

На правах рукописи

СЕМЕНЕЦ Инна Александровна

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

1.5.4. Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Микашинович Зоя Ивановна.

Официальные оппоненты:

Мустафин Ильшат Ганиевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии и клинической лабораторной диагностики, заведующий кафедрой;

Бондарь Татьяна Петровна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра клинической биохимии, заведующая кафедрой.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 21 сентября 2021 года в 13.00 час. на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (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 « ____ » _____ 2021 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета 21.2.014.02
доктор медицинских наук,
профессор



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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

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

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

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

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

Известно, что липоевая кислота является необходимым кофактором для множества митохондриальных ферментов в процессах анаболизма и катаболизма α -кетокислот и аминокислот. Она участвует в обменных процессах клеток, в ряде случаев выполняя функцию убихинона в комплексах превращений веществ. Кроме этого, обладая антиоксидантным действием, защищает клетки от свободных радикалов, взаимодействуя и поддерживая эндогенный глутатион. Липоевая кислота дает положительные результаты при хронических заболеваниях, связанных с оксидативным стрессом, лечении патологии сердечно-сосудистой системы, а также выявлена ее эффективность в лечении заболеваний печени, полинейропатий и алкогольных нейропатий (Шульпекова

Ю.О., Ивашкин В.Т., 2000; Holmquist L., Stuchbury G., Verbaum K. [et al.], 2007; Maczurec A., Hager K., Kenklies M. [et al.], 2008; Liu J., 2008 Аметов А.С., Косян А.А., 2020). Снижение лекарственной гепатотоксичности на фоне приема α -липоевой кислоты результативно подтверждено в экспериментальных исследованиях на животных (Молчанова О.В., Кочкаров В.И., Покровский М.В. [и др.], 2012; Тутельян В.А., Махова А.А., Погожева А.В. [и др.], 2019).

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

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

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

Совершенно очевидно, что понимание механизмов действия препаратов-корректоров в процессе статиновой терапии возможно при изучении отдельно каждого из них для определения точек приложения и особенностей изменения метаболической ситуации. Выяснение метаболической основы действия корректоров обосновывает перспективы разработки новых способов оптимизации кислородзависимых процессов с использованием клеток крови, как индикаторов отражающих состояние организма.

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

Задачи исследования:

1. Проанализировать метаболические изменения в мышцах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией;
2. Выявить метаболические изменения в мышцах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией после длительного введения симвастатина;
3. Установить особенности изменения метаболических процессов в мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при одновременном введении симвастатина и убихинона;

4. Выяснить особенности изменения метаболических процессов в мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при одновременном введении симвастатина и липоевой кислоты;

5. Определить особенности метаболических изменений в эритроцитах экспериментальных животных до и после коррекции убихиноном и липоевой кислотой;

6. На основе проведенной оценки действия убихинона и липоевой кислоты, выделить информативные звенья, отражающие специфические особенности каждого корректора при длительной статиновой терапии, разработать способ оптимизации кислородзависимых процессов при длительной статиновой терапии.

Научная новизна исследования. При выполнении диссертационного исследования впервые:

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

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

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

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

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

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

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

Методология и методы исследования. Диссертационная работа выполнена в рамках научного исследования кафедры общей и клинической биохимии №1 – «Молекулярные механизмы адаптации и повреждения, разработка способов диагностики и оценки эффективности терапии в эксперименте и клинике при социально значимых заболеваниях и критических состояниях», представляя собой экспериментальное исследование. Для достижения цели исследования – оценки перспективности применения естественных метаболитов (убихинона и липоевой кислоты) для коррекции метаболических сдвигов в мышечной ткани и эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, длительно получавших симвастатин, использовали совокупность методов научного познания, таких как наблюдение, сравнение, моделирование. Для реализации задач диссертационного исследования, использовали препараты:

симвастатин («Зокор[®], 20 мг»), липоевая кислота («Тиоктацид[®] БВ, 600 мг») и убихинон («Кофермент Q₁₀ (CoQ10), 30 мг»). Исследование проводили на 210 беспородных крысах-самцах, которые в процессе эксперимента были распределены на группы, в соответствии с разработанным соискателем дизайном. Диссертационная работа выполнена с использованием актуальных методов исследования: биохимических, физико-химических, инструментальных, статистических. Выбранные для анализа показатели исследования, а также научная систематизация и интерпретация полученных результатов, позволили сделать экспериментально обоснованные выводы.

Основные положения, выносимые на защиту:

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

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

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

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

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

Материалы и основные положения диссертационной работы представлены и обсуждены: на International Symposium «Biological motility» (Pushchino, 2016), на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Scientific bases of development and realization of modern technologies of health protection» (Прага, 2016); на XXI Международной заочной научно-практической конференции «Современные тенденции развития науки и технологии» (Белгород, 2016); на XI международной научно-практической конференции «Fundamental and applied sciences today XI» (USA, 2017); на XVI Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов-на-Дону, 2017); на 5-ой итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2018); на XVII Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов-на-Дону, 2018); на 6-ой итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2019); на XXVIII Международная научно-практическая конференция «Российская наука в современном мире» (Москва, 2020); на XIV Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении - дни лабораторной диагностики на Дону» (Ростов-на-Дону, 2020).

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

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

Публикации результатов исследования. По теме диссертационной работы опубликовано 20 печатных работ, из них 5 - в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе получены 2 патента на изобретение.

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

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

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования проведены на 210 беспородных крысах-самцах в возрасте 12 месяцев (300-350 грамм). Все животные находились в условиях соответствующих санитарным правилам от 29.08.2014 г. СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

Для достижения цели и выполнения задач диссертационного исследования использовали гиполипидемический препарат симвастатин являющийся статином первого поколения – «Зокор[®], 20 мг» (ОАО «АКРИХИН», Россия). В качестве средств корректирующих побочные эффекты симвастатина выбраны липоевая кислота – «Тиокта-

цид® БВ, 600 мг» (МЕДА Мануфакчуринг ГмбХ (Германия) и коэнзим Q₁₀ – «Кофермент Q10 (CoQ10), 30 мг» Виталайн (США).

В процессе эксперимента животные были разделены на восемь групп (рисунок 1).

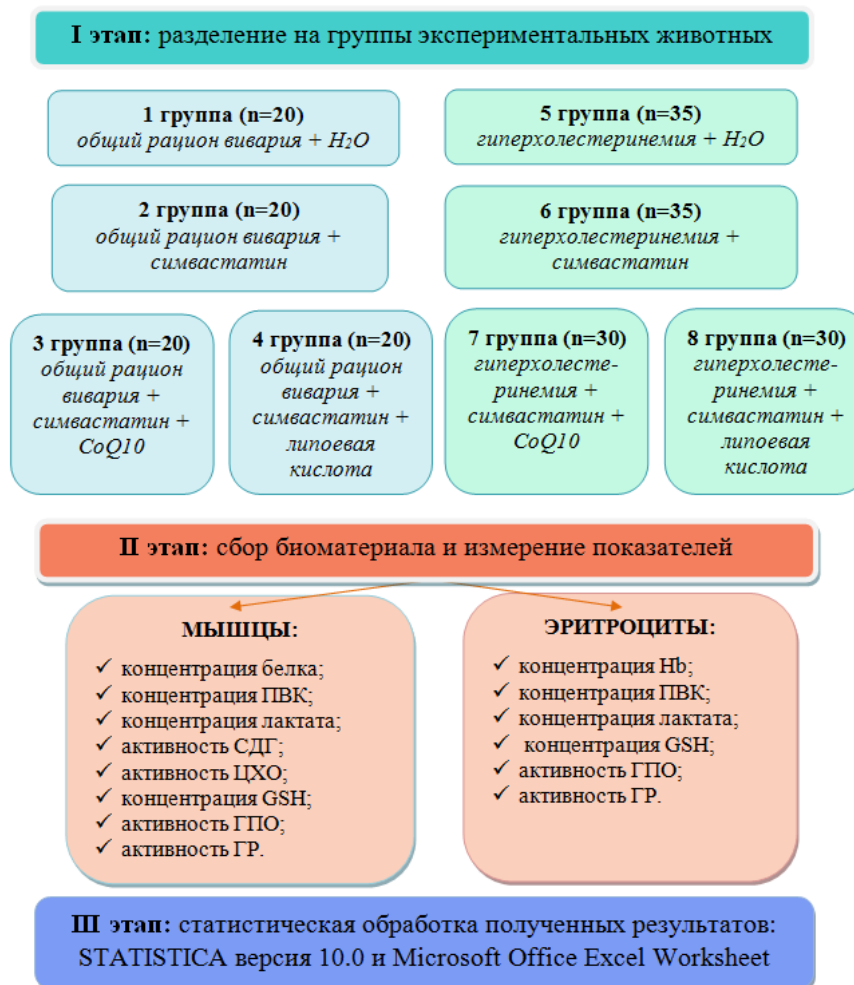


Рисунок 1 – Дизайн исследования

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

Вторая группа – 20 животных, которых содержали на общем рационе вивария, в течение 2-х месяцев получавших симвастатин (Зокор®, 20 мг);

Третья группа – 20 животных, которых содержали на общем рационе вивария, в течение 2-х месяцев получавших симвастатин (Зокор®, 20 мг) и биологическую активную добавку «Кофермент Q10, 30 мг»;

Четвертая группа – 20 животных, которых содержали на общем рационе вивария, в течение 2-х месяцев получавших симвастатин (Зокор®, 20 мг) и липолевую кислоту (Тиоктацид® БВ, 600 мг);

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

Шестая группа – 35 животных, у которых индуцировали гиперхолестеринемию (также как и у пятой группы), в течение 2-х месяцев получавшие симвастатин (Зокор[®], 20 мг) (группа сравнения) (патент на изобретение № 2632624 от 06.10.2017 г.);

Седьмая группа – 30 животных, у которых индуцировали гиперхолестеринемию (также как и у пятой группы), в течение 2-х месяцев получавшие симвастатин (Зокор[®], 20 мг) и липоевую кислоту (Тиоктацид[®] БВ, 600 мг);

Восьмая группа – 30 животных, у которых индуцировали гиперхолестеринемию (также как и у пятой группы), и в течение 2-х месяцев получавшие симвастатин (Зокор[®], 20 мг) и биологически активную добавку «Кофермент Q10, 30 мг» (экспериментальная группа).

Лекарственные препараты вводились раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд в пересчете терапевтической дозировке на 100 г массы, а животным контрольной группы вводили 1 мл воды дистиллированной для чистоты эксперимента.

Все манипуляции выполнялись согласно этическим принципам «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой от 18.03.1986 г. в Страсбурге, подтвержденной от 15.06.2006 г.: животных декапитировали под действием эфирного наркоза.

Для выделения митохондрии клеток скелетной мышцы у крысы после декапитирования вырезали мышцы задних конечностей, взвешивали, измельчали и добавляли среду выделения (0,1 М KCl, 1 mM MgCl₂, 0,05 М Tris-HCl, pH 7,4). Смесь подвергалась гомогенизации и трехэтапному центрифугированию. К осадку митохондрий добавляли среду выделения, содержащую 0,1% бычий сывороточный альбумин, ресуспендировали и хранили на льду для определения содержания белка и активности ферментов (Егорова М.В., Афанасьев С.А., 2011).

Из крови получали эритроциты, отделяя от лейкоцитов и тромбоцитов в 3% желатиновом растворе, и центрифугировали. Затем отделяли плазму и верхний слой клеток, подвергая эритроциты отмыванию охлажденным физраствором несколько раз и снова центрифугировали, для получения плотного осадка.

Содержание *гемоглобина (Hb)* (г/мл) определяли в гемолизате спектрофотометрическим методом в щелочной среде, при $\lambda=540$ нм по методу описанному Лугановой И.С. и Блиновым М.Н. (1975), а концентрацию общего белка (мг/мл) проводили по методу Lowry (1953).

Концентрацию *молочной кислоты (лактата)* определяли по реакции с параоксидифенилом методом спектрофотометрии при $\lambda=590$ нм, описанной Даниловой Л.А. (2003), а *пировиноградной кислоты (ПВК)* определяли колориметрически при $\lambda=440$ нм по методу, приведенному в описании Камышниковой В.С (2009). Результаты выражали в мкмоль/мл плотного осадка эритроцитов или мг белка в мышцах.

В суспензии митохондрий спектрофотометрически определяли активности *цитохромоксидазы (ЦХО)* по методу Р.С. Кривченковой (1977) и *сукцинатдегидрогеназы (СДГ)* по принципу метода, предложенного Nordmann et al. (1957) в описании З.И. Микашинович (1989). Результаты выражали в нмоль/мг белка.

Активность *глутатионпероксидазы (ГПО)* определяли спектрофотометрически при $\lambda=412$ нм по методу предложенному Даниловой Л.А. (2003), а концентрацию *восстановленного глутатиона (GSH)* – по методу Ellman G.L.(1959) при $\lambda=412$ нм. Результаты выражали в мкмоль/ г Hb или мг белка. Активность *глутатионредуктазы (ГР)* устанавливали спектрофотометрически при $\lambda=340$ нм по методу Юсуповой Л.Б.

(1989), предложенным в описании Даниловой Л.А. (2003). Активность ГР выражали в мкмоль превращения НАДФН+Н на г Нв или мг белка в мин.

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

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

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

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

Метаболические изменения при гиперхолестеринемии

У животных с индуцированной экспериментальной гиперхолестеринемией относительно контрольной группы в мышечной ткани отмечали одновременное повышение концентрации и ПВК на 217,78 % ($p < 0,001$), и лактата на 73,23 % ($p < 0,001$) (рисунок 2). В то время как в эритроцитах наблюдали снижение ПВК на 56,52 % ($p < 0,001$) и повышение лактата на 32,80 % ($p > 0,05$) (рисунок 3). Такие изменения отражают формирование лактат-ацидоза на фоне накопления недоокисленных продуктов, как в мышечной ткани, так и в эритроцитах.

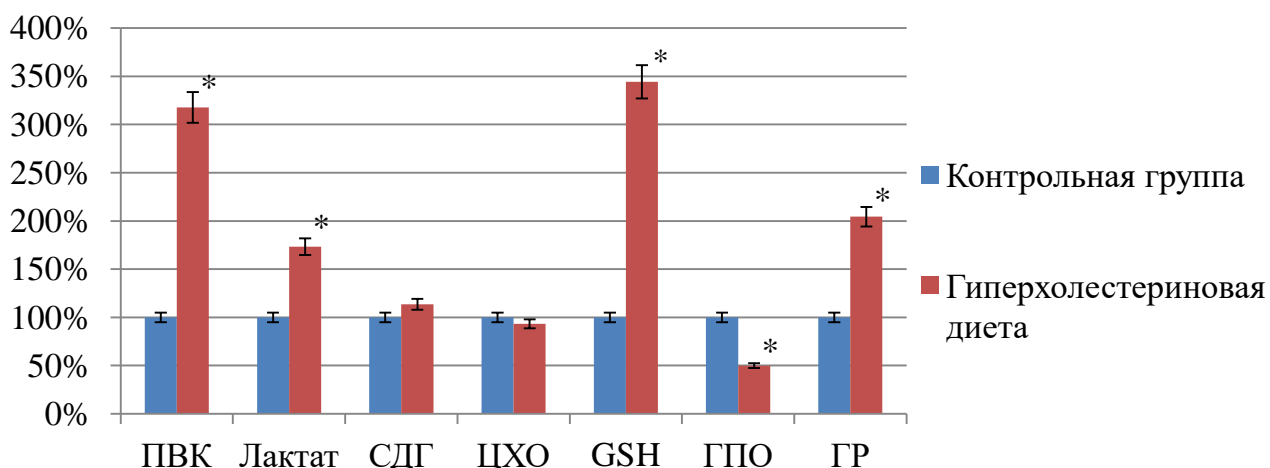


Рисунок 2 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией относительно группы контроля.

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

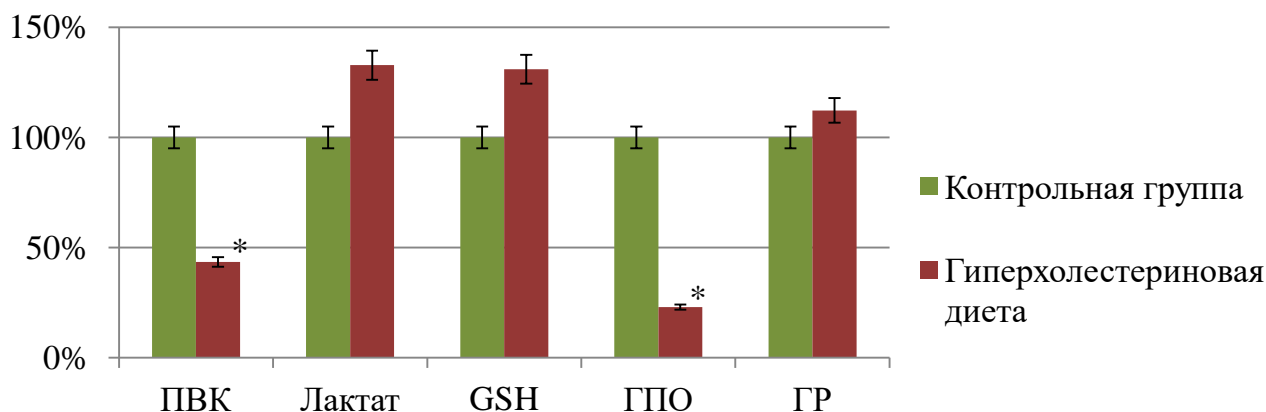


Рисунок 3 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией относительно группы контроля

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

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

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

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

Метаболические изменения при гиперхолестеринемии и длительном введении симвастатина

После длительного введения симвастатина у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией в мышечной ткани наблюдали (рисунок 4) понижение концентраций ПВК на 53,01 % ($p_1 < 0,001$) и лактата на 32,51 % ($p_1 > 0,001$). В эритроцитах (рисунок 5), наоборот, было обнаружено увеличение лактата на 175,15 % ($p_1 < 0,001$) и ПВК на 21,43 % ($p_1 < 0,05$) относительно группы «гиперхолестеринемия», что указывает на активацию гликолиза, который в эритроцитах является основным источником АТФ и регулятором кислород-транспортной функции за счет изменения рН-среды.

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

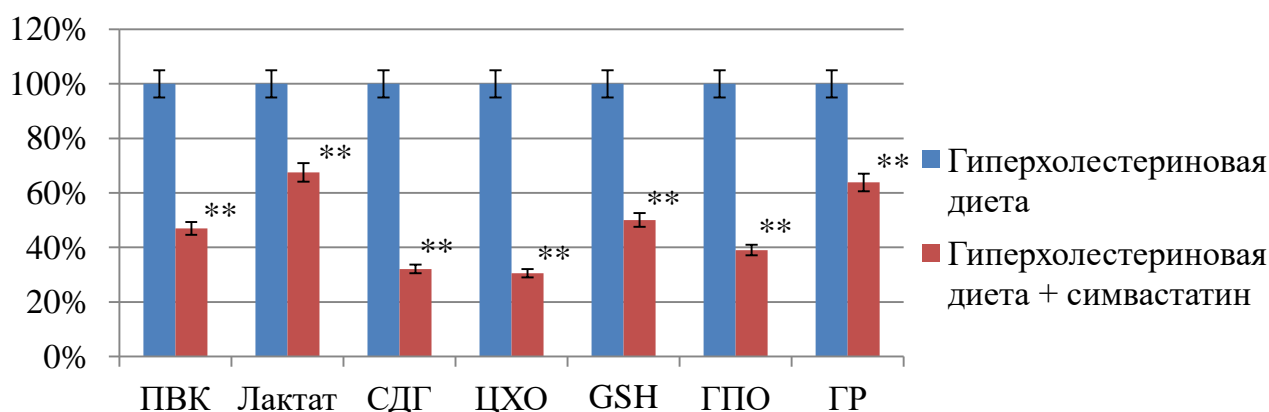


Рисунок 4 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией

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

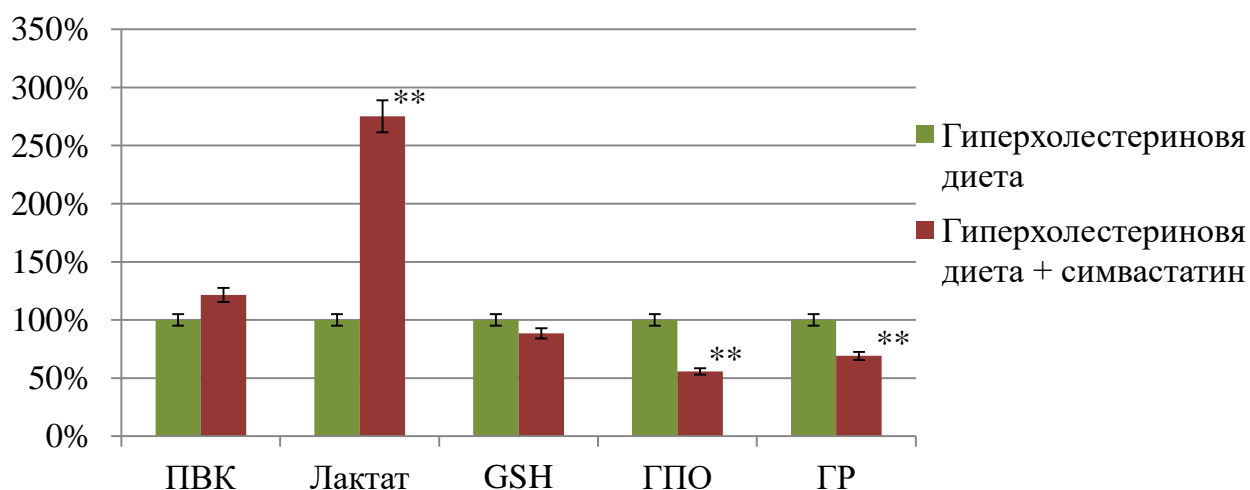


Рисунок 5 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией, получавших симвастатин относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией

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

При анализе глутатионзависимых ферментов антиоксидантной защиты у групп с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей симвастатин, в митохондриях выявлено снижение активности ГПО ($p < 0,001$), увеличение активности ГР ($p > 0,05$) и уровня GSH ($p < 0,001$) относительно группы контроля (рисунок 6).

При анализе этих же показателей в эритроцитах (рисунок 7) установлено также снижение активности ГПО ($p < 0,001$), но в отличие от данных в мышечной ткани достоверно уменьшается активность ГР ($p > 0,05$). Уровень GSH ($p > 0,05$) имеет тенденцию к росту сравнительно с контрольной группой. Полученные результаты отражают процесс разбалансировки глутатионзависимых ферментов в исследуемых тканях.

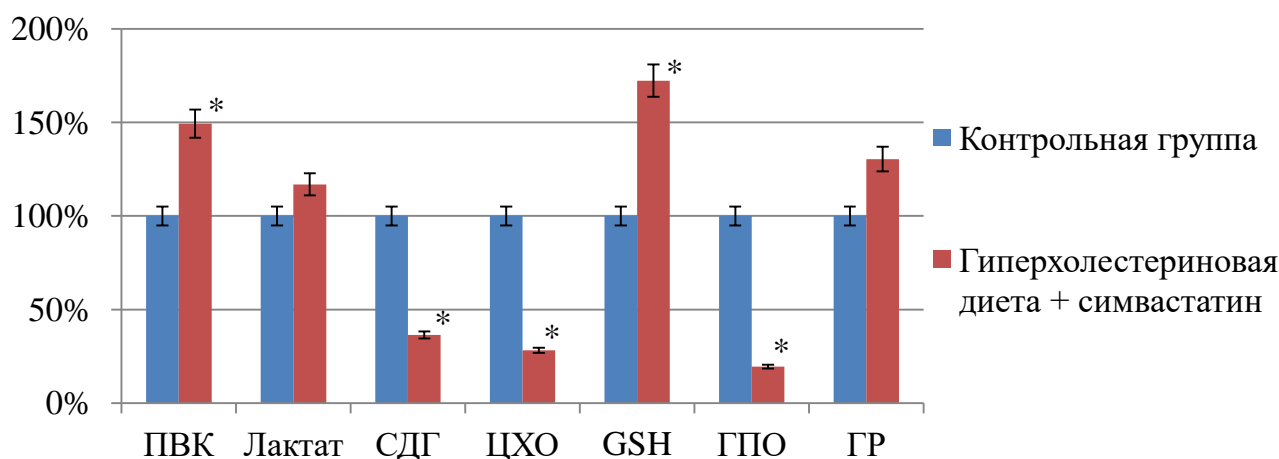


Рисунок 6 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном введении симваcтатина относительно группы контроля

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

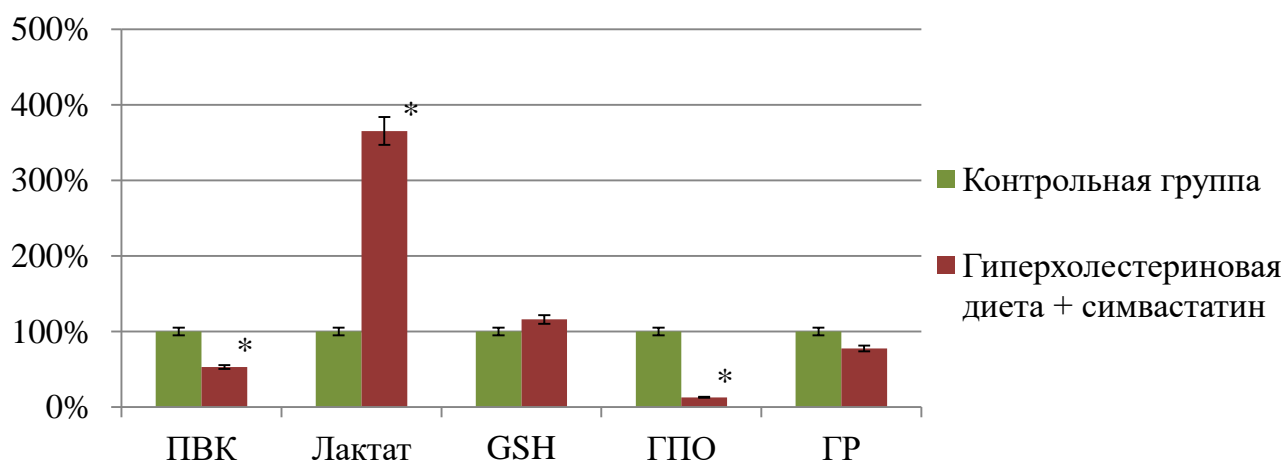


Рисунок 7 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симваcтатин относительно группы контроля

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

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

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

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

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

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

У животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, при сочетанном введении симвастатина и убихинона (кофермента Q₁₀), в мышечной ткани выявлено критическое снижение уровня ПВК ($p_2 < 0,001$), в то время как уровень лактата ($p_2 < 0,001$) увеличился (примерно в 2 раза) относительно показателей группы сравнения (с гиперхолестеринемией, получавшие симвастатин) (рисунок 8). Необходимо отметить, что также данная тенденция наблюдалась и относительно контрольной группы (рисунок 9).

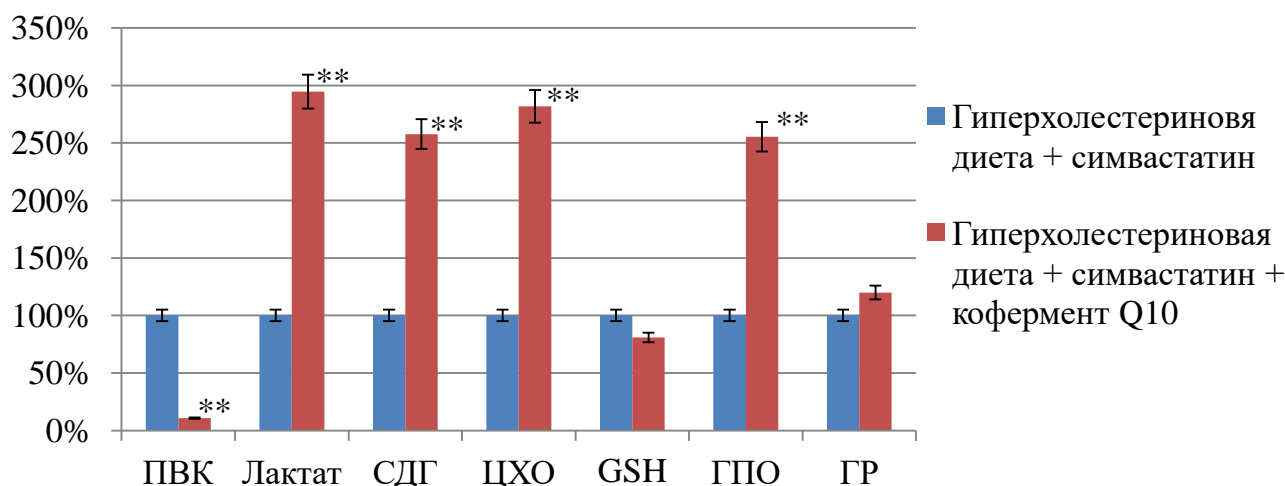


Рисунок 8 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и кофермента Q₁₀ относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией получавшей симвастатин

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

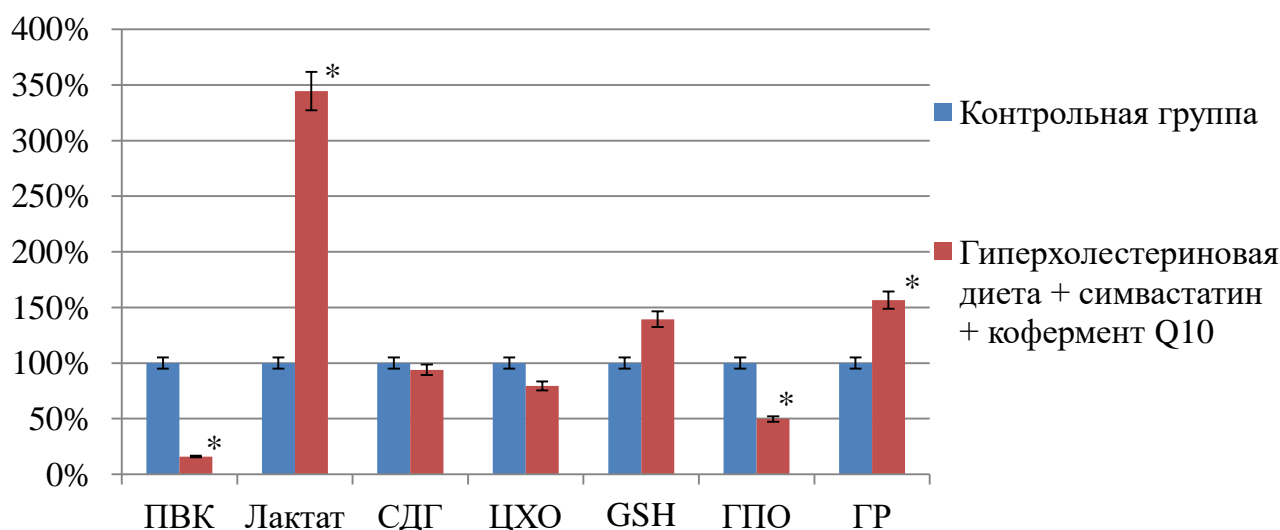


Рисунок 9 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и кофермент Q₁₀ относительно контрольной группы

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

В группе с экспериментальной гиперхолестеринемией при одновременном введении симвастатина и липоевой кислоты, относительно группы сравнения (рисунок 10.) можно отметить понижение уровня ПВК на ($p_2 < 0,001$), тогда как уровень лактата ($p_2 < 0,05$) повысился, но в меньшей степени (в 1,5 раза), чем у животных получавших в качестве метаболического корректора убихинон. При сравнении результатов с группой контроля (рисунок 11) не выявили достоверных изменений, можно лишь отметить меньшую тенденцию к снижению уровня ПВК ($p > 0,05$), на фоне повышения уровня лактата ($p < 0,001$).

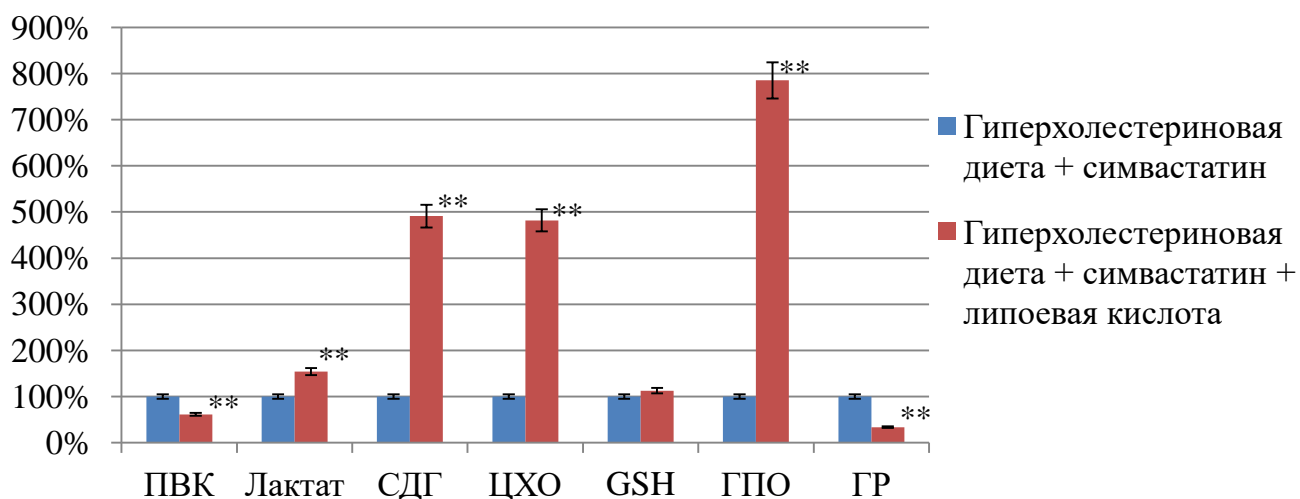


Рисунок 10 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты относительно группы с гиперхолестеринемией при сочетанном введении симвастатина

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

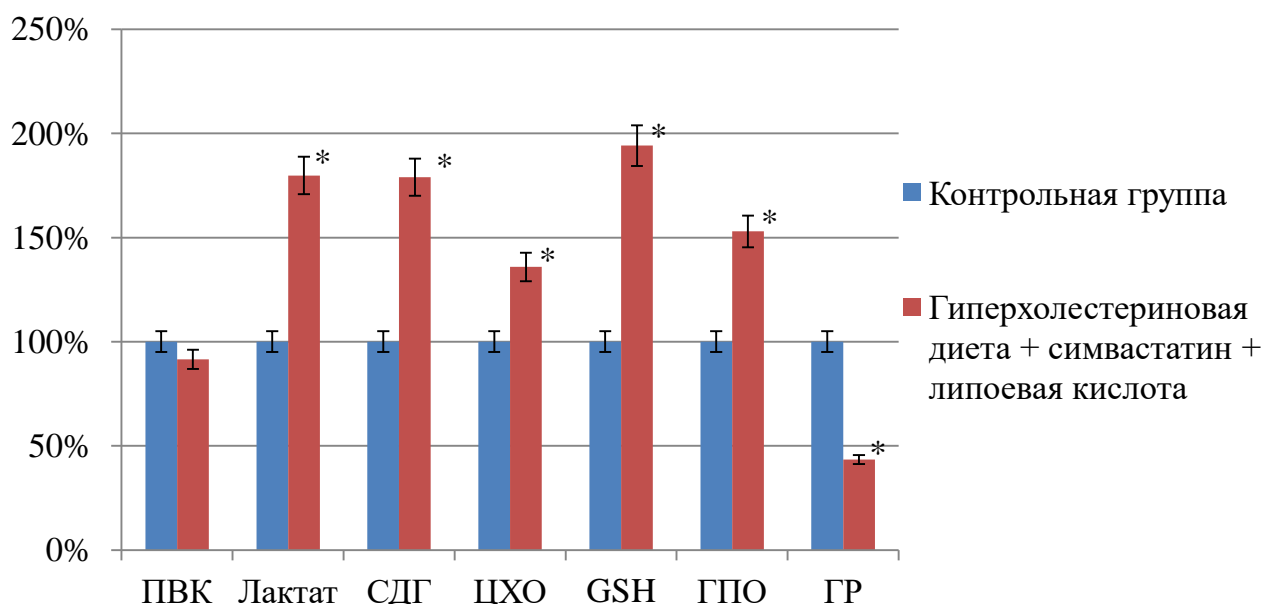


Рисунок 11 – Динамика биохимических показателей мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина и липоевой кислоты относительно контрольной группы

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

В эритроцитах группы «гиперхолестеринемия + симвастатин + кофермент Q₁₀» отмечен существенный рост уровня ПВК в 4 раза ($p_2 < 0,001$) при снижении уровня лактата ($p_2 < 0,001$) относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией получавшей симвастатин (рисунок 12). В сравнении с группой контроля также установлено увеличение уровня ПВК в 1,5 раза ($p < 0,001$) при небольшом снижении уровня лактата ($p < 0,001$) (рисунок 13).

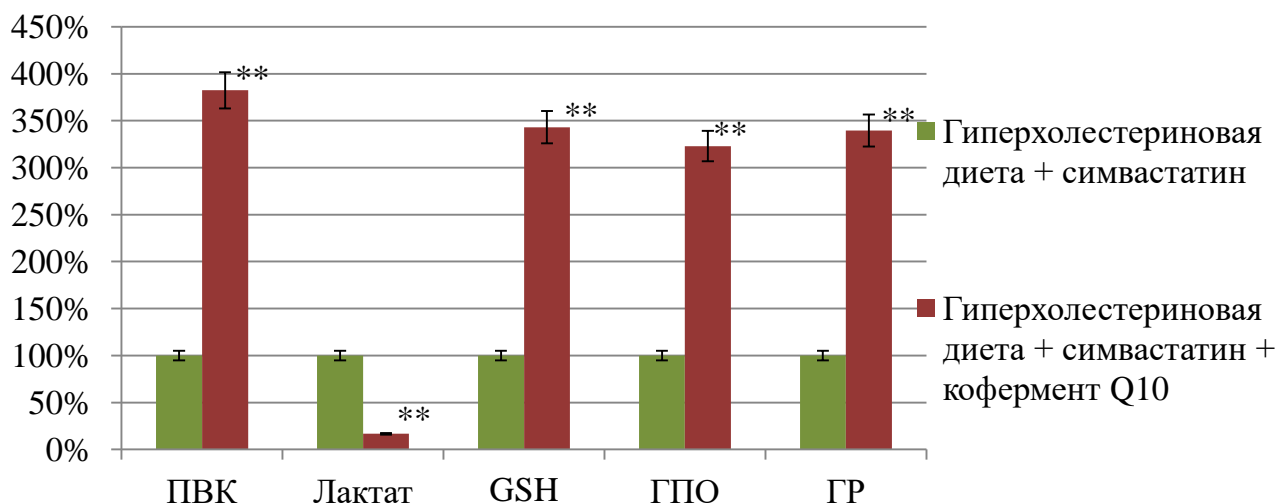


Рисунок 12 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией при одновременном применении симвастатина и кофермента Q₁₀ относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией получавшей только симвастатин

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

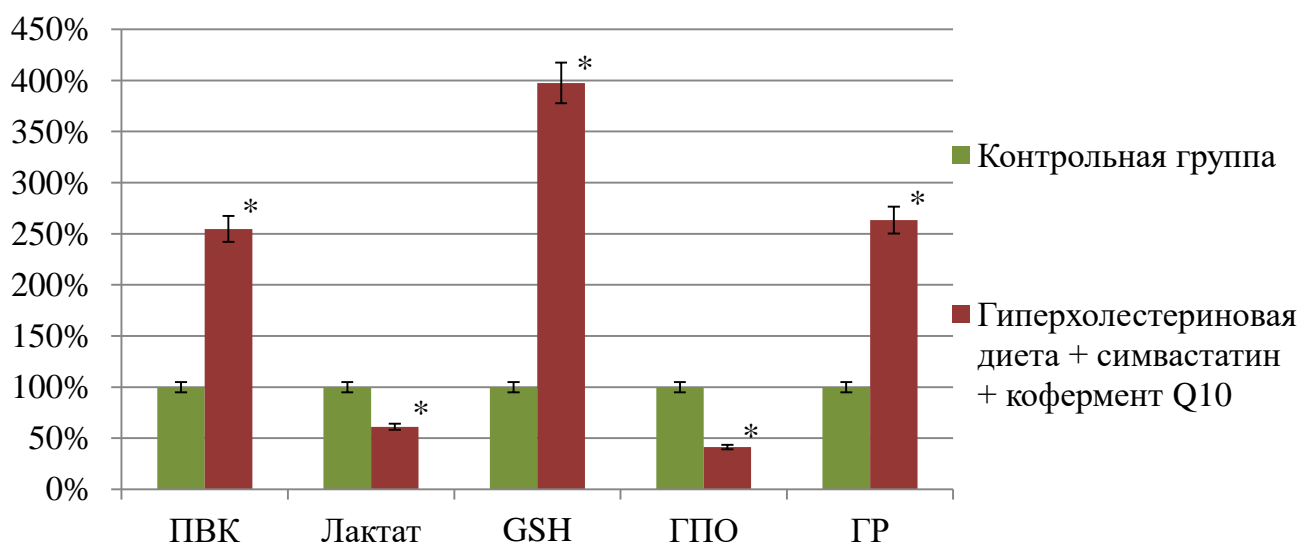


Рисунок 13 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин и кофермент Q₁₀ относительно группы контроля.

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

При рассмотрении полученных результатов у животных с экспериментальной гиперхолестеринемией при сочетанном введении симвастатина с липоевой кислоты по отношению к группе сравнения (рисунок 14) в эритроцитах установлено повышение уровня ПВК в 3,5 раза ($p_2 < 0,001$), а уровень лактата ($p_2 < 0,001$) заметно снизился. Однако, при сопоставлении показателей с группой контроля (рисунок 15) зафиксировано увеличение уровня ПВК в 2 раза ($p < 0,001$) и незначительное снижение уровня лактата ($p > 0,05$).

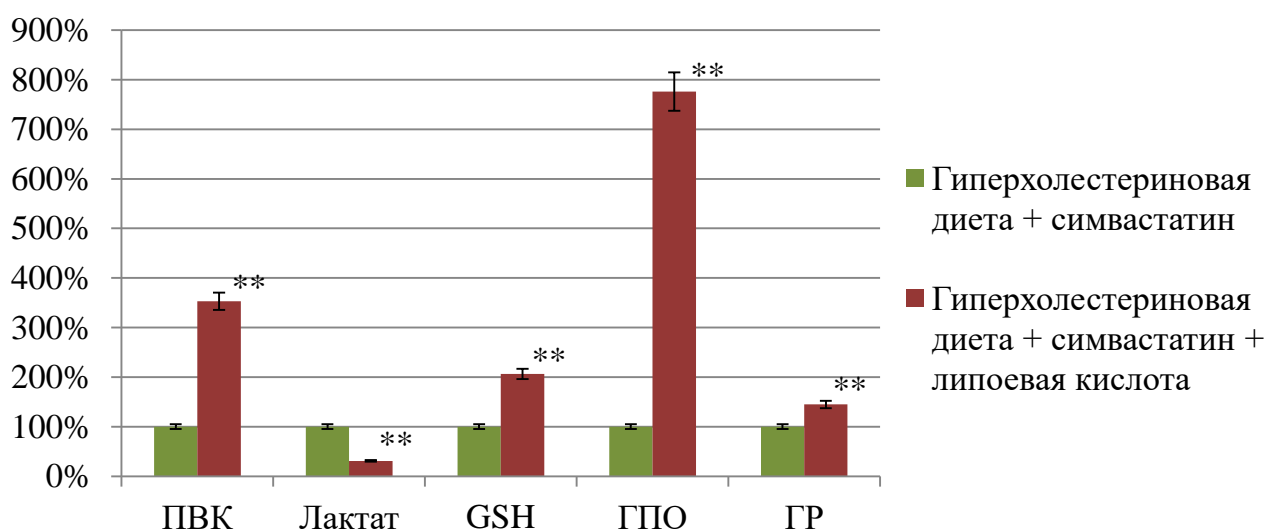


Рисунок 14 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с гиперхолестеринемией при одновременном применении симвастатина и липоевой кислоты относительно группы с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавшей только симвастатин

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

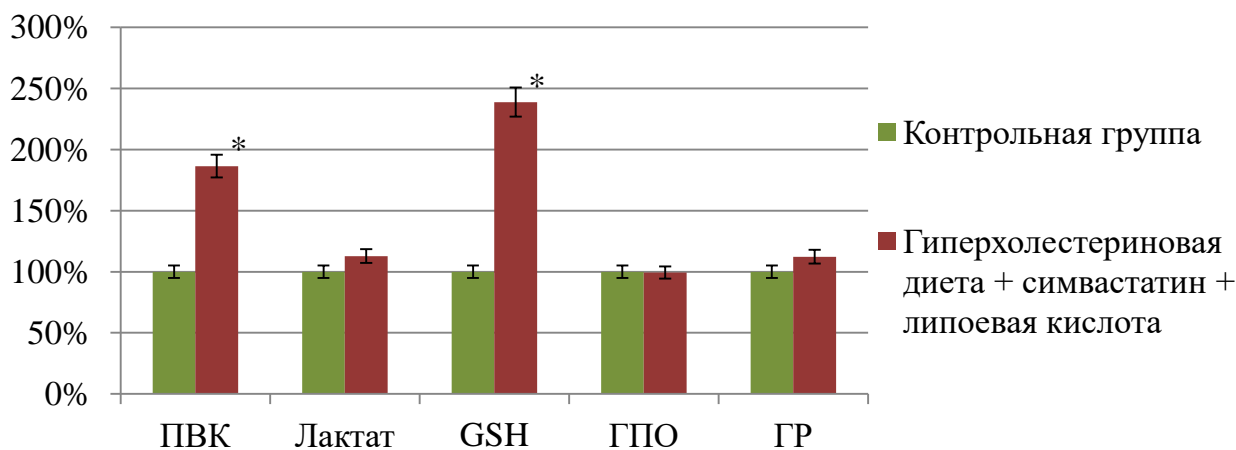


Рисунок 15 – Динамика биохимических показателей в эритроцитах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин и липоевую кислоту, относительно группы контроля.

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

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

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

При анализе ферментов глутатионзависимого звена в эритроцитах крыс с экспериментальной гиперхолестеринемией при длительном введении симвастатина в комплексе с липоевой кислотой было отмечено значительное увеличение активности ГПО в 7 раз ($p_2 < 0,001$), на фоне небольшого повышения активности ГР ($p_2 < 0,05$) и уровня GSH относительно группы, получавшей симвастатин без метаболического корректора. Полученные результаты могут объясняться защитой пула глутатиона от окисления, за счет вступающих в реакции SH-групп липоевой кислоты, усиливая глутатионпероксидазную реакцию, уменьшающей уровень радикальных соединений. Накопление перекисей, в частности H₂O₂ ускоряет поступление цистеина в клетку, усиливая экспрессию генов синтеза GSH, активируя глутатионсинтетазу.

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

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

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

В мышцах животных с эссенциальной гиперхолестеринемией при введении симвастатина и убихинона (кофермента Q_{10}), обнаружено увеличение активности СДГ в 1,5 раза ($p_2 < 0,001$) и ЦХО практически в 2 раза ($p_2 < 0,001$) относительно группы сравнения. Необходимо отметить, что комплексное введение симвастатина и убихинона способствовало восстановлению показателей активности СДГ и ЦХО до значений контрольной группы.

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что введение естественных метаболитов животным с эссенциальной гиперхолестеринемией при длительном применении симвастатина отражает динамику роста уровня лактата и тенденцию к снижению уровня ПВК, что позволяет говорить о превалировании анаэробного гликолиза и постепенном накоплении недоокисленных продукт в мышечной ткани. Необходимо отметить, судя по полученным данным, липоевая кислота наиболее эффективно снижает уровень лактоацидоза, чем кофермент Q_{10} , что создает условия для поддержания окислительного фосфорилирования в митохондриях миоцитов.

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

Кроме того, комплексное введение симвастатином и с убихиноном, и с липоевой кислотой понижает тяжесть прооксидантного действия статина, за счет активации на уровне II и IV комплексов, входящих в схему дыхательной цепи, что позволяет в экстремальной ситуации стабилизировать и сохранять мышечную деятельность.

ВЫВОДЫ

1. Продолжительное (в течение 3х месяцев) содержание животных на углеводно-жировой диете способствует росту содержания холестерина, накоплению конечных продуктов гликолиза в мышцах. Показатели активности сукцинатдегидрогеназы и ци-

тохромоксидазы не изменены по сравнению с группой контроля. В эритроцитах обнаружено снижение уровня пирувиноградной кислоты, повышение содержания лактата и глутатиона на фоне синхронного уменьшения активности глутатионпероксидазы и увеличения активности глутатионредуктазы, как в мышцах, так и эритроцитах.

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

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

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

5. При введении липоевой кислоты в эритроцитах уровень лактата практически не отличался от контрольных величин, тогда как после введения убихинона был ниже данных группы сравнения и контроля. При включении в терапию метаболитов регистрировалось увеличение восстановленного глутатиона в меньшей степени, выраженной в группе с липоевой кислотой. После введения убихинона активность глутатионредуктазы была резко увеличена по сравнению с предыдущими группами, а после введения липоевой кислоты не отличалась от контрольных величин. Соответственно активность глутатионпероксидазы в группе с убихиноном имела тенденцию к росту, а после введения липоевой кислоты активность фермента нормализовалась.

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

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

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

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

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИИ

1. Дальнейшего исследования требует изучение причин нарушения углеродно-энергетического обмена и поиски специальных корректоров влияющих на обмен глюкозы.

2. Поиск корректоров направленных на устранение лактоацидоза.

3. Перспективы разработки темы исследования могут быть связаны с созданием комплексных корректоров обеспечивающих длительную адаптацию к действию статинов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Dynamics of bioenergetic processes in muscle tissue of rats after prolonged injection of simvastatin / Z.I. Mikashinovich, E.S. Belousova, E.V. Vinogradova, **I.A. Semenets** // International Symposium «Biological motility» (Pushchino, 11-14 may 2016) : Materials of International Symposium.- Pushchino: Synchronobook, 2016. – P. 152-155.

2. Динамика активности антиоксидантных ферментов в мышцах крыс при длительном введении симвастатина / Е.С. Белоусова, З.И. Микашинович, Е.В. Виноградова, **И.А. Семенец** // Всерос. науч.-практич. конф. с международ. участ. «Scientific bases of development and realization of modern technologies of health protection» (Прага, 28–29 октября 2016 г.): матер. конф. – Prague: Sociosfera-CZ, 2016. – С. 359-362.

3. **Семенец, И.А.** Анализ биохимических процессов в эритроцитах животных при длительном приеме статинов и убихинон / **И.А. Семенец** // XXI международ. науч.-практ. конф. «Современные тенденции развития науки и технологии» (Белгород, 30 декабря 2016 г.): матер. конф. – Белгород, 2016. – С. 101-105.

4. Некоторые особенности изменения биоэнергетических процессов в мышечной ткани крыс, после длительного введения симвастатина (зокора) / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, Е.В. Виноградова, **И.А. Семенец** // XV росс. науч.-практ. конф. с международ. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов н/Д, 13 мая 2016 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2016. – С. 137-139.

5. Динамика активности ферментов цикла Кребса в мышечной ткани крыс после длительного введения симвастатина / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, Е.В. Виноградова, **И.А. Семенец** // XV росс. науч.-практ. конф. с международ. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов н/Д, 13 мая 2016 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2016. – С. 124-126.

6. Нарушение энергетического обмена в мышечной ткани как один из молекулярных механизмов статиновой миопатии / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, **И.А. Семенец** [и др.] // XI международ. науч.-практ. конф. «Fundamental and applied sciences

today XI» (North Charleston, USA, 10-11 апреля 2017 г.): матер. конф. – North Charleston, USA, 2017. – С. 40-43.

7. *Ферментативная антиоксидантная защита в мышцах крыс при длительном введении симвастатина / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, Е.В. Виноградова, И.А. Семенец // Медицинский вестник Башкортостана. – 2017. – Т. 12. – № 1 (67). – С. 54-57.

8. Микашинович, З.И. Особенности биохимических изменений в мышечной ткани крыс при длительном введении симвастатина в сочетании с липоевой кислотой / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, **И.А. Семенец** // XVI росс. науч.-практ. конф. с международ. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов н/Д, 12-13 мая 2017 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2017. – С. 86-90.

9. Виноградова, Е.В. Структурно-функциональные изменения в мышечной ткани при длительном приёме статинов / Е.В. Виноградова, **И.А. Семенец** // XVI росс. науч.-практ. конф. с международ. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов н/Д, 12-13 мая 2017 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2017. – С. 90-94.

10. **Семенец, И.А.** Липоевая кислота: структура, биохимические функции, применение в медицине / **И.А. Семенец**, Е.В. Виноградова // XVI росс. науч.-практ. конф. с международ. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов н/Д, 12-13 мая 2017 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2017. – С. 94-99.

11. **Семенец, И.А.** Коэнзим Q 10: структура, биохимические функции, применение в медицине / **И.А. Семенец**, Е.В. Виноградова // XVI росс. науч.-практ. конф. с международ. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов н/Д, 12-13 мая 2017 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2017. – С. 99-105.

12. Виноградова, Е.В. Особенности метаболического ответа мышечной ткани на длительное введение высокой дозы симвастатина (зокора) / Е.В. Виноградова, Е.С. Белоусова, **И.А. Семенец** // 5 итоговая сессия молодых ученых РостГМУ (Ростов н/Д, 11 апреля 2018 г.): сборник матер. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2018. – С. 60-62.

13. *Семенец, И.А. Некоторые особенности изменения обменных процессов в мышцах при длительном введении симвастатина и тиоктовой кислоты в эксперименте / **И.А. Семенец** // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, – № 3. – С. 450-455.

14. Микашинович, З.И. Биохимические изменения в мышцах у крыс при длительном сочетанном введении симвастатина и коэнзима Q₁₀ / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, **И.А. Семенец** // XVII росс. науч.-практ. конф. с международ. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов н/Д, 25-26 мая 2018 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2018. – С. 129-133.

15. **Семенец, И.А.** Применение коэнзима Q₁₀ при статиновой терапии гиперхолестеринемии в эксперименте / **И.А. Семенец**, З.И. Микашинович // 6 итоговая сессия молодых ученых РостГМУ (Ростов н/Д, 30 мая 2019 г.): сборник матер. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2019. – С. 13-15.

16. Микашинович, З.И. Применение тиоктовой кислоты при длительной статиновой терапии гиперхолестеринемии в эксперименте / З.И. Микашинович,

И.А. Семенец // XXVIII междуна­род. науч.-практ. конф. «Российская наука в современном мире» (Москва, 29 февраля 2020 г.): сборник матер. – М.: Изд-во: ООО «Актуальность.РФ», 2020. – С. 32-34.

17. *Пат. № 2733693 Российская Федерация, МПК G 09B 23/28. Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии / Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Семенец И.А., Ромашенко А.В., Кантария А.В.; заявитель и патентообладатель. – Семенец Инна Александровна. - № 2020111021; заявл. 16.03.2020; опубл. 06.10.2020; Бюл. №28.

18. Семенец, И.А. Влияние статинов на метаболические процессы печени / **И.А. Семенец, З.И. Микашинович** // XIX. науч.-практ. конф. с междуна­род. участ. «Обмен веществ при адаптации и повреждении - дни клинической лабораторной диагностики на Дону» (Ростов н/Д, 20 ноября 2020 г.): матер. конф. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2020. – С. 56-60

19. *Микашинович, З.И. Анализ метаболических изменений в митохондриях печени и эритроцитах при эссенциальной гиперхолестеринемии у крыс / **З.И. Микашинович, И.А. Семенец, А.В. Ромашенко** // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23. – №12. – С. 46-51.

20. *Пат. № 2741689 Российская Федерация, МПК G 09B 23/28. Способ оптимизации кислородзависимых процессов при длительном введении симвастатина животным с использованием липоевой кислоты / Семенец И.А., Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Сергиенко М.Г., Телесманич Н.Р., Ромашенко А.В.; заявитель и патентообладатель. – Семенец Инна Александровна. - № 2020124871; заявл. 17.07.2020; опубл. 28.01.2021; Бюл. № 4.

* - 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 кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

GSH	– восстановленный глутатион
Hb	– гемоглобин
ГПО	– глутатионпероксидаза
ГР	– глутатионредуктаза
ПВК	– пировиноградная кислота
СДГ	– сукцинатдегидрогеназы
ЦХО	– цитохромоксидазы