, 5-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и убихинона, 6-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и глутатиона, 7-я группа – животные с ИРП с предварительным введением ремаксолола и L-карнитина, 8-я группа – животные с ИРП с предварительным введением убихинона, 9-я группа – животные с ИРП с предварительным введением глутатиона (рисунок 1). Ишемически реперфузионное повреждение печени моделировали путем пережатия сосудистых ножек, питающих левую боковую и левую центральную доли зажимом типа Бульдог на 40 минут. Эксперимент выполняли на фоне общего обезболивания Золетилом 100 после выполнения срединной лапаротомии. После снятия зажима и восстановления кровотока выжидали реперфузионный период длительностью 3 часа с последующим забором крови и ткани печени для выполнения лабораторных исследований. Введение средств для метаболической профилактики ИРП осуществляли внутрибрюшинно предварительно за сутки до эксперимента и непосредственно после выполнения срединной лапаротомии. Ремаксол вводили в объеме 2 мл, дихлорацетат вводили в дозировке 100 мг/кг, восстановленный глутатион вводили в дозировке 50 мг/кг, убихинон вводили в дозировке 100 мг/кг, карнитин вводили в дозировке 100 мг/мл.

Для оценки эффективности коррекции ИРП выполняли определение маркеров цитолиза гепатоцитов – активность АСТ, АЛТ и ЛДГ в плазме крови. Для оценки особенностей протекания энергетических процессов в гомогенате ткани печени было определено содержание молочной и пирувиноградной кислот. Для характеристики свободнорадикального гомеостаза в крови и гомогенате печени были определены: активность ферментов антирадикальной защиты (каталаза, супероксиддисмутаза, ферменты метаболизма глутатиона), содержание восстановленной формы глутатиона, уровень белковых тиоловых групп, продукция активных форм кислорода и накопление продуктов окислительных повреждений биомолекул (малоновый диальдегид, диеновые и триеновые конъюгаты, битиризин).



Рисунок 1 – Дизайн исследования – группы испытуемых животных.
Примечание: ИРП – ишемия-реперфузия печени, ДХА – дихлорацетат натрия, КоQ – убихинон.

Для выполнения статистической обработки результатов исследования использовали AnalystSoft Inc., StatPlus – программа статистического анализа. Версия 7 (см. www.analystsoft.com/ru/). Для проверки нормальности распределения выборок, с учетом их малого размера был выбран критерий Шапиро-Уилка. В большинстве случаев нулевая гипотеза об отсутствии отличий распределения от нормального была отклонена. В этой связи данные в диссертационной работе были представлены в виде медианы (Me) и процентилей (P_{25} и P_{75}). Для сравнения показателей использовали непараметрический критерий – критерий Краскела-Уоллиса, являющийся непараметрическим аналогом однофакторного дисперсионного анализа. Различия показателей при сравнении выборок считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. При условии обнаружения статистически значимых различий между группами в целом проводили попарные сравнения. Для этого был использован критерий Манна-Уитни с поправкой на число попарных сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ожидаемо на фоне моделирования экспериментального ишемически-реперфузионного поражения печени наблюдалось резкое увеличение значений активности АЛТ, АСТ и ЛДГ (таблица 1). Активность АЛТ на фоне ИРП в результате частичной васкулярной эксклюзии в течение 40-ка минут и 3-х часового реперфузионного периода была увеличена в плазме крови в 17 раз, АСТ – в 19 раз, ЛДГ – в 8,3 раза. В результате проведенных исследований было показано, что ремаксол действительно способен оказывать гепатопротекторное действие на модели ишемии-реперфузии печеночной паренхимы, что выражалось в статистически значимо более низких значениях активности АЛТ и АСТ, на 18–21 % ниже в сравнении с показателями 2-й группы. Полученные данные также являются свидетельством возможности и целесообразности модификации состава ремаксолола с целью повышения его эффективности при острых повреждениях печени. По данным анализа изменений активности аминотрансфераз в плазме крови, а также ЛДГ, дополнительное снижение активности цитолитического синдрома наблюдалось при применении ремаксолола в сочетании с убихиноном или восстановленным глутатионом. Снижение активности АЛТ и АСТ в плазме крови животных 5-й и 6-й групп достигало 27–32 % при сравнении со значением параметра 2-й группы лабораторных животных. Также только в этих экспериментальных группах (5-й и 6-й) было определено статистически значимое снижение уровня ЛДГ – на 22–29 % относительно значения показателя 2-й группы. В остальных случаях результат был аналогичен использованию только ремаксолола у животных 3-й группы сравнения.

Таблица 1 – Изменения маркеров цитолитического синдрома при ишемии-реперфузии печени крыс на фоне энерготропной коррекции (Ме (P₂₅/P₇₅))

Группы	Активность АЛТ, ед/л	Активность АСТ, ед/л	Активность ЛДГ, ед/л
1 (контрольная)	38,9 (35,3/40,3)	37,5 (34,4/39,5)	157,3 (146,0/168,0)
2 (ИРП без коррекции)	669,0 (640,5/775,8)*	718,0 (698,0/729,0)*	1336,5 (1274,5/1480,0)*
3 (ИРП+ремаксол)	549,5 (529,0/567,8)^	562,0 (546,5/577,5)^	1280,5 (1176,3/1356,3)
4 (ИРП+ремаксол+ДХА)	524,5 (505,8/562,3)^	547,0 (531,3/575,3)^	1129,5 (1002,3/1188,8)
5 (ИРП+ремаксол+КоQ)	488,0 (473,5/510,3)^	502,0 (482,3/514,8)^	1034,0 (965,8/1125,5)^
6 (ИРП+ремаксол+GSH)	455,0 (435,0/460,3)^	485,0 (457,0/499,0)^	936,5 (885,8/1018,0)^
7 (ИРП+ремаксол+карнитин)	552,0 (533,3/579,3)^	555,5 (540,8/583,8)^	1255,0 (1181,5/1304,0)

Примечание: * – статистически значимые отличия при сравнении показателей 1-й и 2-й групп; ^ – статистически значимые отличия при сравнении с показателем 2-й группы.

Определение активности АЛТ, АСТ и ЛДГ в плазме крови животных 8–9-й групп показало наличие цитопротективного действия убихинона и глутатиона при их изолированном введении аналогичного действию ремаксола, что позволило сделать вывод о синергетическом действии 3-х изученных метаболических средств энерготропной направленности действия.

Таким образом, собственно основную задачу усиления эффективности ремаксола удалось решить за счет дополнительного использования убихинона или восстановленного глутатиона. Более детальный анализ патофизиохимических изменений в крови и ткани печени животных после ишемически-реперфузионного повреждения позволил раскрыть еще ряд особенностей влияния средств энерготропной направленности действия.

Для оценки состояния окислительного гомеостаза на системном уровне проводили определение общей антиоксидантной активности железо-восстанавливающим методом и способом оценки радикальной сорбции (рисунок 2).

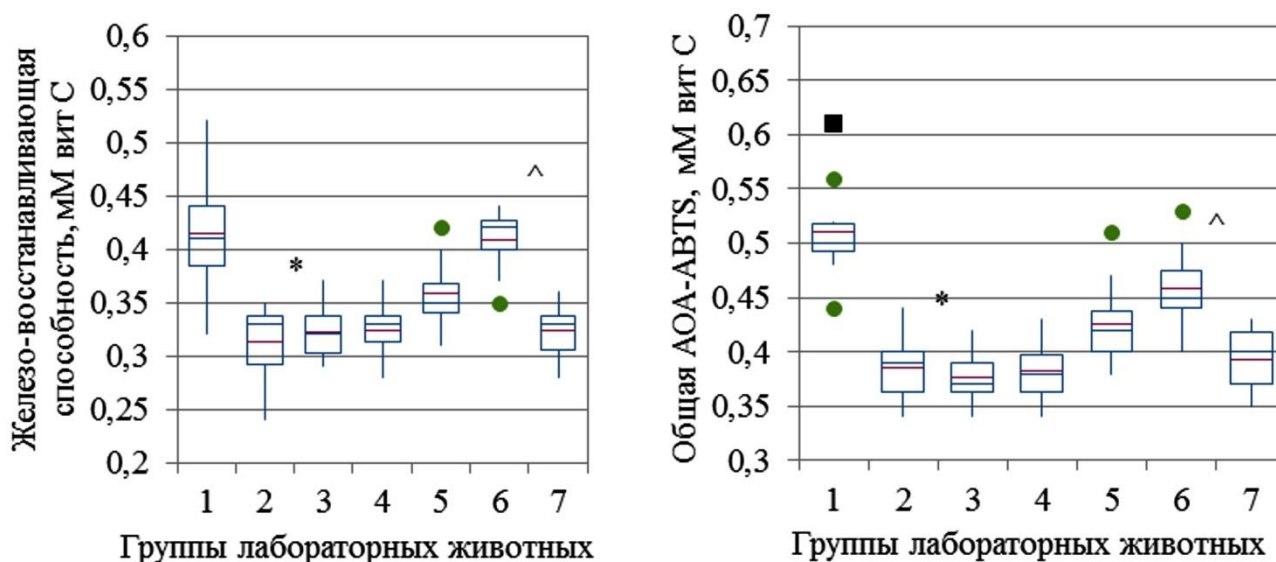


Рисунок 2 – Оценка изменений окислительного метаболизма в крови при ишемии-реперфузии печени и проведении энерготропной коррекции (Ме (P₂₅/P₇₅)).

Примечание: * – статистически значимые отличия при сравнении показателей 1-й и 2-й групп; ^ – статистически значимые отличия при сравнении с показателем 2-й группы.

Оценка данных интегральных показателей состояния системы антиоксидантной защиты показала сниженные их значения на 20–22 % после моделирования ИРП у крыс 2-й группы. На фоне проведения метаболической коррекции было определено статистически значимое увеличение железо-восстанавливающей способности плазмы крови животных только 6-й группы, но до уровня контрольных значений. Более высокие цифры способности радикальной сорбции ABTS, на 10–16 % выше чем во 2-й группе сравнения, были получены только при превентивном введении крысам 5-й группы ремаксола и убихинона, а также крысам 6-й группы ремаксола и глутатиона. Увеличение рассматриваемых показателей за счет введения восстановленного глутатиона было ожидаемо, учитывая его прямую антиоксидантную активность, то есть

способность непосредственно выступать в роли восстановителя. Тем не менее отсутствие изменений в других группах, относительно 2-й группы сравнения, свидетельствует о том, что этот фактор вряд ли является основным. Оценка способности радикальной сорбции показала более перспективные результаты. В данном случае была отмечена тенденция к росту данного показателя на фоне введения не только глутатиона, но и убихинона.

Определение уровня тиоловых групп белков плазмы крови показало схожие результаты с оценкой общей антиоксидантной активности. Данный показатель после ИРП был также ниже контроля на 19 % (таблица 2). При этом только дополнительное введение глутатиона было способно поддержать данное звено антиоксидантной системы, повышая уровень данного маркера до контрольного значения соответствующего параметра. В этом случае защита белковых сульфгидрильных групп низкомолекулярными тиолами может заключаться во временном образовании между ними дисульфидных связей. Этот процесс в условиях *in vivo* является обратимым, поэтому по мере снижения концентрации глутатиона в плазме крови, тиоловые группы белков могли высвобождаться уже по мере стихания патологического процесса. При этом в самую активную фазу развития патобиохимических нарушений именно глутатион, помимо его защитной роли в отношении SH-групп белков, мог обеспечивать основной эффект нивелирования действия прооксидантных факторов.

Таблица 2 – Изменения состояния неферментного тиолового звена антиоксидантной системы при ишемии-реперфузии печени крыс на фоне энерготропной коррекции (Ме (P₂₅/P₇₅))

Группы	Общие тиоловые группы, е.о.п. * 100/конц. белка	Концентрация глутатиона, мкмоль/мл
1 (контрольная)	0,31 (0,29/0,32)	2,46 (2,42/2,51)
2 (ИРП без коррекции)	0,25 (0,24/0,26)*	2,04 (1,98/2,11)*
3 (ИРП+ремаксол)	0,27 (0,26/0,29)	2,08 (2,02/2,14)
4 (ИРП+ремаксол+ДХА)	0,27 (0,25/0,30)	2,14 (2,05/2,19)
5 (ИРП+ремаксол+КоQ)	0,27 (0,26/0,27)	2,15 (2,07/2,21)
6 (ИРП+ремаксол+GSH)	0,30 (0,28/0,31)^	2,29 (2,25/2,38)^
7 (ИРП+ремаксол+карнитин)	0,26 (0,24/0,27)	2,10 (2,04/2,16)

Примечание: * – статистически значимые отличия при сравнении показателей 1-й и 2-й групп; ^ – статистически значимые отличия при сравнении с показателем 2-й группы.

Определение концентрации восстановленной формы глутатиона в эритроцитарной взвеси практически продублировало результаты, полученные в ходе исследования других звеньев системы антиоксидантной защиты, а также маркеров цитолиза гепатоцитов. Ожидаемо на фоне ИРП концентрация глутатиона снижалась в эритроцитах на 17 %, относительно контроля. Проведение метаболической коррекции ни одним из способов, кроме сочетанного введения ремаксолола и глутатиона, не продемонстрировало статистически значимого увеличения анализируемого параметра (таблица 2).

В данном случае проявления патологического процесса на системном уровне в течение 3-х часов реперфузии позволило в равной степени затронуть компоненты антиоксидантной защиты плазмы крови и эритроцитарной взвеси, что может свидетельствовать также о риске развития более тяжелых полиорганных осложнений. Полученные данные с одной стороны указывают на то, что глутатион мог оказывать эффект усиления гепатопротекторного действия ремаксолола за счет поддержки тиолового звена системы антиоксидантной защиты как в плазме крови, так и в эритроцитарной взвеси. С другой стороны, такой же эффект на показатели цитолиза и прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса оказывало введение убихинона совместно с ремаксололом, однако показатели системы глутатиона существенно не изменялись. Возможно, что эти два соединения по-разному реализуют свои цитопротективные эффекты.

Более детальный анализ состояния системы антиоксидантной защиты включал определение активности компонентов ее ферментативного звена: каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Состояние ферментативного звена системы антиоксидантной защиты находилось в большей зависимости от введения средств энерготропной направленности действия. Каталазная активность на фоне ИРП была существенно снижена и составляла только 57 % (16,5 (15,9/16,9) моль/(л·мин)) от контрольного уровня. На фоне введения ремаксолола или ремаксолола вместе с карнитином каталазная активность была выше, чем во 2-й группе сравнения, на 21–25 %. Совместное введение ремаксолола с дихлорацетатом натрия или восстановленным глутатионом характеризовалось значением активности анализируемого фермента антиоксидантной защиты на 38–43 % выше уровня показателя 2-й группы сравнения. Наиболее высокие значения каталазной активности были определены в эритроцитарной взвеси крыс 5-й группы на фоне совместного введения ремаксолола и убихинона (25,5 (24,5/26,0) моль/(л·мин)). В этой группе лабораторных животных рассматриваемый показатель на 55 % превышал значение соответствующего параметра группы животных, которым не проводилась коррекция ИРП.

Активность глутатионпероксидазы изменялась аналогично каталазной активности. На фоне ИРП активность данного фермента в эритроцитарной взвеси была ниже уровня контрольного показателя на 38 % (таблица 3). На фоне проведения корректирующих мероприятий глутатионпероксидазная активность имела тенденцию к более высоким значениям, чем у крыс 2-й группы сравнения. Наиболее высокие значения активности фермента были также характерны для группы животных, которым вводили ремаксолол сочетано с коэнзимом Q. Активность глутатионредуктазы в меньшей степени зависела от проведения метаболической профилактики ишемически-реперфузионного повреждения печени (таблица 3). При этом на фоне экспериментального моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени активность этого фермента была также ниже контрольного уровня на 30 %. Необычным было то, что активность глутатионредуктазы эритроцитарной взвеси на фоне превентивного введения глутатиона была на том же уровне, что и в крови животных 2-й группы. Возможно, что это было результатом субстратного ингибирования этого фермента на фоне высокой концентрации глутатиона или ингибирования по какому-то другому механизму.

Таблица 3 – Изменения состояния ферментативного тиолового звена антиоксидантной системы при ишемии-реперфузии печени крыс на фоне энерготропной коррекции ИРП (Ме (P₂₅/P₇₅))

Группы	Активность ГПО, ммоль/(л·мин)	Активность ГР, ммоль/(л·мин)
1 (контрольная)	320 (305/337)	255 (244/271)
2 (ИРП без коррекции)	200 (192/206)*	178 (168/188)*
3 (ИРП+ремаксол)	235 (215/243)^	195 (184/203)
4 (ИРП+ремаксол+ДХА)	239 (230/248)^	191 (179/195)
5 (ИРП+ремаксол+КоQ)	275 (268/291)^	204 (195/219)^
6 (ИРП+ремаксол+GSH)	260 (248/263)^	190 (186/194)
7 (ИРП+ремаксол+карнитин)	228 (221/234)^	192 (186/202)

Примечание: * – статистически значимые отличия при сравнении показателей 1-й и 2-й групп; ^ – статистически значимые отличия при сравнении с показателем 2-й группы.

Таким образом, наиболее высокие значения активности каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, то есть всех 3-х изученных ферментов, были характерны для группы крыс, которым вводили убихинон совместно с ремаксолом. Можно предположить, что основным приложением действия коэнзима Q было ферментативное звено системы антиоксидантной защиты, что также оказывало существенное протективное действие, выражающееся в снижении выраженности цитолиза гепатоцитов.

В качестве традиционных маркеров окислительного стресса использовали показатели, характеризующие накопление продуктов окислительных модификаций биомолекул. В результате оценки содержания ТБК-реактивных продуктов в эритроцитарной взвеси животных после моделирования ИРП было установлено увеличение данного параметра в 4,6 раза относительно контроля. В результате проведения метаболической коррекции по любой из предложенных схем наблюдался более низкий уровень тиобарбитурового числа. Наиболее заметное снижение относительно группы сравнения было зафиксировано при определении содержания ТБК-реактивных продуктов в эритроцитах животных 5-й и 6-й групп, составившее 30–35 %. Определение содержания остатков битирозина – продукта окисления белковых молекул было менее информативным, в сравнении с ТБК-реактивными продуктами. Это было связано, с тем что данный параметр увеличился на фоне ИРП не в разы, а только на 36 % (рисунок 3).

Представленные данные показали возможность коррекции ишемически-реперфузионных повреждений печени с использованием энерготропного средства – ремаксолом, а также возможность усиления эффекта последнего за счет комбинации его с убихиноном или глутатионом. Такие промежуточные выводы подтверждены оценкой маркеров цитолиза гепатоцитов, маркеров окислительного стресса и состояния системы антиоксидантной защиты на системном уровне – в крови. Для более детального анализа эффективности использования метаболической коррекции целесообразна оценка локальных изменений маркеров окислительного стресса в гомогенате печени.

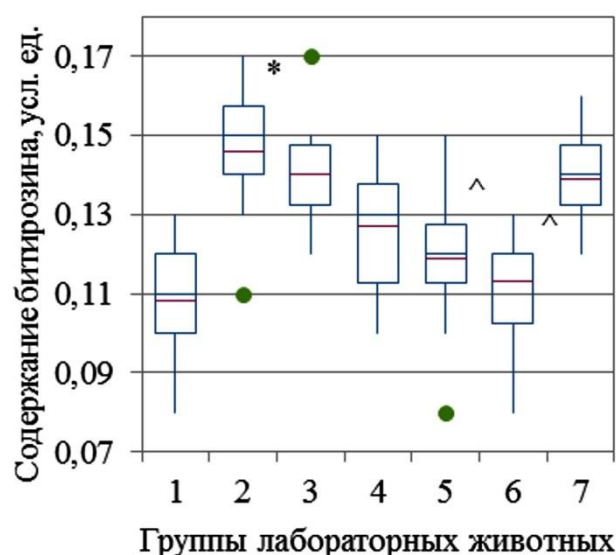
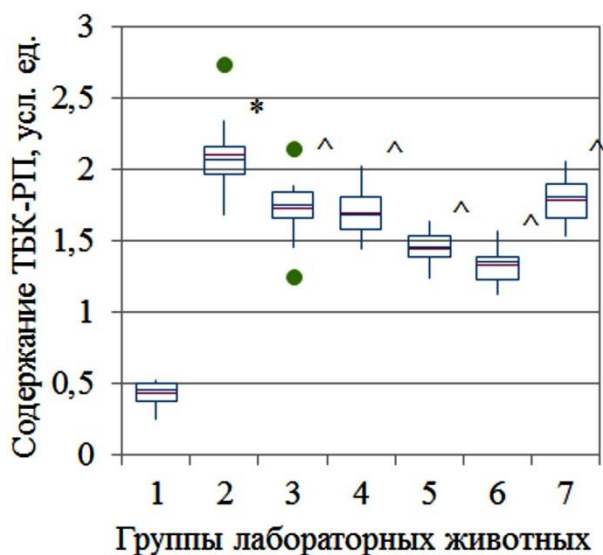


Рисунок 3 – Оценка выраженности окислительных повреждений биомолекул в крови при ишемии-реперфузии печени крыс на фоне энерготропной коррекции (Ме (P_{25}/P_{75})).
Примечание: * – статистически значимые отличия при сравнении показателей 1-й и 2-й групп; ^ – статистически значимые отличия при сравнении с показателем 2-й группы.

Характеристика состояния энергетического обмена, а именно соотношения аэробных и анаэробных процессов, была проведена с учетом изменений концентрации молочной кислоты и пировиноградной кислоты (рисунок 4).

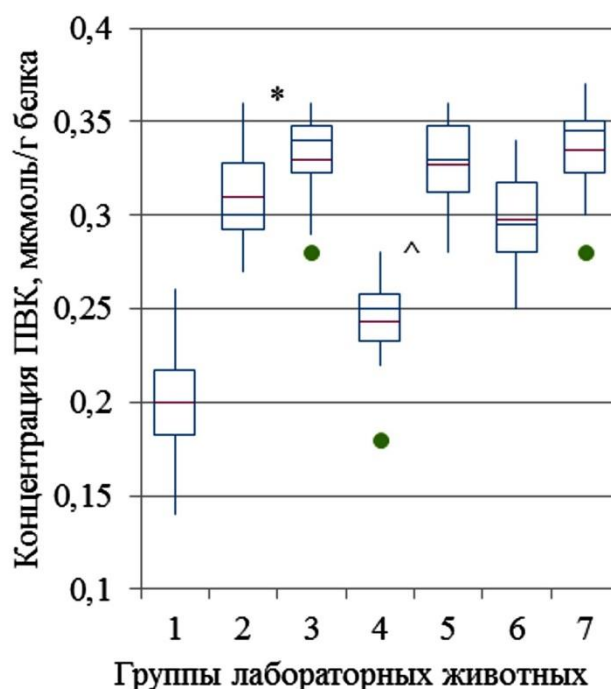
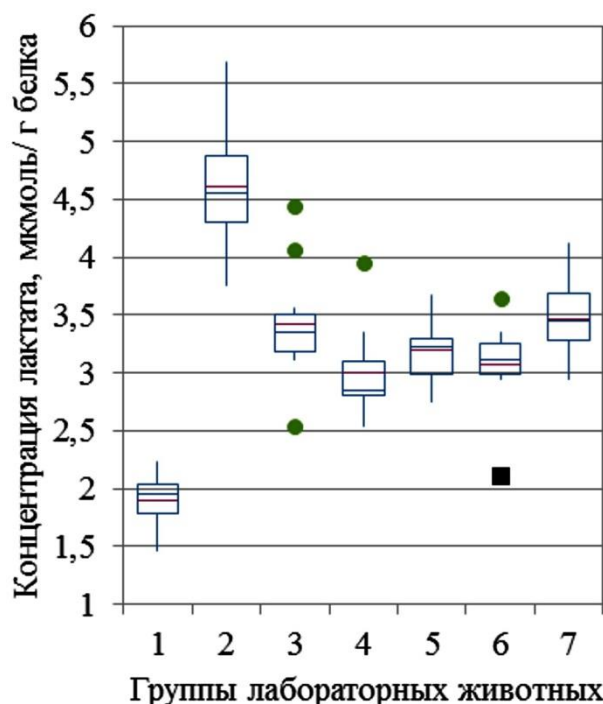


Рисунок 4 – Оценка активности анаэробного метаболизма в ткани печени при ишемии-реперфузии печени крыс на фоне энерготропной коррекции (Ме (P_{25}/P_{75})).
Примечание: * – статистически значимые отличия при сравнении показателей 1-й и 2-й групп; ^ – статистически значимые отличия при сравнении с показателем 2-й группы.

В результате проведенных исследований было установлено увеличение концентрации лактата и пирувата в ткани печени на фоне ИРП. В большей сте-

пени была увеличена концентрация молочной кислоты – в 2,3 раза, против увеличения уровня пирувата в 1,6 раза. На фоне проведения энерготропной коррекции лактат в ткани печени накапливался в меньшем количестве. Животные 4-й группы получали дихлорацетат натрия, который как уже было указано является активатором пируватдегидрогеназного комплекса за счет чего интенсифицируется использование в ходе энергетического обмена глюкозы, молочной и пирувиноградной кислоты, концентрация которых наиболее выражено снижается. Концентрация лактата кроме того была снижена и в других опытных группах крыс относительно показателя 2-й группы, но в меньшей степени, чем при введении ремаксола и дихлорацетата натрия. Тем не менее более быстрое снижение уровня молочной кислоты на фоне метаболической коррекции вероятно было обязательным условием реализации гепатопротективных эффектов всех групп изученных средств, поскольку это один из немногих изученных маркеров, изменяющихся параллельно активности аминотрансфераз в плазме крови.

Работа с гомогенатом ткани печени позволила оценить интенсивность генерации АФК, которая закономерно возрастала после моделирования ИРП в 3,15 раза и была сравнительно ниже в условии проведения корректирующих мероприятий, кроме 4-й группы. На фоне самостоятельного введения ремаксола или введения его совместно с карнитином уровень продукции АФК превышал контрольные цифры в 2,6–2,7 раза. Более низкий уровень генерации свободных радикалов наблюдался после введения ремаксола вместе с убихиноном или восстановленным глутатионом. В этом случае анализируемый параметр превышал контрольные цифры в 2,2–2,3 раза или был ниже параметра группы сравнения на 28–32 %. Это можно объяснить непосредственно высокой антиоксидантной активностью этих двух веществ (таблица 4).

Таблица 4 – Изменения активности свободнорадикальных процессов при ишемии-реперфузии печени крыс на фоне энерготропной коррекции (Ме (P₂₅/P₇₅))

Группы	Продукция АФК, %	Содержание ТБК-РП, усл. ед.	АОА-ABTS, мМ вит С /г белка
1 (контрольная)	100 (96/103)	0,27 (0,24/0,30)	1,35 (1,29/1,37)
2 (ИРП без коррекции)	315 (294/320)*	2,17 (2,03/2,25)*	0,65 (0,61/0,75)*
3 (ИРП+ремаксол)	256 (218/266)^	1,57 (1,50/1,65)^	0,84 (0,77/0,90)
4 (ИРП+ремаксол+ДХА)	319 (291/333)	1,42 (1,36/1,52)^	0,80 (0,75/0,86)
5 (ИРП+ремаксол+КоQ)	223 (216/241)^	1,18 (1,11/1,27)^	0,97 (0,93/1,02)^
6 (ИРП+ремаксол+GSH)	215 (200/220)^	1,16 (1,09/1,25)^	1,04 (0,96/1,10)^
7 (ИРП+ремаксол+карнитин)	265 (247/279)^	1,60 (1,54/1,67)^	0,85 (0,79/0,88)

Примечание: * – статистически значимые отличия при сравнении показателей 1-й и 2-й групп; ^ – статистически значимые отличия при сравнении с показателем 2-й группы.

Показатель способности сорбции катионного радикала ABTS достоверно снижался после моделирования ИРП в ткани печени животных всех групп сравнения и опытных групп. В гомогенате печени крыс 2-й группы данный показатель был снижен на 56 % относительно контроля. Выраженный рост относительно

группы крыс, не получавшей метаболической коррекции, был зафиксирован при использовании ремаксола с глутатионом или убихиноном. В этом случае показатель сорбции радикала ABTS в гомогенате печени был на 49–60 % выше, но оставался статистически значимо ниже контрольного уровня (таблица 4).

В результате проведенных исследований содержания ТБК-реактивных продуктов было установлено их увеличение в 8 раз в гомогенате печени крыс после ИРП. На фоне введения ремаксола уровень содержания ТБК-реактивных продуктов был ниже значения соответствующего показателя 2-й группы на 28 %. Дополнительное введение убихинона или глутатиона сопровождалось сниженным относительно 2-й группы сравнения содержанием продуктов перекисного окисления липидов в гомогенате печени на 46–47 % (таблица 4).

Концентрация глутатиона в гомогенате печени изменялась после ИРП и проведения метаболической коррекции аналогично способности радикальной сорбции. Так после ИРП наблюдалось снижение концентрации восстановленной формы глутатиона в 2 раза. Локальные изменения в пораженном органе были выражены сильнее, чем выявленные на системном уровне в крови. Введение ремаксола совместно с дихлорацетатом натрия или карнитином, а также самостоятельное введение ремаксола характеризовалось увеличенными на 13–22 % значениями концентрации глутатиона относительно 2-й группы сравнения. Для лабораторных животных 5–6-й экспериментальных групп были характерны увеличенные на 33–50 % значения аналогичного показателя относительно 2-й группы. Таким образом, введение убихинона также обеспечивало поддержание более адекватного функционального состояния системы глутатиона в клетках печени.

Каталазная активность гомогената печени после ИРП была увеличена, что отличалось этот показатель от изменений в крови. Это может быть связано с особой функцией данного фермента при гипоксических состояниях – функцией возвращения кислорода в дыхательную цепь, после утечки его в форме активных форм, таких как супероксидный анион-радикал и пероксид водорода. Так у крыс 2-й группы в гомогенате печени уровень каталазной активности (22,5 (20,8/22,6) моль/(л·мин)) был увеличен на 52 % относительно контрольных цифр. При этом проведение экспериментальной терапии оказывало не такое значительное влияние на этот маркер, как на рассмотренные выше. Только на фоне введения ремаксола с коэнзимом Q или восстановленным глутатионом активность рассматриваемого фермента снижалась на 26–28 % относительно параметра 2-й группы. На фоне проведения метаболической коррекции изменения каталазной активности адекватно соответствовали тяжести ишемических нарушений.

Изменения активности ферментов системы глутатиона имели тенденцию к снижению в гомогенате печени, как и в эритроцитарной взвеси. У крыс 2-й группы снижение активности глутатионпероксидазы относительно контроля составляло 41 % (9,1 (8,6/10,0) ммоль/(л·мин)), а глутатионредуктазы – 24 % (31,1 (30,6/32,2) ммоль/(л·мин)). При этом на фоне проведения метаболической коррекции наблюдались более высокие значения активности ферментов системы глутатиона по сравнению со значением аналогичных параметров 2-й группы. Вве-

дение антиоксидантов убихинона или глутатиона вместе с ремаксолом сопровождалось максимальным значениям глутатионпероксидазной активности – на 49–58 % относительно крыс 2-й группы. Высокая активность глутатионпероксидазы после введения глутатиона может быть обусловлена адекватной подпиткой фермента субстратом, что не просто позволяет поддерживать нормальное функциональное состояние системы глутатиона, но и обезвреживать АФК, органические гидропероксиды – продукты окислительных повреждений липидов. Это в конечном итоге обеспечивает снижение проявлений окислительного стресса и цитопротективный эффект на модели ишемии-реперфузии.

Наиболее высокие значения активности глутатионредуктазы, соответствующие контрольному уровню, были обнаружены в гомогенате печени крыс 4-й и 5-й групп. Для животных 6-й группы было характерно сниженное значение активности глутатионредуктазы до уровня значения аналогичного параметра крыс 2-й группы сравнения. Такие же изменения были характерны и для эритроцитарной взвеси и как ранее уже указывали это может быть связано с эффектом ингибирования этого фермента на фоне высокой концентрации восстановленной формы экзогенного глутатиона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные показали возможность коррекции ишемически-реперфузионных повреждений печени с использованием энерготропного средства – ремаксолола, а также возможность усиления эффекта последнего за счет комбинации с веществами различной направленности действия. Особенно эффективной оказалась комбинация использования ремаксолола с убихиноном или восстановленным глутатионом, что было подтверждено снижением выраженности цитолиза гепатоцитов, а также нормализацией прооксидантно-антиоксидантного баланса на системном уровне – в крови. Анализ данных, полученных при исследовании лабораторных маркеров в гомогенате печени после моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени и проведения метаболической коррекции позволил выявить некоторые характерные особенности, отличные от изменений показателей крови. Было установлено значительное влияние дихлорацетата натрия на показатели энергообмена – уровень лактата и пирувата в ткани печени. Ключевое влияние на показатели состояния баланса прооксидантно-антиоксидантной системы оказывало дополнительное введение убихинона или восстановленного глутатиона, с непосредственным антиоксидантным действием которых связан основной эффект усиления действия ремаксолола. Введение самого глутатиона обеспечивало поддержку системы гомеостаза этого трипептида в клетках печени и снижение продукции АФК. Введение убихинона косвенным путем индуцировало поддержку ферментных систем антиоксидантной системы, что также проявлялось в поддержке системы глутатиона, снижении генерации АФК и повышении общей антиоксидантной активности гомогената печени.

ВЫВОДЫ

1. Оценка патобиохимических изменений в крови и печени крыс после моделирования 40-ка минутной частичной ишемии печени и 3-х часового реперфузионного периода показала развитие цитолитического синдрома, характеризующегося увеличением активности аминотрансфераз в плазме крови в 17–19 раз. Развивающийся в этих условиях окислительный стресс характеризовался снижением антиоксидантной активности на 20–22 % и накоплением продуктов окислительных модификаций в 4,6 раз в крови. В гомогенате печени те же показатели изменялись на 56 % и в 8 раз соответственно, в 3,15 раза увеличивалась интенсивность генерации активных форм кислорода.

2. В результате проведенных исследований было показано, что ремаксол способен оказывать гепатопротекторное действие на модели ишемии-реперфузии печеночной паренхимы, что выражалось в статистически значимом уменьшении активности АЛТ и АСТ – на 18–21 % в сравнении с показателями группы животных, которым метаболическая коррекция не проводилась. Полученные данные свидетельствуют о невысокой активности препарата и указывают на целесообразность модификации состава ремаксолола с целью повышения его эффективности при острых повреждениях печени.

3. Введение животным с ишемически-реперфузионным повреждением печени, ремаксолола совместно с убихиноном или глутатионом позволило достичь снижения активности аминотрансфераз и ЛДГ в плазме крови на 27–32 % в сравнении с показателями животных, которым метаболическая коррекция не проводилась.

4. Введение глутатиона совместно с ремаксолом крысам с ишемически-реперфузионным повреждением печени обеспечивало поддержание состояния неферментного звена антиоксидантной системы, что выражалось в увеличенном значении антиоксидантной активности, содержании тиоловых групп плазмы крови и глутатиона в эритроцитах, а также статистически значимом более низком уровне ТБК-реактивных продуктов в сравнении с показателями группы животных, которым метаболическая коррекция не проводилась. Введение животным в аналогичных условиях убихинона совместно с ремаксолом обеспечивало дополнительную поддержку ферментативного звена антиоксидантной системы, что также выражалось в снижении накопления продуктов окислительных модификаций биомолекул.

5. Основные проявления нарушений окислительного гомеостаза в ткани печени крыс после ишемически-реперфузионного повреждения заключались в большей выраженности дисбаланса системы про / антиоксиданты. В этих условиях введение глутатиона или убихинона совместно с ремаксолом обеспечивало на 28–32 % более низкий уровень генерации активных форм кислорода, на 49–60 % увеличенную способность нейтрализации радикалов, на 46–47 % более низкое содержание ТБК-реактивных продуктов и нормализацию показателей активности ферментов системы антиоксидантной защиты в сравнении с показателями группы животных, которым метаболическая коррекция не проводилась или вводили только ремаксол. Введение дихлорацетата натрия или карнитина не обеспечивало дополнительного усиления энерготропного действия ремаксолола.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности гепатопротекторного действия ремакса в условии развития ишемически-реперфузионного повреждения печени целесообразно вводить его совместно с убихиноном 100 мг/кг или восстановленным глутатионом 50 мг/кг внутривенно.

2. Для оценки эффективности энерготропной коррекции на фоне экспериментального моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени наиболее информативно определение интегральных показателей состояния баланса прооксидантно-антиоксидантной системы, таких как общая антиоксидантная активность, способность нейтрализации радикалов, активность генерации активных форм кислорода, накопление продуктов окислительных модификаций биомолекул – ТБК-реактивных продуктов. Изменения отдельных звеньев системы антиоксидантной защиты отличаются в зависимости от используемого средства (глутатион, убихинон), что может характеризовать разный механизм достижения близкого эффекта снижения интенсивности окислительного стресса.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенных исследований были получены данные, свидетельствующие о возможности усиления гепатопротекторного действия ремакса в условии острого повреждения печеночной паренхимы. Также были описаны основные механизмы влияния дополнительного введения совместно с ремаксом убихинона и глутатиона, связанные с поддержкой ферментного или неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты. Дальнейшие разработки представленной темы исследования могут быть связаны с поиском еще более эффективных схем комбинированного использования гепатопротекторов с разными механизмами действия, а также создания комплексного энерготропного лекарственного препарата, в том числе на основе ремакса, которому будет необходимо пройти весь цикл доклинических и клинических испытаний для внедрения в практическую медицинскую практику. Сегодня в арсенале исследователей имеется обширный спектр средств, таких как субстраты и кофакторы энергообмена, регуляторы ферментных систем окислительного метаболизма, вещества, снижающие уровень лактатацидоза, антиоксиданты и др. При этом с учетом сложных сигнальных путей ишемического и фармакологического preconditionирования, прогнозировать эффект изолированного и совместного применения данных препаратов в условии ишемически-реперфузионного синдрома, не представляется возможным. Поэтому наиболее перспективным направлением остается экспериментальная хирургия, а также поиск путей частичной замены моделей патологических процессов у лабораторных животных на клеточные модели гипоксии-реоксигенации.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

***1. Comparison of the effectiveness of various sulphur-containing hepatoprotectors against chronic alcoholization / I.M. Bykov, K.A. Popov, E.A. Azimov [et al.] // Medical News of North Caucasus. – 2019. – Vol. 14. – Iss. 3. – С. 523–527.**

***2. Состояние системы антиоксидантной защиты печени крыс при ишемии и реперфузии / К.А. Попов, И.М. Быков, Э.А. Азимов [и др.] // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2020. – Т. 24. – № 1. – С. 93–104.**

3. Особенности лабораторной оценки повреждения печени крыс в эксперименте / И.Ю. Цымбалюк, М.И. Быков, Э.А. Азимов [и др.] // Аллергология и иммунология. Материалы XIII Всемирного конгресса по астме, аллергии и иммунопатологии, III Международного конгресса по молекулярной аллергологии. Москва, 22–24 октября 2020 г. – Т. 21. – № 1. – С. 52–53.

4. Препрекondиционирование ишемически-реперфузионного повреждения печени с использованием средств прооксидантной направленности / К.А. Попов, И.М. Быков, Э.А. Азимов [и др.] // Материалы XXIV III Объединенного научного форума физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII Съезда биохимиков России, X Российского симпозиума «Белки и пептиды», VII Съезда физиологов СНГ. Сочи – Дагомыс, 3–8 октября 2021 г. – Т. 2. – С. 241–242.

***5. Динамика изменений показателей окислительного гомеостаза в процессе реперфузии печени крыс после васкулярной эксклюзии / К.А. Попов, Я.Е. Денисова, Э.А. Азимов [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т. 11. – № 2. – С. 40–45.**

6. Evaluating the effectiveness energotropic preventing ischemia-reperfusion liver damage / K. Popov, I. Bykov, I. Tsymbalyuk, E. Azimov // Allergy & Asthma, COVID-19 & COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: innovative technologies, Filodiritto International Proceedings, Bologna, Italy. – 2021. – P. 135–139.

7. Laboratory assessment of rat liver damage in an experiment / I. Tsymbalyuk, E. Ustinova, E. Azimov [et al.] // Allergy & Asthma, COVID-19 & COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: innovative technologies, Filodiritto International Proceedings, Bologna, Italy. – 2021. – P. 173–177.

8. Влияние тиолсодержащих антиоксидантов на выраженность ишемически-реперфузионного повреждения печени в эксперименте / Э.А. Азимов, И.М. Быков, С.М. Тутаришева, И.Ю. Цымбалюк // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Биохимия XXI века», посвященной 90-летию кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Краснодар, 26 ноября 2021 г. – С. 29–32.

***9. Прооксидантное препрекondиционирование ишемически-реперфузионного поражения печени в эксперименте / К.А. Попов, И.М. Быков, Э.А. Азимов [и др.] // Медицинский вестник Северного Кав-**

каза. – 2022. – Т. 17. – № 1. – С. 56–59.

***10. Эффективность метаболической профилактики ишемически-реперфузионного повреждения печени с использованием ремаксола / Э.А. Азимов, И.М. Быков, К.А. Попов [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2022. – Т. 23. – № 2. – С. 5–8.**

*** – работа опубликована 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.**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АОА	– антиоксидантная активность
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
АОС	– антиоксидантная система
АФК	– активные формы кислорода
ГПО	– глутатионпероксидаза
ГР	– глутатионредуктаза
ДТНБ	– 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота)
ДХА	– дихлорацетат натрия
ИРП	– ишемически-реперфузионное повреждение
КАТ	– каталаза
КоQ	– убихинон (коэнзим Q ₁₀)
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
НАДФН	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный
ТБК	– тиобарбитуровая кислота
ABTS	– 2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиозолин-6-сульфокислота)
GSH	– восстановленный глутатион