

Влияние алиментарной гиперхолестеринемии на метаболические процессы в сердце, печени и поджелудочной железе у крыс

Зоя Ивановна Микашинович, Артём Викторович Ромашенко,
Инна Александровна Семенец*

Ростовский государственный медицинский университет,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Реферат

Цель. Проанализировать биохимические сдвиги в клетках сердечной мышцы, печени и поджелудочной железы, а также установить их патогенетическую значимость при экспериментальной гиперхолестеринемии, вызванной алиментарным фактором.

Методы. Исследование проведено на 65 беспородных крысах-самцах. В процессе эксперимента животных разделили на группы: первая (контрольная, $n=30$) — животные, которых содержали на общем рационе вивария; вторая (экспериментальная, $n=35$) — животные, у которых моделировали алиментарную гиперхолестеринемию в течение 3 мес путём содержания на специальном рационе. По окончании эксперимента в тканях определяли концентрации пировиноградной кислоты, лактата, восстановленного глутатиона, активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, используя биохимические методы. При помощи статистического t -критерия Стьюдента проверены экспериментальные данные выборок на нормальность распределения.

Результаты. Анализ показателей энергетического обмена у экспериментальных животных с гиперхолестеринемией относительно группы контроля выявил более низкий уровень пировиноградной кислоты в сердечной мышце ($0,29 \pm 0,03$ мкмоль/мг белка; $p \leq 0,05$) и печени ($0,25 \pm 0,02$ мкмоль/мг белка; $p > 0,001$). Во всех тканях зарегистрировано достоверно более высокое содержание уровня лактата, наиболее выраженное в печени ($6,73 \pm 0,6$ мкмоль/мг белка; $p \leq 0,001$). Полученные результаты указывают на преобладание в тканях анаэробного пути гликолиза и накопление недоокисленных продуктов. При исследовании ключевых ферментов глутатионового звена у животных с гиперхолестеринемией относительно данных контроля установлена более низкая активность глутатионредуктазы в поджелудочной железе ($0,52 \pm 0,05$ мкмоль/мг белка/мин; $p \leq 0,001$), а также более высокая её активность в печени ($0,297 \pm 0,03$ мкмоль/мг белка/мин; $p \leq 0,001$) и сердце ($13,58 \pm 1,4$ мкмоль/мг белка/мин; $p > 0,001$). Активность глутатионпероксидазы и восстановленного глутатиона во всех органах практически не изменилась, или различия были недостоверны. Данная тенденция указывает на нарушение работы системы антиоксидантной защиты и формирование окислительного стресса.

Вывод. Изменения метаболического звена адаптивно-компенсаторных реакций в клетках сердечной мышцы, печени и (наиболее выраженные) поджелудочной железе указывают на роль поджелудочной железы как органа-мишени в патогенезе алиментарной гиперхолестеринемии.

Ключевые слова: гиперхолестеринемия, сердечная мышца, печень, поджелудочная железа.

Для цитирования: Микашинович З.И., Ромашенко А.В., Семенец И.А. Влияние алиментарной гиперхолестеринемии на метаболические процессы в сердце, печени и поджелудочной железе у крыс. *Казанский мед. ж.* 2021; 102 (5): 663–668. DOI: 10.17816/KMJ2021-663.

Effect of diet-induced hypercholesterolemia on metabolic processes in the heart, liver, and pancreas in rats

Z.I. Mikashinovich, A.V. Romashenko, I.A. Semenets
Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Aim. To analyze the biochemical changes in the cells of the heart muscle, liver and pancreas, as well as to establish their pathogenetic significance in diet-induced experimental hypercholesterolemia.

Methods. The study was conducted on 65 outbred male rats. During the experiment, the animals were divided into groups: the first (control, $n=30$) — animals that were kept on a general vivarium diet; the second (experimental, $n=35$) — animals with diet-induced hypercholesterolemia for three months by keeping on a special diet. At the end of the experiment, the concentrations of pyruvic acid, lactate, reduced glutathione, the activity of glutathione reductase, and glutathione peroxidase were determined in the tissues by using biochemical methods. The Student's t-test was used for the experimental data of the samples after normality testing.

Results. The analysis of energy metabolism indicators in animals with hypercholesterolemia relative to the control group revealed a lower level of pyruvic acid in the heart muscle (0.29 ± 0.03 mmol/mg protein; $p \leq 0.05$) and liver (0.25 ± 0.02 mmol/mg protein; $p > 0.001$). A significantly higher lactate level was recorded in all tissues, most pronounced in the liver (6.73 ± 0.6 mmol/mg protein; $p \leq 0.001$). The results obtained indicate the predominance of the anaerobic glycolysis in the tissues and the accumulation of incomplete-oxidation products. The study of the key glutathione-linked enzymes in animals with hypercholesterolemia relative to the control showed a lower activity of glutathione reductase in the pancreas — 0.52 ± 0.05 mmol/mg protein/min ($p \leq 0.001$), as well as its higher activity in the liver — 0.297 ± 0.03 mmol/mg protein/min ($p \leq 0.001$) and heart — 13.58 ± 1.4 mmol/mg protein/min ($p > 0.001$). The activity of glutathione peroxidase and reduced glutathione in all organs remained practically unchanged, or the differences were insignificant. This trend indicates a violation of the antioxidant defense system and oxidative stress.

Conclusion. Changes in the metabolic link of adaptive-compensatory responses in the cells of the heart muscle, liver, and, most pronounced in the pancreas, indicate the role of the pancreas as a “target organ” in the pathogenesis of diet-induced hypercholesterolemia.

Keywords: hypercholesterolemia, heart muscle, liver, pancreas.

For citation: Mikashinovich Z.I., Romashenko A.V., Semenets I.A. Effect of diet-induced hypercholesterolemia on metabolic processes in the heart, liver, and pancreas in rats. *Kazan Medical Journal*. 2021; 102 (5): 663–668. DOI: 10.17816/KMJ2021-663.

Актуальность. В настоящее время остаётся открытым вопрос о «гиперхолестеринемии» как об одном из пусковых механизмов развития атеросклероза и патологии сердечно-сосудистой системы [1, 2]. Тем не менее, нарушение холестерина гомеостаза можно рассматривать как стрессорный фактор, приводящий к дисбалансу регуляторных влияний на ведущие системы организма и изменяющий адаптивный потенциал организма [3].

В этой связи нужно полагать, что изменения ключевых метаболических процессов в ткани сердца, печени и поджелудочной железы при гиперхолестеринемии приводят к нарушению адаптивно-компенсаторных механизмов и формируют структурно-функциональные повреждения.

Известно, что степень повреждения клеточных структур зависит от реактивности организма и имеет свои особенности в различных органах. До настоящего времени нет чётких представлений о влиянии гиперхолестеринемии на метаболические межорганные взаимоотношения [4, 5], что необходимо для оценки патогенетической значимости органоспецифических сдвигов, требующих учёта при разработке комплексных схем медикаментозной коррекции, а также апробации новых диетических продуктов.

Существующие сведения, касающиеся механизмов нарушения холестерина гомеостаза, во многом носят противоречивый характер из-за неоднозначности методологических подходов и дизайна исследований [6–9], а также привлечения экспериментальных моделей, среди которых гиперхолестеринемии достигают экзогенным введением холестерина [10, 11]. Остаётся открытым вопрос об алиментарном происхождении гиперхолестеринемии и связанном с этим характере перестроек метаболических процессов в крови, органах и тканях.

Получение полезной информации возможно на основании создания адекватных моделей гиперхолестеринемии с использованием алиментарного фактора. Нами была разработана и использована в данном исследовании модель эссенциальной гиперхолестеринемии на основании составления высокожирового рациона (манная крупа, тростниковый сахар, сливочное масло, несолёное свиное сало), которая характеризовалась изменением липидного статуса и формированием дислипидемии, жировой инфильтрацией, нарушением структуры сосудистой стенки и клеточных элементов органов: набуханием стенок артериол и гиалинозом стенок отдельных сосудов [12].

В контроле клеточного метаболизма ключевая роль принадлежит узловым метаболитам

углеводно-энергетического обмена и глутатионовому звену антиоксидантной системы. Стабильная активность ключевых ферментов глутатионового звена служит основой надёжной антиоксидантной защиты, определяющей адаптивные возможности организма [13].

Цель. Проанализировать биохимические сдвиги в клетках сердечной мышцы, печени и поджелудочной железы и установить их патогенетическую значимость при экспериментальной гиперхолестеринемии, вызванной алиментарным фактором.

Материал и методы исследования. Исследование проведено на 65 беспородных крысах-самцах в возрасте 12 мес с массой тела 300 ± 50 г с сентября по ноябрь (включительно) 2020 г. на базе кафедры общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Проведение экспериментального исследования с использованием животных было согласовано и одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол №17/16 от 20.10.2016 г.).

В процессе эксперимента животные были разделены на две группы. В первую группу входили животные (контрольная группа, $n=30$), которых содержали на общем рационе вивария. У крыс второй группы (экспериментальная группа, $n=35$) индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемия путём содержания животных в течение 3 мес на специальном рационе (манная крупа, тростниковый сахар, сливочное масло в пропорции 1:2:2, 1 раз в сутки индивидуально каждому животному давали 50 г белого несоленого свиного сала), а при достижении целевого уровня холестерина $3,83 \pm 0,31$ ммоль/л брали в эксперимент (контроль $2,2 \pm 0,2$ ммоль/л) [12].

По окончании срока эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом.

Соблюдая температурный режим 4°C , проводили извлечение сердца, печени и поджелудочной железы крысы, затем готовили гомогенат в соотношении 1:9 с охлаждённым изотоническим раствором натрия хлорида, центрифугировали при 3000 об./мин для осаждения крупных обломков клеток.

Концентрацию субстратов углеводно-энергетического обмена, уровень восстановленного глутатиона и активность ферментов глутатионового звена определяли спектрофотометрически на СФ U-2900. Концентрацию пировиноградной кислоты, определяли по про-

писи В.С. Камышникова (2009) [14], уровень лактата — по реакции с параоксидифенилом, описанной Л.А. Даниловой (2003) [15], концентрацию восстановленного глутатиона — по методу, предложенному Джорджем Л. Элманом (1959) [16], активность глутатионпероксидазы — по методу, описанному Л.А. Даниловой (2003) [15], активность глутатионредуктазы устанавливали по методике, предложенной Л.Б. Юсуповой (1989) [17].

Для произведения расчётов проводили определение концентрации общего белка по методу Лоури (1951) [18].

Для статистической оценки результатов эксперимента использовали пакет прикладной программы Statistica 10.0 и Microsoft Office Excel Worksheet. После проверки распределения на нормальность о достоверности различий учитываемых показателей сравниваемых групп судили по величине t -критерия Стьюдента. Статистически достоверными считали различия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты проведённого исследования отображены в табл. 1.

При анализе показателей энергетического обмена у животных с эссенциальной гиперхолестеринемией относительно группы контроля выявлено снижение уровня пировиноградной кислоты в ткани сердечной мышцы на 25,5% ($p \leq 0,05$), в печени на 35,9% ($p < 0,001$) и недостоверное изменение его в поджелудочной железе. В то время как во всех тканях зарегистрировано достоверное повышение уровня лактата: в сердечной мышце — на 72,18% ($p < 0,001$), в печени — на 511,82% ($p < 0,001$), в поджелудочной железе — на 95,24% ($p < 0,001$).

Оценивая полученные результаты, необходимо отметить, что в тканях преобладает анаэробный путь гликолиза, и происходит накопление недоокисленных продуктов. Повышение уровня лактата отражает изменение взаимодействия между органами — сердцем, печенью и поджелудочной железой, что приводит к нарушению цикла Кори, реакций глюконеогенеза, процессов гемостаза и другим метаболическим сдвигам [19].

Известно, что баланс уровня восстановленного и окисленного глутатиона в клетках контролируется отношением ферментов глутатионредуктазы/глутатионпероксидазы [13]. При анализе ключевых ферментов у животных с гиперхолестеринемией относительно группы контроля в поджелудочной железе выявлено снижение активности глутатионредуктазы

Таблица 1. Биохимические изменения показателей в сердечной мышце, печени и поджелудочной железе у животных при эссенциальной гиперхолестеринемии ($M \pm m$, p)

Показатель	Первая группа (контрольная, $n=30$)			Вторая группа (гиперхолестериновая диета, $n=35$)		
	С	П	ПЖ	С	П	ПЖ
Пировиноградная кислота, мкмоль/мг белка	$0,4 \pm 0,038$	$0,39 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,04$	$0,29 \pm 0,03$ $p \leq 0,05$	$0,25 \pm 0,02$ $p > 0,001$	$0,4 \pm 0,03$ $p > 0,05$
Лактат, мкмоль/мг белка	$2,66 \pm 0,24$	$1,1 \pm 0,1$	$3,15 \pm 0,29$	$4,58 \pm 0,47$ $p < 0,001$	$6,73 \pm 0,6$ $p < 0,001$	$6,15 \pm 0,57$ $p < 0,001$
Восстановленный глутатион, мкмоль/мг белка	$295,17 \pm 30,6$	$496,6 \pm 49,83$	$49,94 \pm 5,1$	$378,74 \pm 38,1$ $p > 0,05$	$642,2 \pm 63,8$ $p > 0,05$	$17,62 \pm 1,8$ $p < 0,001$
Глутатионпероксидаза, мкмоль/мг белка/мин	$21,55 \pm 2,2$	$46,85 \pm 4,7$	$16,2 \pm 1,5$	$29,05 \pm 3,1$ $p \geq 0,05$	$45,49 \pm 4,6$ $p > 0,05$	$20,02 \pm 1,9$ $p > 0,05$
Глутатионредуктаза, мкмоль/мг белка/мин	$8,94 \pm 0,91$	$0,158 \pm 0,01$	$1,28 \pm 0,13$	$13,58 \pm 1,4$ $p > 0,001$	$0,297 \pm 0,03$ $p < 0,001$	$0,52 \pm 0,05$ $p < 0,001$

Примечание: p — степень достоверности относительно показателей группы контроля (при $p \leq 0,05$ изменения достоверны); С — сердечная мышца; П — печень; ПЖ — поджелудочная железа.

на 59,38% ($p > 0,001$) и восстановленного глутатиона на 28,31% ($p > 0,05$) при недостоверном повышении активности глутатионпероксидазы на 23,58% ($p > 0,05$), что указывает на нарушение работы системы антиоксидантной защиты и формирование окислительного стресса.

Относительно контрольных животных в печени экспериментальной группы активность глутатионредуктазы увеличилась на 87,97% ($p > 0,001$), а в сердечной мышце на 51,9% ($p > 0,001$), в то время как активность глутатионпероксидазы и восстановленного глутатиона в обоих органах практически не изменились ($p > 0,05$). Данная тенденция может быть связана с тем, что в миоцитах есть запас небольшого количества O_2 , поступающего методом диффузии из капилляров. Полученные данные указывают на напряжённую работу антиоксидантной системы, направленную на восстановление пула глутатиона.

На наш взгляд, полученные данные отражают особенности патогенеза гиперхолестеринемии и разную роль исследуемых органов в организации адаптивно-компенсаторных реакций организма.

Следует обратить внимание, что высокий уровень лактата, особенно выраженный в печени, может, в том числе, быть связан с накоплением макрофагов, в активированном состоянии вырабатывающих фактор некроза опухоли, который в свою очередь влияет на метаболизм липидов [20], способствует накоплению активных форм кислорода и стимулирует перекисное окисление липидов [21].

Закишение среды из-за избыточного количества лактата и, следовательно, развитие гипоксии в печени могут провоцировать не-

алкогольную жировую болезнь, включающую жировой гепатоз и стеатогепатит [9].

В свою очередь накопление лактата в сердце сопровождается «локальным закислением», что приводит к нарушению микроциркуляции, недостаточному поступлению кислорода, нарушению систолической функции и дефекту диастолы [21]. Эти процессы в кардиомиоцитах индуцируют апоптоз, запуская каспазный каскад, активируют катаболизм белков, что приводит к накоплению токсических продуктов.

В результате окислительного стресса растёт уровень прооксидантов и эндотоксинов, которые с током крови попадают в кишечник и поджелудочную железу.

В поджелудочной железе снижение водородного показателя (рН), вызванное накоплением лактата, чревато активацией протеолитических ферментов, самоперевариванием, морфологическими изменениями, приводящими к некрозу клеточных элементов и липоматозу стромы [9].

Обращает на себя внимание, что в поджелудочной железе наиболее выражено снижение пула восстановленного глутатиона, тогда как в сердце и печени наоборот усиливается работа глутатионного звена антиоксидантной системы.

Известна особая чувствительность клеток поджелудочной железы к недостатку кислорода, хотя это же относится и к сердечной мышце, но выраженное истощение запасов глутатиона и снижение интенсивности его восстановления в глутатионредуктазной реакции указывают на особую ранимость панкреатитов в условиях нарушения холестеринового гомеостаза и выдвигают поджелудочную железу как орган-мишень на первый план.

ВЫВОД

Изменения метаболического звена адаптивных реакций в исследуемых органах характеризуются усилением анаэробных процессов, особенно выраженных в печени, сопровождающихся истощением запасов глутатиона в поджелудочной железе, что указывает на её роль как органа-мишени в патогенезе алиментарной гиперхолестеринемии.

Участие авторов. З.И.М. — концепция и дизайн исследования, редактирование текста; А.В.Р. — обзор литературы, сбор и обработка полученных результатов, написание текста; И.А.С. — обзор литературы, анализ полученных результатов, написание текста.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмеджанов Н.М., Небиеридзе Д.В., Сафарян А.С., Выгодин В.А., Шураев А.Ю., Ткачёва О.Н., Лишута А.С. Анализ распространённости гиперхолестеринемии в условиях амбулаторной практики (по данным исследования арго): часть I. *Рационал. фармакотерап. в кардиол.* 2015; 11 (3): 253–260. [Akhmedzhyanov N.M., Nebieridze D.V., Safaryan A.S., Vygodin V.A., Shuraev A.Yu., Tkacheva O.N., Lishuta A.S. Analysis of hypercholesterolemia prevalence in the outpatient practice (according to the ARGO study): part I. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology.* 2015; 11 (3): 253–260. (In Russ.)] DOI: 10.20996/1819-6446-2015-11-3-253-260.
2. Ячменёва М.П., Рагино Ю.И. Роль гиперлипидемии и гипергликемии в развитии ишемической болезни сердца в молодой популяции. *Атеросклероз.* 2018; 14 (1): 38–42. [Yachmeneva M.P., Ragino Yu.I. The role of hyperlipidemia and hyperglycemia in the development of coronary heart disease in young population. *Atherosclerosis.* 2018; 14 (1): 38–42. (In Russ.)] DOI: 10.15372/ATER-20180105.
3. Karam I., Yang M., Li J. induce hyperlipidemia in rats using high fat diet investigating blood lipid and histopathology. *J. Hematol. Blood Dis.* 2018; 4 (1): 104. DOI: 10.15744/2455-7641.4.104.
4. Аронов Д.М., Лупапов В.П. Некоторые аспекты патогенеза атеросклероза. *Атеросклероз и дислипидемии.* 2011; (1): 48–56. [Aronov D.M., Lupapov V.P. Atherosclerosis and coronary heart disease: some aspects of pathogenesis. *Ateroskleroz i dislipidemii.* 2011; (1): 48–56. (In Russ.)]
5. Бабакова Е.Ю., Тришина В.В., Трясунова М.А. Взаимосвязь биохимических сдвигов и риска развития ишемического инсульта. *Смоленский мед. альманах.* 2015; (1): 58–59. [Babakova E.Yu., Trishina V.V., Tryasunova M.A. The relationship between biochemical changes and the risk of ischemic stroke. *Smolenskiy meditsinskiy al'manakh.* 2015; (1): 58–59. (In Russ.)]
6. Гималетдинова И.А., Амиров Н.Б., Абсальмова Л.Р. Печень, неалкогольная жировая болезнь печени и дислипидемия. Есть ли связь? *Вестн. соврем. клин. мед.* 2020; 13 (6): 68–74. [Gimaletdinova I.A., Amirov N.B., Absalyamova L.R. Liver, non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia. Is there a connection? *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine.* 2020; 13 (6): 68–74. (In Russ.)] DOI: 10.20969/VSKM.2020.13(6).68-74.
7. Tanaka Y., Ono M., Miyago M., Suzuki T., Miyazaki Y., Kawano M., Asahina M., Shirouchi B., Imaizumi K., Sato M. Low utilization of glucose in the liver causes diet-induced hypercholesterolemia in exogenously hypercholesterolemic rats. *PLoS One.* 2020; 15 (3): e0229669. DOI: 10.1371/journal.pone.0229669.
8. Otunola G.A., Oloyede O.B., Oladiji A.T., Afolayan A.J. Selected spices and their combination modulate hypercholesterolemia-induced oxidative stress in experimental rats. *Biol. Res.* 2014; 47: 5. DOI: 10.1186/0717-6287-47-5.
9. Сердюков Д.Ю., Гордиенко А.В., Сайфуллин Р.Ф., Сапожникова Т.В., Ефимов О.И. Печень как орган-мишень при метаболическом синдроме и липидном дистресс-синдроме. *Здоровье. Мед. экология. Наука.* 2016; (4): 37–44. [Serdyukov D.Y., Gordienko A.V., Saifulin R.F., Sapozhnikov T.V., Efimov O.I. Liver as target organ of the metabolic syndrome and lipid distress syndrome. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka.* 2016; (4): 37–44. (In Russ.)] DOI: 10.18411/hmes.d-2016-152.
10. Ключева Н.Н., Окуневич И.В., Парфёнова Н.С., Белова Е.В., Агеева Е.В. Экспериментальные данные о гипополипидемической активности отечественного ферментного препарата природного происхождения холестериноксидазы. *Биомед. химия.* 2019; 65 (3): 227–230. [Klyueva N.N., Okunevich I.V., Parfenova N.S., Belova E.V., Ageeva E.V. Effect of lipid-lowering activity of the natural original enzyme preparation in the experiment. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2019; 65 (3): 227–230. (In Russ.)] DOI: 10.18097/PBMC20196503227.
11. Непомнящих Л.М., Лушников Е.Л., Поляков Е.Л., Молодых О.П., Клиникова М.Г., Русских Г.С., Потеряева О.Н., Непомнящих Р.Д., Пичигин В.И. Структурные реакции миокарда и липидный спектр сыворотки крови при моделировании гиперхолестеринемии и гипотиреоза. *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* 2013; 155 (5): 647–652. [Nepomnyashchikh L.M., Lushnikova E.L., Polyakov E.L., Molodykh O.P., Klinnikova M.G., Russkikh G.S., Poteryaeva O.N., Nepomnyashchikh R.D., Pichigin V.I. Structural changes in the myocardium and serum lipid spectrum in experimental hypercholesterolemia and hypothyroidism. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2013; 155: 647–652.] DOI: 10.1007/s10517-013-2228-8.
12. Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Семёнец И.А., Ромашенко А.В., Кантария А.В. *Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии.* Патент на изобретение РФ №2733693. Бюлл. №28 от 16.03.2020. [Mikashinovich Z.I., Belousova E.S., Semenets I.A., Romashenko A.V., Kantariya A.V. *Modeling essential hypercholesterolemia.* Patent for invention RF No. 2733693. Bulletin No. 28 issued at 16.03.2020. (In Russ.)]
13. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алейд Р., Новичкова М.Д., Саприн А.Н., Березов Т.Т. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов. *Вестн. РАМН.* 2010; (3): 46–54. [Kalinina E.V., Chernov N.N., Aleid R., Novichkova M.D., Saprin A.N., Berezov T.T. Current views of antioxidant activity of glutathione and glutathione-depending enzymes. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2010; (3): 46–54. (In Russ.)]
14. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике.* Под ред.

В.С. Камышникова. М.: МЕДпресс-информ. 2009; 896 с. [*Spravochnik po kliniko-biokhimicheskom issledovaniyam i laboratornoy diagnostike*. (Reference book on clinical and biochemical research and laboratory diagnostics.) Ed. by V.S. Kamyshnikova. M.: MEDpress-inform. 2009; 896 p. (In Russ.)]

15. *Справочник по лабораторным методам исследований*. Под ред. Л.А. Даниловой. СПб.: Питер. 2003; 736 с. [*Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniy*. (Laboratory research methods handbook.) Ed. by L.A. Danilovoy. SPb.: Piter. 2003; 736 p. (In Russ.)]

16. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959; 82 (1): 70–77. DOI: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.

17. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов. *Лаб. дело*. 1989; (4): 19–21. [Yusupova L.B. On increasing the accuracy of determining the activity of erythrocyte glutathione reductase. *Laboratornoe delo*. 1989; (4): 19–21. (In Russ.)]

18. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193 (1): 265–275. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6.

19. Мельник А.А. Роль лактата в клинической практике. *Новости медицины и фармации*. 2019; (4): 686.

[Mel'nik A.A. The role of lactate in clinical practice. *Novosti meditsiny i farmatsii*. 2019; (4): 686. (In Russ.)]

20. Овчинников А.Г., Арефьева Т.И., Потехина А.В., Филатова А.Ю., Агеев Ф.Т., Бойцов С.А. Молекулярные и клеточные механизмы, ассоциированные с микрососудистым воспалением в патогенезе сердечной недостаточности с сохранённой фракцией выброса. *Acta Naturae*. 2020; 12 (2): 40–51. [Ovchinnikov A.G., Arefieva T.I., Potekhina A.V., Filatova A.Yu., Ageev F.T., Boytsov S.A. The molecular and cellular mechanisms associated with a microvascular inflammation in the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction. *Acta Naturae*. 2020; 12 (2): 40–51.] DOI: 10.32607/actanaturae.11154.

21. Стороожук П.Г. *Биохимическая природа автоматизма сердца, его связь с нервной системой и экстраполяция химических процессов на элементы кардиограммы*. Краснодар: Изд-во ГБОУ ВПО КубГМУ. 2011; 104 с. [Storozhuk P.G. *Biokhimicheskaya priroda avtomatizma serdtsa, ego svyaz' s nervnoy sistemoy i ekstrapolyatsiya khimicheskikh protsessov na elementy kardiogrammy*. (The biochemical nature of the automatism of the heart, its connection with the nervous system and the extrapolation of chemical processes to the elements of the cardiogram.) Krasnodar: Izd-vo GBOU VPO KubGMU. 2011; 104 p. (In Russ.)]