

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. М. СЕЧЕНОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Мухаммед Ариж Абделькаримовна

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
ВЕЩЕСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ОСНОВЕ
ЧЕСНОКА, РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ И ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН

(Экспериментальное исследование)

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук
М. Л. Максимов

Москва – 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. Дислипидемия как основной фактор развития атеросклероза и перспективы применения веществ природного происхождения в липид-корректирующей терапии (обзор литературы)	11
1.1. Теории патогенеза атеросклероза.....	11
1.2. Современные принципы профилактики и лечения атеросклероза.....	15
1.2.1. Традиционная липид-модифицирующая лекарственная терапия.....	15
1.2.2. Спектр побочных эффектов традиционных гиполипидемических препаратов.....	17
1.3. Гиполипидемические свойства веществ природного происхождения (чеснок, масло амарантовое, оливковое и льняное и волокна пектина, альгината и хитозана).....	19
1.3.1. Потенциальные гиполипидемические свойства чеснока.....	20
1.3.2. Потенциальные гиполипидемические свойства растительных масел с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот.....	25
1.3.3. Потенциальные гиполипидемические свойства пищевых волокон.....	30
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования	38
ГЛАВА 3. Сравнительное изучение гиполипидемических свойств раздельного применения веществ на основе чеснока, масел оливкового, амарантового и льняного, а также пектина, альгината и хитозана (результаты собственных исследований)	55
3.1. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии.....	55
3.2. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль крыс на твиновой модели гиперлипидемии.....	61
ГЛАВА 4: Сравнительное изучение гиполипидемических свойств парного сочетания веществ на основе чеснока, масел оливкового, амарантового и льняного, а также пектина, альгината и хитозана	66
4.1 Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел, а также масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии.....	66
4.2 Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел, а также масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс на твиновой модели гиперлипидемии.....	71

ГЛАВА 5: Исследование гиполлипидемических свойств и безопасности сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана	77
5.1 Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии.....	77
5.2 Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на липидный профиль у крыс на твиновой модели гиперлипидемии.....	82
5.3 Изучение безопасности сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана.....	85
ГЛАВА 6: Сравнительное изучение механизма действия сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана	87
6.1 Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на показатели перекисного окисления липидов.....	87
6.2 Эмульгирующие свойства чеснока в маслах оливковом, амарантовом и льняном.....	92
6.2.1. Метод камеры Горяева.....	92
6.2.2. Метод количественного определения.....	93
6.3 Сорбционные свойства пектина, хитозана и альгината.....	95
ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	97
ВЫВОДЫ	127
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	131
ПРИЛОЖЕНИЕ	162

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

На протяжении нескольких последних десятилетий заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС) занимают лидирующее место в структуре смертности населения в странах Запада и в Российской Федерации (Шальнова С.А., Оганов Р.Г., Деев А.Д., 2004). В настоящее время происходит существенное «омоложение» этих показателей среди населения трудоспособного возраста (Гальцев Ю.И., 2013). Ведущее место среди причин развития ССЗ занимает атеросклероз (АС) - одно из наиболее распространенных и социально значимых заболеваний в мире (Оганов Р.Г., 1994; Собенин И.А., Сазонова М.А., Орехов А.Н. и соавт., 2011; Kunyong Zhang, Fang Yin, and Lin Lin, 2014).

Традиционной стратегией при первичной профилактике заболеваний, ассоциированных с атеросклерозом, является воздействие на его факторы риска (Assmann G., Cullen P., Schulte H., 2002). Медикаментозная тактика борьбы с одним из ключевых звеньев атерогенеза - дислипидемией (ДЛП) - представлена средствами синтетического происхождения: статины, фибраты, никотиновая кислота, секвестранты желчных кислот (Karourchali FR, Surendiran G, Chen L, Uitz E, Bahadori B, Moghadasian MH, 2014). Однако, ряд побочных эффектов и противопоказаний ограничивают их широкое клиническое применение (McKenney J.M., 2000; Петров В.И., Смусева О.Н., Соловкина Ю.В., 2012; Alsheikh-Ali A.A., Maddukuri P.V., Han H., Karas R.H., 2007; Toth P.P., Harper C.R., Jacobson T.A., 2008).

С каждым годом увеличивается количество исследований, направленных на поиск альтернативных гиполипидемических средств. Среди них ведущее место занимают препараты природного происхождения. В ряде клинических и экспериментальных работ показано антигиперлипидемическое действие чеснока (Yeh Yu-Yan, Yeh Shaw-Mei., 2006). Доказано положительное влияние на липидный обмен растительных масел (Рыженков В.Е., 2002; Visioli F. et al., 2002, Офицеров Е.И., 2001,

Орехов А.Н., Тертов В.В., Собенин И.А. и соавт., 1996). Представлены данные о липид-корректирующем действии пищевых волокон (ПВ) (Хотимченко М.Ю., 2011). В последние годы значительно повысился интерес к комплексным препаратам природного происхождения, воздействующим на различные звенья патогенетического процесса (Бадалов Н. Г. и соавт., 2013). Таким образом, создание поликомпонентного биологически активного вещества, обладающего гиполипидемическими свойствами, представляется актуальным не только для потенциального использования при легких формах нарушения липидного обмена, но и в сочетании со статинами с целью снижения дозы последних, а соответственно и их побочных эффектов.

Степень разработанности проблемы

История изучения гиполипидемических свойств природных веществ насчитывает ни одно десятилетие. Не угасает интерес исследователей к поиску, разработке и применению новых гиполипидемических препаратов, обладающих высоким профилем безопасности (Kim S.H., Park K.S., 2003; Sapronov N.S., Khnychenko L.K., Okunevich I.V., Gavrovskaya L.K., 2006; Василенко Ю. К., 2013).

Среди биологически активных веществ с наиболее изученным механизмом коррекции липидного профиля выделяют: чеснок, растительные масла, пищевые волокна (Лякишев А.А., 2002; Gerhardt R., 1993). Изучение отдельного действия природных компонентов на липидный обмен ограничивает потенциальную их синергическую активность. Так, применение натуральных поликомпонентных составов позволяет усилить известные полезные свойства каждого из ингредиентов, воздействуя на различные этапы атерогенеза (Асеева Т.А., Блинова К.Ф., Яковлев Р.П., 1989). Между тем, экспериментальных работ, направленных на создание новых гиполипидемических натуральных комплексов, недостаточно, а имеющиеся освещают лишь часть проблемы и не всегда имеют клиническую значимость.

Цель исследования

Провести сравнительное исследование (по отдельности и сочетанно) гипополипидемических свойств веществ природного происхождения на примере чеснока, амарантового, льняного, и оливкового масел, а также хитозана, альгинатов и пектина.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ гипополипидемических свойств чеснока, масел (оливкового, льняного и амарантового) и пищевых волокон (хитозана, альгинатов и пектина), влияющих на показатели липидного спектра крови при экспериментальных моделях гиперлипидемии у крыс с целью выявления наиболее перспективных сочетаний;
2. Провести сравнительный анализ гипополипидемических свойств одного из наиболее эффективных сочетаний изучаемых веществ (чеснока, масел оливкового, льняного, амарантового, а также пищевых волокон хитозана, альгинатов и пектина) с целью проведения дальнейших клинических испытаний и разработки лекарственного препарата;
3. Изучить безопасность нового сочетания исследуемых веществ на основе чеснока, масел и пищевых волокон с целью аргументации возможности назначения для длительного использования;
4. Изучить антиоксидантную активность наиболее эффективной комбинации чеснока, масел и пищевых волокон на моделях экспериментально индуцированной гиперлипидемии у крыс, с целью доказать антиоксидантный механизм действия комбинации;
5. Провести сравнительное изучение эмульгирующих свойств чеснока в исследуемых растительных маслах (оливковом, льняном и амарантовом) в качестве возможного механизма гипополипидемического действия чеснока;
6. Сравнить адсорбирующие возможности исследуемых пищевых волокон (хитозана, альгинатов и пектина) для сравнения силы данного механизма гипополипидемического действия указанных веществ.

Новизна исследования

Впервые получено и экспериментально обосновано сочетание природных веществ на основе порошка чеснока, амарантового масла и хитозана в гиполипидемическом поликомпонентном комплексе.

Впервые обоснованы антиоксидантные свойства поликомпонентного сочетания веществ на основе порошка чеснока, амарантового масла и хитозана.

Впервые доказана эффективность и безопасность данного комплекса. Установлено и аргументировано, что гиполипидемическая эффективность нового комплекса превышает гиполипидемическую эффективность отдельных его компонентов. Выявленный факт свидетельствует о наличии синергизма, который способствует взаимному усилению действия лекарственных средств и повышению эффективности основного фармакологического действия комплекса.

Выявленные особенности дали научное обоснование целесообразности проведения дальнейших исследований комплекса, в том числе позволили его рекомендовать для клинических испытаний с целью включения в программу профилактики и терапии дислипидемии и АС.

Проведено сравнительное исследование фармакологической активности полученного комплекса веществ и препаратов на основе чеснока (Алисат) и ПНЖК (Омегатрин).

Эмульгирующие свойства, впервые выявленные у чеснока, позволяют рассматривать эмульгирующий механизм действия препаратов на его основе.

Научно-практическая ценность работы

Проведенное исследование позволило получить поликомпонентный комплекс веществ природного происхождения на основе чеснока, амарантового масла и хитозана, характеризующийся гиполипидемической активностью. Гиполипидемическая эффективность и безопасность полученного комплекса позволяет рассматривать возможность его

дальнейшего использования при лёгких формах дислипидемий и в качестве дополнения к стандартной медикаментозной терапии гиперлипидемий, с целью снижения разовой дозы синтетического средства и уменьшения связанных с его применением побочных эффектов.

Реализация результатов

Результаты, полученные при исследовании гиполипидемических свойств чеснока, масел амарантового, оливкового и льняного, волокон хитозана, альгината и пектина, а также их различных сочетаний в полученном комплексе, используются в учебном процессе: в лекционном курсе и на практических занятиях по темам «Лекарственные средства, влияющие на сердечно-сосудистую систему (ССС)», «Гиполипидемические средства», в научно-исследовательской работе кафедры фармакологии фармацевтического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Методология и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами использованы современные информативные подходы. Объектами исследования являлись белые беспородные крысы-самцы. Изучение гиполипидемических свойств природных веществ проводилось согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению лекарственных средств (А.Н. Миронов, 2012) с использованием соответствующих методов статистической обработки данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Чеснок, амарантовое, льняное и оливковое масло, а также волокна хитозана, альгината и пектина обладают различной гиполипидемической активностью относительно отдельных показателей липидного спектра крови: порошок чеснока статистически значимо лучше снижает ТГ, хитозан статистически значимо лучше снижает ОХС, а амарантовое масло статистически значимо лучше снижает ЛПНП и повышает ЛПВП.
2. Комплекс веществ (порошок чеснока/амарантовое масло/хитозан) обладает гиполипидемическими свойствами.

3. Комплекс веществ (порошок чеснока/амарантовое масло/хитозан) относится к малотоксичным веществам IV класса.
4. Комплекс веществ (порошок чеснока/амарантовое масло/хитозан) обладает антиоксидантными свойствами.
5. Чеснок обладает выраженными эмульгирующими свойствами.
6. Сорбционная ёмкость хитозана и пектина превышает таковую у альгината.

Личный вклад

Автором проведен анализ литературных данных по теме диссертации. Выполнена экспериментальная часть работы по оценке гипополипидемической активности изучаемых средств и их сочетаний, а также сравнительной оценке эмульгирующих свойств чеснока в маслах и адсорбирующих свойств пищевых волокон, изучении токсического действия и антиоксидантного эффекта гипополипидемического комплекса (порошок чеснока/амарантовое масло/ хитозан). Автор лично участвовала в анализе полученных данных, их статистической обработке и интерпретации. При участии автора сформулированы задачи, выводы и практические рекомендации, проведен подбор методов, разработаны протоколы экспериментов, дизайн исследования. При активном участии автора подготовлены публикации по результатам работы.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокий уровень достоверности результатов работы подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, использованием высокотехнологичного оборудования, адекватных современных методов и критериев статистической обработки данных. Основные положения и результаты диссертационной работы представлены и доложены на VI и V-й международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук» (26-27 марта 2013 г. и 25-26 июня 2013 г., Москва), на Международной научной интернет-конференции «Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы» (19-20 апреля 2013 г., Казань), на II-ом

Молодежном международном форуме медицинских наук «MedWAYS» (26-27 ноября 2013 г., Москва), на XV-ом Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI Веке» (27-30 ноября 2013 г., Москва), на расширенном заседании кафедры фармакологии фарм. факультета ПМГМУ им. И.М. Сеченова (06 декабря 2013 г., Москва), а также на XII Международной научно-практической конференции «Прогрессивные процессы мирового научного знания в XXI веке» (31 мая 2014 г., Казань). По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, 6 из них в российских рецензируемых научных журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикаций результатов диссертаций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста, содержит 12 таблиц и 21 графических рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, глав описания материалов и методов, собственных результатов, обсуждения полученных результатов, выводов и научно-практических рекомендаций, дополнена приложением из 4 таблиц. Библиографический указатель содержит 102 отечественных и 213 зарубежных источника.

ГЛАВА 1. ДИСЛИПИДЕМИЯ КАК ОСНОВНОЙ ФАКТОР РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВЕЩЕСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ЛИПИД-КОРРЕГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ):

1.1 Теории патогенеза атеросклероза

В настоящее время многофакторная природа развития атеросклероза неоднократно доказана в ряде популяционных, клинических и экспериментальных исследований (Marleau S., Mellal K. et al., 2014; Remaley AT et al, 2014).

«Атеросклероз – это системное заболевание, связанное с поражением крупных и средних артерий мышечного типа, представляющее собой совокупность изменений всех слоев сосудистой стенки, сопровождающееся локальным воспалением, отложением патологически модифицированных липидов, дисфункцией эндотелия, пролиферацией и изменениями сократимости гладкомышечных клеток, развитием фиброзной ткани и кальцификацией с последующим стенозом или окклюзией, приводящими к гемодинамическим нарушениям в зоне ответственности пораженного сегмента сосуда» (Гуревич В.С., 2006).

Первая экспериментальная модель атеросклероза была создана в 1912 г. отечественными учеными Н. Н. Аничковым и С. С. Халатовым, путем введения высоких доз холестерина в рацион кроликов. Выявление отложений липидов на внутренней стенки сосудов легло в основу холестериновой теории атерогенеза. Прошедшие сто лет внесли существенные дополнения, определили ряд ключевых звеньев патогенеза АС, однако нарушение липидного обмена остается наиболее важным патогенетическим механизмом атерогенеза (Calhoun D.A., 2006). Показано, что снижение общего холестерина (ОХС) крови на 1% приводит к снижению смертности от ССЗ на три и более процентов (Нестеров Ю.И., 2007).

Как известно, ХС в плазме крови состоит из экзогенного холестерина, поступающего с пищей, и эндогенного, образующегося в организме.

Биосинтез эндогенного ХС регулируется количеством поступающего в организм экзогенного ХС. При снижении уровня внутриклеточного ХС (прежде всего, в печени) происходит экспрессия рецепторов к ЛПНП, что по механизму обратной связи приводит к повышенной мобилизации внутрисосудистого ХС в гепатоциты (Л.А. Бокерия, Р.Г. Оганов, 2010).

Метаболизм липопротеидов напрямую связан с апобелками, а также рядом ферментов и тканевых рецепторов. Содержащиеся в пище ХС и ТГ поступают в кишечник, где всасываются и формируются в крупные липопротеиновые комплексы — хиломикроны (ХМ). ХМ - самые большие ЛП, переносящие ТГ в жировую ткань, а эфиры ХС в клетки печени (Гуревич В.С., Уразгильдеева С.А., и соавт., 2012).

ЛПНП, транспортирующие ХС из печени к периферическим клеткам, является наиболее атерогенным классом ЛП (Т.С. Гулевская, СМ. Ложникова, А.В. Сахарова и соавт., 2000).

Обратный транспорт ХС из периферических клеток в печень осуществляют ЛПВП. Согласно липидной теории, развитию АС способствует резкое изменение соотношения между атерогенными ЛПНП и антиатерогенными ЛПВП (А.П. Васильев, Н.Н. Стрельцова, М.А. Секисова и соавт., 2004).

Не менее важна в регуляция эндогенного синтеза ХС активность ключевого фермента образования ХС ГМГ-КоА редуктаза. Этот фермент катализирует превращение ГМГ-КоА в мевалоновую кислоту — промежуточного продукта образования ХС. Ферментопатия приводит к избыточному накоплению ХС в клетках эндотелия, запуская атерогенез (Wong JP, Wijaya S, et al., 2014).

Доказано, что дислипидемия в значительной степени генетически детерминирована. Выявлены множественные значимые генетические локусы, ассоциированные с атеросклерозом. Интересно отметить, что наряду с изучением семейных форм гиперхолестеринемии, созданные трансгенные животные, у которых обнаружены специфические изменения сосудов на

фоне гипохолестериновой диеты, еще раз продемонстрировали важность генетических аспектов атерогенеза (Labos C, Wang RH, et al., 2013).

Вторым по значимости механизмом развития атеросклероза является дисфункция эндотелия. Первичное повреждение эндотелия морфологически характеризуется нарушением цитоскелета, ослаблением межклеточных связей, изменением расстояния между клетками, экспозицией субэндотелиальных структур (Stary HC, Chandler AB, Glagov S et al., 1994).

Гладкомышечные клетки (ГМК) сосудистой стенки утилизируют преимущественно липиды, транспортируемые в артериальную стенку с ЛП плазмы. Для этого на своей поверхности ГМК имеют специфические рецепторы, обладающие высоким сродством к апоБелкам, находящимся на поверхности ЛП. При повреждении эндотелия, ХС ЛП проникает в ГМК сосудов, минуя рецепторный механизм, что чревато избыточным накоплением в них эфиров ХС и формированием атеромы (Л.А. Бокерия, Р.Г. Оганов, 2010). В результате, облегчается проникновение ЛПНП в стенку сосуда, где последние окисляются, или подвергаются химическому превращению. Дальнейший процесс сопровождается активацией эндотелиоцитов и выделением молекул адгезии, которые опосредуют прилипание тромбоцитов, лейкоцитов способствуют отложению клеточного "мусора" и солей кальция на стенке сосуда, активируют миграцию макрофагов в интиму, образование "пенистых клеток" и их дальнейшего склерозирования и уплотнения (Арутюнов Г.П., 1999; Лякишев А.А., 2002; Н.В. Перова, В.А. Метельская., 2004). На месте атеромы возникает фиброзная бляшка, которая выступает в просвет сосуда. Интима в местах возникновения бляшек фрагментируется, что способствует миграции ГМК из средней оболочки артерии в интиму и трансформации в фибробластподобные клетки с частичной или полной потерей сократительных свойств. Основной причиной клинических осложнений атеросклероза является дестабилизация ранимой бляшки, заключающаяся в нарушении целостности ее покрышки и формировании тромба (Гуревич В.С., 2006).

Открытие эндотелинов и эндотелий-расслабляющего фактора — оксида азота NO заставило учитывать и паракринную функцию эндотелия в патогенезе атеросклероза (Карпов Р.С., 2003). К основным функциям артериального эндотелия относят барьерную, антитромботическую, вазодилатирующую, пролиферирующую и способность активации ГМК (Аронов, Д. М., 2011).

Основными эффекторами этой функции сосудистой стенки являются некоторые простагландины, эндотелин и оксид азота. Согласно перекисной теории, образование перекисей липидов в стенке сосуда может вызывать первичное повреждение интимы, инициировать и ускорять течение атеросклеротического процесса (Коган А. Х., Кудрин А.Н. и соавт. 1992; А.Н. Кудрин и соавт., Фармакология. М., 1993).

Роль воспалительных факторов в атерогенезе еще раз подтвердило недавно проведенное клиническое исследование PROSPECT (2009-2011 гг.). Пациентам, перенесшим острый коронарный синдром (ОКС), в качестве биомаркеров прогрессирования атеросклероза проводили оценку динамики С-реактивного белка (СРБ), липопротеина (а), интерлейкина ИЛ-6, фактора некроза опухоли α (ФНО α), и др., высокий уровень которых ассоциировался с риском рецидива ССЗ (Kelly CR, Weisz G, et. al., 2014). Принимая во внимание все вышесказанное, один из инициальных этапов атерогенеза можно представить так: в результате повреждения эндотелия, последний экспрессирует цитокины (ИЛ-1, (ФНО α)) и некоторые факторы роста. К участкам эндотелия с повышенной адгезивностью прикрепляются моноциты и Т-лимфоциты, которые мигрируют в субэндотелиальное пространство. Моноциты дифференцируются в макрофаги, трансформируются в конечном итоге в пенистые клетки, составляющие основу так называемых липидных полосок. Окисленные ЛПНП инициируют локальную воспалительную реакцию, сопровождающуюся гибелью эндотелиальных клеток и вызывающую дисфункцию эндотелия. Модифицированные ок-ЛПНП приобретают свойства аутоантигенов и стимулируют аутоиммунные

реакции. Кроме того, ок-ЛПНП модифицируют реакцию сосудистой стенки на ангиотензин II. Это приводит к нарушению вазодилатации и индуцирует протромботическое состояние, активируя тромбоциты и запуская каскад факторов коагуляции плазмы крови (Гуревич В.С., 2006; Зенков Н.К., 2001; Климов А.Н., Никульчева Н.Г., 1995).

Таким образом, атеросклероз - это полиэтиологическое заболевание, в генезе которого участвуют алиментарные, нейрогенные, аутоиммунные, окислительные, генетические и другие факторы. Представленные теории освещают лишь одну или несколько граней этой сложной проблемы.

1.2 Современные принципы профилактики и лечения атеросклероза

В настоящее время выделяют две группы факторов риска (ФР): немодифицируемые (пол, возраст, наследственность) и модифицируемые (курение, артериальная гипертензия, гиперхолестеринемия, гиподинамия, ожирение и др.) Немедикаментозное лечение включает гипополипидемическую диету и борьбу с факторами риска, в первую очередь, нарушениями липидного обмена, ожирением, артериальной гипертензией и курением (Рекомендации РКО/ ВНОК, 2009). Разработка подходов к профилактике и лечению АС, основанных на снижении уровня факторов риска АС, прежде всего, таких как гиперлипидемия, гипертензия и диабет рассматриваются как непрягая антиатеросклеротическая терапия (Calhoun D.A., 2006; Fabris F., Zanoschi M., et al., 1994). Характер питания, равно как и физическая активность, существенно влияют на риск развития ССЗ опосредованно через биологические факторы (ЛПНП, ЛПВП, артериальная гипертензия, ожирение) (Волкова Э.Г., 2005). Так, принципиально важным направлением в диетологии при АС является восстановление утрачиваемого человечеством должного состава и объема натуральной растительной пищи (Рекомендации РКО/ ВНОК, 2004).

1.2.1 Традиционная липид-модифицирующая лекарственная терапия

Медикаментозное лечение проводят средствами, воздействующими, главным образом, на нарушение липидного обмена (Метелица В.И., 2002).

Спектр препаратов, обладающих гиполипидемическим действием, сегодня чрезвычайно широк. Исследованы основные преимущества и недостатки различных групп липид-корректирующих средств (Маль Г.С., 2005; В.С. Шухов, Л.Б. Лазебник, 2000).

К средствам, влияющим на гиперхолестеринемию, относятся:

- Ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (статины);
- Производные фиброевой кислоты (фибраты);
- Никотиновая кислота;
- Ингибиторы абсорбции ХС в кишечнике;
- Секвестранты желчных кислот (смолы);
- Полиненасыщенные жирные кислоты - Ω -3 триглицериды

Выделяют три группы статинов: натуральные статины (ловастатин, являющийся грибковым метаболитом); полусинтетические (правастатин и симвастатин); полностью синтетические соединения с отличной химической структурой, такие как флувастатин, аторвастатин и розувастатин.

Статины, будучи ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы (фермент синтеза ХС), способствуют снижению пула ХС в клетках печени. Статины снижают содержание ХС ЛПНП путём истощения его внутриклеточных запасов и регулирования рецепторов ЛПНП печени. Между тем, действие статинов не ограничивается липидкорректирующим эффектом. На фоне лечения происходит нормализации эндотелиальной функции, антиоксидантного, противовоспалительного, антикоагулянтного, антипролиферативного действия, стабилизации атеросклеротической бляшки (Bersano A, Ballabio E, 2008; Simko F., 2007; Reiss AB, Wirkowski E., 2007; Paraskevas KI, Tzovaras AA, Briana DD, 2007; Adam O, Neuberger HR, 2008).

Проведенные клинические исследования по первичной и вторичной профилактике ИБС, показали, что терапия статинами значительно снижает заболеваемость и смертность от ИБС, острого нарушения мозгового кровоснабжения (Baigent C, Blackwell L, Emberson J et al 2010; Baigent C, Keech A, Kearney PM et al., 2005; Mills EJ, Wu P, Chong G et al., 2011).

В то же время, известно, что гиполипидемическая терапия характеризуется средним и низким уровнем комплаенса, т.е. низким соблюдением режима приема лекарственного препарата пациентом (Insull W., 1997). Принимая во внимание, что дислипидемия на начальных стадиях протекает бессимптомно, пациенты не настроены на продолжительную терапию. К тому же, возникновение нежелательных реакций при проведении фармакотерапии воспринимается пациентами крайне негативно и способствует их отказу от дальнейшего лечения (McKenney JM., 2000).

1.2.2. Спектр побочных эффектов традиционных гиполипидемических препаратов

Большая часть используемых на сегодняшний день статинов, за исключением правастатина и розувастатина, обладают липофильной природой и легко проникают сквозь мембраны клеток, оказывая своё влияние на ГМГ-КоА-редуктазу, как внутри печени, так и вне её. Системное действие на ГМГ-КоА-редуктазу определяет развитие нежелательных эффектов терапии (Soran H, Durrington P., 2008; J. Beltowski et al, 2009).

Среди наиболее частых побочных эффектов статинов выделяют: миотоксичность, гепатотоксичность, нейро-, нефротоксичность, гипергликемию.

«Мышечные» побочные эффекты относятся к наиболее распространённым и хорошо изученным побочным эффектам статиновой терапии. Они возникают более чем у 10% пациентов (Toth PP, Harper CR, et al, 2008). Выделяют миалгические симптомы, миопатии, обусловленные повышением активности креатинфосфокиназы (КФК). Самым тяжелым миопатическим осложнением является рабдомиолиз с резким подъемом уровня КФК (Vladutiu GD., 2008; Ruano G, Thompson PD, Windemuth A, et al, 2005). В 10 % случаев летальный исход рабдомиолиза связывают с аритмиями и развитием ДВС-синдрома (Law M, Rudnicka AR., 2006).

Причем факторы, снижающие метаболизм статинов, такие как: преклонный возраст, почечные и печёночные расстройства, гипотиреозидизм,

сахарный диабет, увеличивают вероятность развития миопатии (Link E, Parish S, Armitage J, et al., 2008).

Механизм развития индуцированных статинами мышечных побочных явлений по сей день недостаточно изучен. Исследования Pierno et al. показали способность статинов повышать порог возбудимости мышечных клеток крыс (Pierno S, De Luca A, Tricarico D, et al., 1995; 275; Pierno S, De Luca A, Liantonio A, et al., 1999). Дальнейшее изучение показало, что статины ингибируют хлоридные каналы типа CLC-1, и тем самым снижают ток ионов хлора, вызывая деполяризацию и непрерывное мышечное сокращение (Pierno S, Didonna MP, Ciprone V, et al., 2006). Есть данные о том, что статины увеличивают концентрацию внутриклеточного кальция (Liantonio A, Giannuzzi V, Ciprone V, 2007). Описан иммуноиндуцированный механизм повреждения, схожий с аутоиммунными процессами при полимиозите (Needham M, Fabian V, Knezevic W, 2007).

Недостаточно остаются изученными механизмы индуцированной гепатотоксичности. Было показано, что статины активируют каспазу, фермент, который является пусковым звеном для процесса апоптоза культивированных гепатоцитов человека (Oh SJ, Dhall R, Young A, Morgan MB, Lu L, 2008), понижают уровни кофермента Q10, индуцируют в печени окислительный стресс (Tavintharan S, Ong CN, Jeyaseelan K, Sivakumar M, Lim SC, Sum CF, 2007). Ряд эпидемиологических исследований показал высокий риск развития периферической невропатии у пациентов, длительно принимающих статины (Backes JM, Howard PA., 2003; Lo YL, Leoh TH, Loh LM, Tan CE., 2003; Gaist D, Jeppesen U, 2002).

Увеличился объем исследований, направленных на оценку риска развития сахарного диабета в результате длительной терапии статинами (Sasaki J, Iwashita M, Kono S., 2006; Navarese E.P., Buffon A., Andreotti F. et al. 2013).

Метаанализ, проведенный Sattar N et al., показал потенциальный риск развития сахарного диабета (Sattar N., Preiss D., Murray H.M., et al. 2010).

Сравнительно недавно FDA внесла в инструкцию к статинам информацию о риске повышения гликозилированного гемоглобина и глюкозы натощак при приеме статинов (Park ZH, Juska A, Dyakov D, Patel RV., 2014).

Относящиеся к гиполипидемическим медикаментозным средствам секвестраты желчных кислот и фибраты также не лишены побочных эффектов: гастроинтестинальные симптомы, нарушение обмена жирорастворимых витаминов. Фибраты абсолютно противопоказана при недостаточной функции почек и печени, желчнокаменной болезни, при беременности и лактации (Kiortsis D. N. et al., 2000; Alexandridis O., Pappas G., Elisaf M., 2000). Наиболее грозным осложнением применения НК является развитие печеночной недостаточности. Ниацин повышает секрецию гистамина и моторику желудка, что может сопровождаться обострением язвенной болезни желудка. Относительными противопоказаниями к назначению НК являются артериальная гипотония, подагра, сахарный диабет 2-го типа (Рекомендации РКО/ ВНОК, 2009).

1.3 Гиполипидемические свойства веществ природного происхождения (чеснок, масло амарантовое, оливковое и льняное и волокна пектина, альгината и хитозана)

Принимая во внимание описанные побочные эффекты, высокий ценовой диапазон статинов, исследователей не оставляет мысль о поиске альтернативных гиполипидемических лекарственных средств.

Стоит заметить, что немало надежд в этом направлении сегодня возлагается на сочетанное применение лекарственных компонентов природного происхождения, каждый из которых корректировал бы отдельную составляющую липидного спектра крови. Это позволило бы снижать дозу статина, достигать оптимального контроля за показателями липидного спектра и предотвращать риск развития побочных эффектов гиполипидемических препаратов.

Так, принципиально важным направлением в диетологии при АС является восстановление утрачиваемого человечеством должного состава и

объема натуральной растительной пищи (Рекомендации РКО/ ВНОК, 2004). Примечательно, что при применении натуральных комплексов проявляется синергизм, позволяющий усилить известные полезные свойства каждого из ингредиентов (Асеева Т.А., Блинова К.Ф., Яковлев Р.П., 1989). Безопасность - ещё одно немаловажное качество, отличающее натуральные компоненты. Ведь антиатеросклеротическая терапия может стать многолетней, а возможно, и пожизненной.

1.3.1. Потенциальные гипополидемические свойства чеснока

В этом контексте многообещающими предстают данные об антиатеросклеротической активности чеснока (*Allium sativum*, семейство Liliaceae). Данный продукт применяется в качестве лекарственного средства уже около 4000 лет. Содержит более 200 активных компонентов. Биологически активные вещества чеснока (*allium Sativum L.*) и их использование в питании человека (В.Е. Рыженков, В.Г. Макаров, 2003).

Наиболее значимыми среди активных компонентов чеснока являются его серосодержащие соединения, в частности органические сульфиды, особенно S-алкил-производные цистеина (Хейнерман Д., 1995).

О лечебных свойствах этого растения писали Гиппократ, Авиценна, Парацельс. Результаты многочисленных клинических исследований подтверждают известные с древности полезные свойства чеснока, в том числе относящиеся к профилактике и лечению АС.

Согласно А. Н. Орехову, полученные в таких работах результаты, можно разделить на 2 группы:

- данные о непрямом антиатеросклеротическом действии чеснока, влияющем на ФР;
- данные о прямом действии чеснока и чесночных препаратов на АС (Орехов А.Н., 1998).

В многочисленных работах на лабораторных животных с экспериментальной гиперлипидемией, вызванной высокохолестериновой диетой, была продемонстрирована способность различных форм чеснока

снижать уровень сывороточного ХС и других липидов. Вероятно, эффект обусловлен подавлением синтеза ХС в печени, путем ингибирования ГМГ-КоА-редуктазы, фермента, вовлечённого в биосинтез ХС (Лякишев А.А., 2002; Gerhardt R., 1993). Так, в низких концентрациях (<0,5мг/мл) экстракты чеснока угнетают активность ГМГ-КоА-редуктазы печени, а при более высоких концентрациях (>0,5мг/ мл) его экстракты угнетают последующие этапы биосинтеза ХС вне печени (Beck H, Wagner G, 1994).

Антигиперхолестеринемическое и антигиперлипидемическое действия чеснока наблюдались в различных опытах на животных (крысы, кролики, куры, свиньи) введении измельченных долек чеснока, его экстрактов (на основе воды, этанола, петролейного эфира или метанола) (Amagase H., Petesch B.L., Matsuura H. et al., 2001; Sobenin L.A., Zalepugin D.Y., Til'kunova N.A., Orekhov A.N. , 2002).

В проведённых на животных экспериментах был продемонстрирован, гипотензивный эффект чеснока и его активных компонентов. Исследования на изолированных сегментах аорты, а также на других образцах гладкой мускулатуры показали, что сок чеснока подавляет ее сокращение (Собенин И.А., Прянишников В.В., Рабинович Е.А., Орехов А.Н., 2005; Собенин И.А., Филатова Л.В., Скалбе Т.А., Орехов А.Н., 2000) .

Известно, что у страдающих сахарным диабетом пациентов АС возникает раньше, чем у недиабетиков и протекает тяжелее. Основой взаимосвязи между диабетом и АС является взаимодействие артериальных клеток с атерогенными модифицированными ЛП, которым принадлежит ключевая роль в инициации атеросклеротического поражения, что приводит, например, к накоплению ХС в артериальных клетках и другим атеросклеротическим проявлениям на клеточном уровне (Sobenin I.A., Tertov V.V., Orekhov A.N., 1994). ЛП у страдающих диабетом гликозилированы. Доказано, что гликозилирование в значительной степени усиливает атерогенность ЛП. Этим объясняются более тяжёлые проявления АС у диабетиков, нежели атерогенные ЛП недиабетиков. На моделях диабета у

животных были выявлены гипогликемические эффекты чеснока и его компонентов, в частности аллилцистеинсульфоксида (Орехов А.Н., Тертов В.В., Собенин И.А. и соавт., 1996).

В более ранних экспериментах показано, что чеснок и ряд его отдельных соединений способны предотвращать образование тромбов и подавлять агрегацию тромбоцитов. Потребление свежей дольки чеснока в день в течение 26-ти недель вызывало снижение выработки тромбоцитами тромбоксана. Его уровень в сыворотке крови по данным снижался на 80 % (Lawson L.D., Ransom D.K., Hughes B.G., 1992; Samson R.R., 1982). Многочисленные исследования подтверждают ингибирующее действие экстрактов чеснока и выделенных из него веществ, например, аллицина и аджоена, на тромбообразование и последующую агрегацию тромбоцитов.

Компоненты чеснока способны подавлять пролиферацию атеросклеротических клеток, а также синтез и накопление коллагена в аорте, что обуславливает прямое влияние чеснока на внутриклеточные липиды, равно как и способность его компонентов подавлять синтез эфиров ХС и ТГ в атеросклеротических клетках аорты (Orekhov A.N., Tertov V.V., 1997). Исследования показали, что чеснок способен снижать содержание свободного ХС и его эфиров в перегруженных липидами артериальных клетках. Так, в первичной культуре гладкомышечных клеток, выделенных из атеросклеротической бляшки аорты человека, водный экстракт чесночного порошка за 24 часа инкубации снижал содержание свободного ХС на 30%, эфиров ХС до 40% и ТГ на 20% (Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A. et al., 1990). У кроликов, формирование и рост неоинтимального утолщения были индуцированы криостатическим повреждением с последующим переходом на гиперхолестериновую диету, применение препаратов чеснока привело к достоверному снижению избыточного роста неоинтимы в сравнении с результатами плацебо (Андрианова И.В., Габбасов З.А., Ионова В.Г., 1997; Андрианова И.В., Ионова В.Г., Демина Е.Г., 2001; Orekhov A.N., Tertov V.V., 1997). Экстракт чесночного порошка значительно снижает

интернализацию эфиров ХС, которые проникают в клетки в составе модифицированных ЛПНП, и тем самым в 4 раза сокращает вызванное модифицированными ЛПНП накопление эфиров ХС внутри клеток (Orekhov A.N., Tertov V.V., 1997).

Снижение атерогенности ЛПНП при применении чесночных препаратов обусловлено также снижением окисляемости ЛПНП. Окисленные ЛПНП – одна из наиболее атерогенных модификаций данных ЛП, в связи с чем, антиоксиданты, снижающие их окисляемость, рассматриваются как антиатерогенные агенты (Egen-Schwind C., Eckard R., Jekat F.W., 1992; Esterbauer H., Wag G. et al., 1993).

Первоначально считалось, что аллицин является основным соединением, ответственным за антиатеросклеротическое действие чеснока. Пероральное введение аллицина крысам в течение двух месяцев вызывало понижение содержания уровня общих липидов, ТГ и ОХС в сыворотке и в печени (Augusti K.T., Mathew P.T., 1974). Более поздние исследования *in vitro* показали, что водорастворимые сераорганические соединения, особенно S-аллилцистеин, содержащийся в состаренном чесночном экстракте, а также диаллил дисульфид, присутствующий в чесночном масле, по аналогии являются потенциальными ингибиторами синтеза ХС (Gerhardt R., 1993). Было доказано, что содержание общих липидов и ХС в плазме у крыс понижалось после инъекции в брюшную полость смеси диаллил дисульфида и диаллил трисульфида (Pushpendran S.K. et al., 1980). Гиполипидемический эффект чеснока может быть опосредован и участием других его составляющих, таких как никотиновая кислота и аденозин, также угнетающих активность ГМГ-КоА-редуктазы и биосинтез ХС (Platt D., Brosche T. et al, 1992).

За последние несколько лет были обнаружены вазоактивные свойства полисульфидных соединений чеснока. Диаллил дисульфид (DADS) — вызывал расслабление кольцевых сегментов аорты крысы. Полисульфидные соединения чеснока не только являются предшественниками сероводорода

(H₂S), но и способны самостоятельно вызывать изменения конформации молекул белков в клеточных мембранах (Lowicka E., Beltowski J., 2007). Как показали многочисленные исследования, одной из систем, где сероводород играет ключевую роль как сигнальная молекула, является сердечно-сосудистая система, в частности — кровеносные сосуды. Осуществляя свое регуляторное действие в сосудах артериального русла, сероводород принимает активное участие в регуляции артериального давления (Jang G., Wu L., Liang W., Wang R., 2005; Wang R., 2002; Warenycia M.W., Steele J.A. et al., 1989). Перспективной молекулой-донором сероводорода является также получаемый из чеснока S-аллилцистеин, который обладает выраженным кардиопротекторным действием. Однако, остается нерешенным вопрос - является ли он предшественником сероводорода или модулирует функцию ферментов, связанных с синтезом последнего (Wei G., Ze-yu C., Yi-zhun Z., 2013).

Известно, что гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, повышение уровня которой является достоверным маркером развития ССЗ. (Kazemi M.B. et al., 2006; Kothekar M.A., 2007). Тиолактон гомоцистеина является высоко-реактивным радикалом, обладающим способностью насыщать частицы ЛПНП тиолом, что характерно при гипогомоцистеинемии. Насыщенные тиолом ЛПНП частицы склонны к агрегации; а будучи впоследствии поглощенными макрофагами, повышают вероятность развития окислительного стресса и атерогенеза (Seshadri S., Beiser A., Wilson P.W., Wolf P.A., 2002).

Yu-Yan Yeh и Shaw-Mei Yeh (2006) показали гипогомоцистеинемическое действие чеснока. Согласно данной работе, добавление в диету животных экстракта старого чеснока снижает повышенные уровни гомоцистеина, вызванные дефицитом фолиевой кислоты (Yeh Yu-Yan, Yeh Shaw-Mei, 2006) Авторы утверждают, что снижение гомоцистеина происходит за счёт нарушения деметилирования гомоцистеина в метионин и повышения транссульфирования гомоцистеина в цистатионин.

В другом исследовании показано, что сочетанный приём экстракта старого чеснока с витаминами B12, фолиевой кислотой и аргинином снижал повышенные уровни гомоцистеина (Budoff M.J., Ahmadi N., Gul K.M., Liu S.T., Flores F.R., et al. 2009). Комбинация снижения маркеров окислительного стресса вместе с улучшением сосудистой функции давала явное антиатеросклеротическое действие.

Вышеизложенные факты – это многообещающая основа для разработки прямой антиатеросклеротической терапии на основе чеснока. Учитывая преимущества чеснока в виде широты спектра его антиатеросклеротического действия, безопасность, можно предположить, что терапия на его основе найдет самое широкое применение в профилактике и лечении ССЗ.

1.3.2. Потенциальные гиполипидемические свойства растительных масел с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот (НЖК)

Физиологическая ценность некоторых растительных масел объясняется наличием в них эссенциальных жирных кислот, сквалена, фосфолипидов, стероидов, витаминов и др. (Рыженков В.Е., 2002). Особый интерес представляют масла, содержащие незаменимые жирные кислоты, которые не синтезируются в организме человека: линолевая (С 18:2; n-6), альфа-линоленовая (С 18:3; n-3) и гамма-линоленовая (С 18:3; n-6) (Бондаренко Е.Ю., 2007).

Оливковое масло - *Olea europaea*, семейство *Oleaceae*.

Отмечено, что адепты "средиземноморской диеты" отличаются более низкой заболеваемостью сердечно-сосудистой патологией (Assmann G., Cullen P., Schulte H., 2002). Объектом изучения этого феномена стала основа этой диеты - оливковое масло. Состав оливкового масла довольно сложный. Данный продукт почти на 72 % состоит из мононенасыщенной олеиновой кислоты (Newmark H.L., 1997; Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E. et al., 2000; Waterman E., Lockwood B., 2007)

Общее содержание фенолов находится в диапазоне 196-500 мг/кг (Perona J.S., Cabello-Moruno R., Ruiz-Gutierrez V., 2006; Romero C., Medina E., Vargas J. et al., 2007).

Основными фармакологическими компонентами масла являются мононенасыщенная олеиновая кислота, фенолы, и сквален. (Halvorsen B.L., Holte K., Myhrstad M.C., et al. 2002; Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E. et al., 2000, Rao C.V., Newmark H.L., Reddy B.S., 1998) В борьбе с АС фенольные соединения оливкового масла представляют наибольший интерес. (Visioli F., Poli A., Gall C., 2002; Wang T., Hicks K.B., Moreau R., 2002). Группа данных соединений обладает способностью стабилизировать свободные радикалы посредством образования внутримолекулярных водородных связей. Выделяют три основных представителя фенолов в оливковом масле: гидрокситирозол, олеуропеин (катехины) и тирозоль (моно-фенол). В рамках исследований *in vitro* было доказано, что гидрокситирозол и олеуропеин способны ингибировать производство изопростанов, маркеров окисления ЛПНП (Salami M., Galli C., De Angelis L., Visioli F., 1995; Visioli F., Poli A., Gall C., 2002).

Гидрокситирозол и олеуропеин связывают свободные радикалы (Fabiani R, De Bartolomeo A., Rosignoli P., et al., 2002), что также препятствует окислению ЛПНП. Доказано, что данные катехины удаляют различные эндогенные и экзогенные формы свободных радикалов и окислителей, в том числе, порожденных перекисью водорода (Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E. et al. 2000; Visioli F., Poli A., Gall C. 2002). Гидрокситирозол также оказывает влияние на целый ряд ферментов, в том числе циклооксигеназу и НАДФ-Н-оксидазу (Visioli F., Poli A., Gall C., 2002) и снижает агрегацию тромбоцитов (Cunnane S.C., Ganguli S., Menard C., Liede A.C., et al., 1993).

Было показано, что фенолы и олеиновая кислота могут способствовать улучшению функции эндотелия сосудов за счет снижения активных форм кислорода (Alonso A., Ruiz-Gutierrez V., Martinez-Gonzalez M.A., 2006;

Henryk T., Ewa G., Malgorzala B., Przemyslaw L., 2005; Perona J.S., Cabello-Moruno R., Ruiz-Gutierrez V., 2006). В дополнении к этому показана способность оливкового масла изменять сосудистый тонус и фосфолипидную составляющую стенки аорты и других сосудов (Ferrara L.A., Raimondi A.S., d'Episcopo L., et al., 2000; Kotti T.J., Ramirez D.M., Pfeiffer B.E. et al., 2006).

Таким образом, изучение гипополипидемических возможностей оливкового масла, как отдельно так и совместно с другими натуральными липидокорректирующими средствами представляется достаточно актуальным.

Льняное масло (*oleum lini*, семейство *Linaceae*)

Уникальность льняного масла заключается в относительно высоком содержании α -линоленовой кислоты (АЛК) (Johnston I.M., Johnston J.R., 1990). В состав масла также входят олеиновая (15-20%), пальмитиновая, линолевая кислота (ЛК) и стеариновая. (Carter J., 1993; Connor W.E., 2000).

Полиненасыщенные незаменимые жирные кислоты (ПНЖК), АЛК и линолевая (ЛК) входят в состав практически всех клеточных мембран. АЛК— предшественник эйкозанпентаеновой (ЭПЕ) и докозангексаеновой (ДГЕ) кислот (ЭПЕ участвует в регенерации сосудистой стенки, ДГЕ — в росте и развитии мозга) (Simproulos A.P., 1993). Линолевая кислота метаболирует в организме в арахидоновую. Основными функциями ПНЖК являются их участие в формировании фосфолипидов клеточных мембран и синтез эйкозаноидов (тканевых гормонов): простаглицлинов (ПЦ), простаглицлинов (ПГ), лейкотриенов (ЛТ) и тромбоксанов (ТК). Эти вещества играют активную роль в регуляции функций всего организма, особенно сердечно-сосудистой системы. Полиненасыщенные жирные кислоты, особенно класса омега-3: ограничивают всасывание холестерина в тонком кишечнике, стимулируют в печени синтез желчных кислот, тормозят синтез и секрецию ЛПОНП в гепатоцитах, повышают уровень ЛПВП (Ершов А.А., 2007; Мартынов А.И., Чельцов В.В., 2007). Баланс двух типов ПНЖК (АЛК и ЛК) важен для гомеостаза и нормального развития человеческого организма.

На сегодняшний день во многих диетах стран Запада соотношение ЛК: АЛК составляет приблизительно (20–30):1 вместо требуемого (1–2):1. Исследования показывают, что высокое содержание ЛК в диете человека способствует увеличению вязкости крови, вызывает спазмы и сужение сосудов, тогда как АЛК обладает сосудорасширяющими свойствами и оказывает антистрессовое и антиаритмическое действия (Horrobin D. F., 1992). Таким образом, введение льняного семени или льняного масла в диету приближает соотношение ЛК: АЛК к жизненно необходимому. АЛК конкурирует с линолевой кислотой или прямым образом взаимодействует с ионными каналами и ядерными рецепторами клетки, оказывая различные биологические функции в организме (Assmann G., Cullen P., Schulte H., 2002). Было показано, что гипохолестеринемический эффект льняного масла опосредован активацией экспрессии печеночных рецепторов ЛПНП и последующим катаболизмом холестерина и его вывода из организма (Assmann G., Cullen P., Schulte H., 2002).

В другом исследовании, эффект льняного масла был успешно дополнен α -липоевой кислотой (коферментом окислительных энзимов в митохондриях), что приводило к заметному снижению маркеров воспаления ИЛ-6 и СРБ. К тому же ЛК подавляет экспрессию воспалительных цитокинов (IL6, IL1, СРБ и TNF- α) посредством снижения NF- κ B - индуцированной экспрессии гена и / или активации системы PPAR- γ (Титов В.Н., 2001; Assmann G., Cullen P., Schulte H., 2002). Похожим образом, α -липоевая кислота ингибирует NF- κ B-индуцированную экспрессию гена, независимо от своей антиоксидантной функции (Lipid Research Clinics Program, 1984).

Таким образом, в ряде работ продемонстрированы потенциальные антиатерогенные возможности льняного масла.

Амарантовое масло (*Oleum Amaranthus paniculatus*, семейство *A. paniculatus*)

Одной из отличительных особенностей химического состава масла амаранта является высокое содержание ПНЖК семейства омега-3 и омега-6, а именно линолевой и, в меньшей мере, линоленовой кислот. (Покровская Е.В., 2001). Амарант содержит около 77% полиненасыщенных жирных кислот (50% из них составляет линолевая кислота), сквален (2,6,10,15,19,23-гексаметил-тетракоза-2,6,10,14,18,22-гексаен) - до 8 %, фосфолипиды - до 10%, фитостеролы - до 2%, витамин Е в крайне редкой, токотриенольной форме - до 150 мг/100г. (Becker R., 1989).

Гиполипидемические и антиоксидантные свойства масла амаранта были неоднократно изучены в экспериментальных и клинических условиях (Conforti F, Statti G, Loizzo M R, Sacchetti G, Poll F , 2005; Das B , Yeager H , Baruchel H , Freedman M H, Когвп G , 2003; DiMarsio P, Devasagayam T P, Kaiser S , 1990; Halvorsen B L , Holte K, 2002, Henryk T, Ewa G , 2005; Madani K A, 2002; Newmark HL, 1999 ; Rao C V , Newmark H L, 1998).

Было показано, что амарант влияет на абсорбцию ХС и желчных кислот, на содержание ХС в ЛП печени и биосинтез ХС. Так, в одном эксперименте на хомяках 5 % содержание масла амаранта в рационе снижало показатели ОХС и ЛПНП на 15 % и 22 % соответственно по сравнению с контролем. Зерна и масло амаранта снижали ЛПОНП на 21-50 %. В обоих случаях наблюдалось повышение фекальной экскреции отдельных нейтральных стеролов и урсодезоксихолевой кислоты. Масло амаранта увеличивало уровень синтеза ХС, возможно, путем компенсаторных механизмов, одновременно снижая содержание эфиров холестерина в печени необходимых для образования ЛПОНП (Berger A, Gremaud G, Baumgartner M, et al, 2003). В другом эксперименте сравнивались гипохолестеринемические возможности зерен амаранта и его масла. Фекальная экскреция ХС и желчных кислот в группе, получавшей масло, повышалась. В группе, принимавшей цельные зерна отмечалась усиленная экскрецию желчных кислот. (Shin D H, Нео H J, Lee Y J , 2004). В различных исследованиях *in vitro* было показано, что экстракты амаранта проявляют

антиоксидантную активность и могут играть роль природных антиоксидантов (Conforti F, Statti G, Loizzo M R, Sacchetti G, Poll F, 2005).

В отличие от льняного масла, масло амаранта не столь богато на ПНЖК семейства омега-3, т.к. в амарантовом масле ПНЖК почти на 50 % представлены семейством омега-6 в лице линолевой кислоты (Покровская Е.В., 2001). С другой стороны, данное масло является богатейшим источником сквалена (Kelly GS, 1999). Замена ТГ пищи на сквален приводит к уменьшению у крыс абсорбции ХС до 50% (Richter P, Schafer SG, 1982).

К одним из наиболее изученных компонентов масла амаранта относятся фитостеролы (Оганов Р. Г., Масленникова Г. Я., 2003). Абсорбционные свойства этих компонентов масла значительно ниже, чем у ХС, а их способность угнетать абсорбцию ХС можно отнести к их структурному сходству с последним (Berger A, Jones P, 2004). Показано, что фитостеролы обладают антиатерогенными, противовоспалительными, антиоксидантными свойствами (Van Rensburg S J, Daniels WM, van Zyl JM, 2000; Wang T, Hicks K B, Moreau R, 2002). Потребление фитостеролов мышами с недостатком апо-Е уменьшало число тромбоцитов, чувствительность эритроцитов к гемолизу, фибриноген плазмы. Всё это вело к уменьшению формирования атеросклеротических повреждений (Moghadasian MH, McManus BM, Godin DV, Rodrigues B, Fronlich J J, 1999).

Учитывая биологические свойства амарантового масла, представляется крайне перспективным его дальнейшее включение в комплексный препарат, обладающий гиполипидемическим, гипотриглицеридемическим и антисклеротическим действиями.

1.3.3 Потенциальные гиполипидемические свойства пищевых волокон (ПВ)

В последнее время все большее количество исследований подтверждают положительную роль пищевых волокон в профилактике и диетотерапии атеросклероза (Tsai A.C. et al., 1976; Brownlee I.A., Allen A., Pearson J.P. et al., 2005).

В тех странах, где потребление пищевых волокон традиционно высокое, а также среди вегетарианцев, риск развития ИБС в несколько раз ниже, чем в развитых странах с низким потреблением пищевых волокон. Установлена прямая зависимость между низким потреблением пищевых волокон и высоким содержанием таких показателей, как ХС и ТГ в сыворотке крови (Mustad V.A., 2000). В экспериментах на животных обогащение рационов пищевыми волокнами приводило к снижению атерогенности этих рационов даже на фоне высокого содержания жира и ХС (Toeller M., Buyken A.E., Heitkamp G. et al., 1999; Trautwein E.A. et al., 1998; Ylitalo R., Lehtinen S., Wuolijoki E. et al., 2002; Yoshie Y., Suzuki T., Shirai T., Hirano T., 1995).

Главными компонентами пищевых волокон являются полисахариды, образующие как линейные, так и разветвленные цепи. Наибольший интерес представляют некрахмальные полисахариды, которые не гидролизуются амилазами, не абсорбируются в кровь и частично или полностью подвергаются ферментной деградации микрофлорой толстой кишки млекопитающих (Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и соавт., 2005). При прохождении по кишечнику пищевые волокна формируют матрикс фиброзного или аморфного характера по типу «молекулярного сита», физико-химические свойства которого обуславливают водоудерживающую способность, катионообменные и адсорбционные свойства, чувствительность к бактериальной ферментации в толстой кишке (Хотимченко Ю.С., Одинцова М.В., Ковалев В.В., 2001; Рыженков В.Е., Ремизова О.В., Беляков Н.А., 1991).

Способность к набуханию, то есть удержанию и последующему выведению воды из организма, в большей степени выражена у аморфных пищевых волокон. Это свойство пищевых волокон способствует ускоренному кишечному транзиту, увеличению влажности и массы фекалий и снижению напряжения кишечной стенки. В желудке под влиянием пищевых волокон замедляется эвакуация пищи, что создает более длительное чувство

насыщения, ограничивает потребление высокоэнергетизированной пищи и способствует снижению избыточной массы тела (Ардатская М.Д., 2010).

В контексте нашей работы, мы исследовали гипополипидемические свойства трёх природных представителей этого класса: пектина, альгинатов и хитозана.

Пектин

Пектиновые вещества - это группа высокомолекулярных полисахаридов, входящих в состав клеточных стенок высших растений. Максимальное количество пектинов содержится в плодах и корнеплодах. В пищевой промышленности пектины получают из яблочного жмыха, свеклы, корзинок подсолнечника или кожуры цитрусовых (Хотимченко Ю.С., Кропотов А. В., 1998).

Гипохолестеринемическое действие пектина было продемонстрировано неоднократно в экспериментах на крысах и морских свинках, находившихся на жировой диете (Kritchevsky D., Story J.A, 1978; Kritchevsky D., Story J.A. 1993). Было показано, что уменьшение концентрации сывороточного и печеночного ХС у крыс сопровождается повышением активности ГМГ-СoА-редуктазы и холестерин-7 α -гидроксилазы (фермента, регулирующего образование желчных кислот из ХС) в гепатоцитах и увеличением фекальной экскреции желчных кислот. При этом секреция самой желчи, также как и концентрация желчных кислот и ХС в ней остаются на уровне контрольных значений (Garcia-Diez F., Garcia-Mediavilla V. et al., 1996). Показано повышение фекальной экскреции и холестерина при потреблении яблочного и апельсинового пектина (Gonzalez M., Rivas C., Caride B. et al., 1998). Кроме того, учитывая, что полисахариды слабее связывают гидрофильные желчные кислоты, в плазме увеличивается относительное содержание гидрофобных желчных кислот, которые сильнее, чем гидрофильные, ингибируют активность холестерин-7 α -гидроксилазы в печени (Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и др., 2005). У морских свинок, находившихся на атерогенной диете, пектин уменьшал концентрацию аполипротеина В в

плазме и эфиры холестерина в печени, увеличивал количество печеночных рецепторов аполипротеина В/Е и вдвое усиливал распад ЛПНП (Vergara-Jimenez M., Conde K. et al., 1998). Примечательно, что пектины с более высокой степенью этерификации в несколько раз эффективней связывают холевые кислоты по сравнению с низкоэтерифицированными пектинами. Полученные данные подтверждались в экспериментах *in vivo* (Хотимченко М.Ю., 2009; Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В., Хотимченко М.Ю., 2001).

Таким образом, значительное количество экспериментальных данных свидетельствует о благоприятном действии пектинов на липидный обмен.

Альгинаты

Альгиновая кислота и ее соли (альгинаты) встречаются главным образом в морских бурых и красных водорослях (Хотимченко Ю.С., Ковалев В.В., Савченко О.В., Зиганшина О.А., 2001; Okazaki M. et al., 1982). В талломах водорослей они являются первичными компонентами клеточных стенок и внеклеточного матрикса, играя роль "скелета" и обеспечивая прочность и гибкость ткани, необходимые для противодействия водным течениям (Valla S. et al. 1996).

Альгиновая кислота состоит из остатков β -D-маннуроносовой и α -L-гулууроносовой кислот, соединенных (1 \rightarrow 4)-связями. Полимерная нить альгинатов состоит из гомополимерных полиманнуроносовых и полигулууроносовых блоков, между которыми могут находиться чередующиеся остатки обеих кислот (Хотимченко Ю.С., Ковалев В.В., Савченко О.В., 2001).

Альгинаты менее изучены, чем пектины, однако среди прочих фармакологических эффектов, альгиновая кислота и ее соли также обладают гипополипидемическим действием (Yoshie Y., Suzuki T., Shirai T., Hirano T., 1995). Интересные данные были получены при оценке гипохолестеринемического и гипогликемического эффектов альгинатов с различными молекулярными массами (Glücksman, M., 1987). Показано, что для профилактики ожирения, гиперхолестеринемии и диабета необходимо

использовать альгинаты с молекулярной массой в 50 кДа и выше (Kimura Y., Watanabe K., Okuda H., 1996).

Исследования на животных продемонстрировали, что наличие волокон альгината в просвете тонкой кишки снижет усвоение жиров и уровень ХС плазмы при безхолестериновой (Seal C.J., Mathers, J.C., 2001) низкокалорийной (Ito K., Tsuchiya Y., 1972.) и высококалорийной (Suzuki T., Nakai K., Yoshie Y. et al. 1993; Jimenez-Escrig A., Sanchez-Muniz F.J., 2000) диетах. По аналогии с пектинами, эти эффекты связывали с повышенным уровнем желчи и холестерина в экскрементах, что ранее встречалось в ряде работ (Kimura Y., Watanabe K., Okuda H., 1996; Schneeman B.O., Gallaher D., 1985; Seal C.J., Mathers, J.C., 1996). Было отмечено, что гиполипидемический эффект альгинатов превосходит подобный у фукоидана и агара (Ren D., Noda H., Amano H., Nishino T. et al., 1994; Jimenez-Escrig A., Sanchez-Muniz F.J., 2000). В другом исследовании (Kiriya S., Okazaki Y., Yoshida A., 1969; Nishide, E., Anzai, H., and Uchida, N., 1993), сравнивали гиполипидемические возможности альгиновой кислоты и её солей (альгинатов). Согласно работе, альгиновая кислота намного слабее снижала липидные показатели нежели её соли (Jimenez-Escrig A., Sanchez-Muniz F.J., 2000). Гиполипидемическую и гипохолестеринемическую эффективность альгинатов объясняют высоким содержанием блоков глюкуроновой кислоты (G блоков) и высокой склонностью к гелеобразованию, что приводит к снижению кишечной абсорбции ХС (Havler M.E., Atherton M.R., Onsoyen E., 2005). Ранее предполагалось, что чем ниже соотношение М/G в альгинатах (М – это блоки маннуровой кислоты), тем больше альгинаты утилизируют ХС крови (Suzuki T., Nakai K., Yoshie Y. et al., 1993). Однако, данное обстоятельство скорее связано с угнетением аппетита и снижением поступления ХС с пищей.

Клинические наблюдения на добровольцах с избыточной массой тела показали, что препарат "Альгинет", содержащий альгиновую кислоту, достоверно уменьшает массу тела (Yoshie Y., Suzuki T., Shirai T., Hirano T., 1995). Нельзя не отметить клиническое исследование И.Е. Слезка,

предлагавшего использовать натрий - кальциевый альгинат в комплексе с ПНЖК для нормализации липидного обмена у детей с дислипидемиями с целью примордиальной (первичной) профилактики атеросклероза (Слезка И.Е., 1997).

Хитозан

Предшественником хитозана является полисахарид хитин (Shahidi F. et al., 1999). Он синтезируется у животных, главным образом, у ракообразных, моллюсков и насекомых, являясь важным компонентом экзоскелета, и у некоторых грибов в качестве основного фибриллярного полимера клеточной стенки. (Knorr D., 1984).

В панцире ракообразных нити хитина находятся в связанном состоянии с белками, и погружены в матрикс из фосфата и карбоната, кальция (Ashford N.A. et al., 1977). Хитозан как полимер β -(1 \rightarrow 4)-2-ацетамидо-2-дезоксид-Д-глюкопиранозы получают путем щелочного деацетилирования хитина (Kumar M.N.V.R., 2000). Физико-химические свойства и активность хитозана во многом определяются степенью его деацетилирования.

Фармакологическая активность хитозанов изучается с середины прошлого века. Наиболее изученной является способность этих полисахаридов снижать уровень липидов. Изначально в экспериментах на лабораторных животных было установлено, что пероральное введение хитозанов способствует снижению общего ХС крови на 20-30%, ТГ на 10-15 %, ЛПНП и увеличению ЛПВП, что приводит к достоверному уменьшению индекса атерогенности (Razdan A., Pettersson D., 1996).

Экспериментальные данные были успешно подтверждены в ходе клинических наблюдений. При этом установлено, что выраженность гиполипидемического действия прямо пропорциональна молекулярной массе полисахарида. Механизм обнаруженных эффектов, вероятно, связан со снижением экзогенного холестерина в кишечнике, и выведением связанных желчных кислот из организма (Shields K.M. et al., 2003). Кроме этого, хитозан

способен образовывать ионные комплексы с жирами, ХС и ингибировать их абсорбцию и рециркуляцию из кишечника в печень (Ylitalo R., Lehtinen S., Wuolijoki E. et al., 2002; Kumar M.N.V.R., 2000). Отмечено снижение массы тела у больных, принимавших хитозан на 8,7 % в течение 3-х недель (Бычков А.В., Быкова В.М., Кривошеина Л.И., 2003). Установлено, что хитозан связывает от 1,22 до 4,5 г. жира на 1 г. полимера (Нелер Я., Плута Я., Уланьски П., 2003). Получены данные о значимом снижении хитозаном ТГ в крови после насыщенной жирами пищи (Jing S., Yamaguchi T., 1992). Показана способность хитозана снижать уровень ХС, ТГ и глюкозы в крови у новорожденных мышей с индуцированным стрептозотоцином диабетом (Miura T., Usami M., Tsuura Y. et al. 1995). Кроме того, приём хитозана оказывал положительное влияние на кишечный метаболизм желчных кислот у крыс (Fukada Y., Kimura K. and Ayaki Y., 1991). Согласно Qujeq D. и Ataei G., хитозан может привести к замедлению жировой инфильтрации печени, улучшив течение гиперлипидемии (Qujeq D., Ataei G., 2000).

По мнению отечественных ученых многие полисахариды по способности снижать уровень липидов в крови не уступают, а некоторые даже превосходят лекарственные средства с аналогичным механизмом действия. (Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и соавт., 2005; Хотимченко Ю.С., Одинцова М.В., Ковалев В.В., 2001).

Принимая во внимание многообразие элементов атерогенеза, представляется целесообразным изучение сочетанного воздействия лекарственных средств на отдельные патогенетические механизмы АС. Широко используемые гиполипидемические средства из группы статинов обладают достаточным спектром побочных эффектов, что необходимо особенно учитывать при назначении препаратов, применяющихся с целью снижения риска неблагоприятных исходов каких-либо заболеваний в больших группах больных.

Поиск безопасного комплексного средства продиктован не только побочными явлениями известных гиполипидемических лекарственных

средств, но и ослаблением их эффективности на фоне длительного приёма. В связи с этим, профилактическое и лечебное действие поликомпонентных натуральных гиполипидемических средств представляет достаточный интерес как в монотерапии, так и в сочетании с традиционной медикаментозной (базисной) терапией атеросклероза.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

2.1 Объекты исследования. Этапы экспериментов с животными.

Экспериментальные исследования проводились на 328 особях белых беспородных крыс-самцов с исходной массой тела 250-300 г на базе Центрального вивария и лаборатории БАС НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова. (зав. центр. вивария А.В. Лузин, зав. лабораторией к.б.н., доцент Л.А. Павлова).

Животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением всех пунктов «Приказа МЗ РФ № 750», рекомендаций ВОЗ по экспериментальной работе с использованием животных (Г.П.Червонская, Г.П.Панкратова, Л.Л.Миронова, 1998; Р.Е. Копаладзе, 1998) и международных рекомендаций (Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123). — Страсбург, 1986).

До начала эксперимента все животные получали сбалансированный стандартный рацион (гранулированный корм ПК120-3, согласно приказу №1179 МЗ СССР от 10.10.1983). После ранжирования крыс по массе тела были сформированы сопоставимые по этому показателю опытные группы (Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., 2012)

В соответствии с задачами исследования использовались две модели индуцированной гиперлипидемии: витаминная и твиновая.

Для создания витаминной модели животным на протяжении пяти суток перорально через зонд вводили ХС (Panreac®) в дозе 40 мг/кг, и эргокальциферол в дозе 350000 ЕД/кг в подсолнечном масле (Белай И.М., Остапенко А.А., 2011; Yousufzai S.Y.K.M. 1976).

Твиновая модель гиперлипидемии создавалась с помощью однократного введения на пятые сутки детергента – твин-80 в дозе 200 мг/кг, внутрибрюшинно (Васканян В.Л., 1983).

Созданные модели экспериментальной гиперлипидемии у животных использовались для изучения гиполипидемических и

антиоксидантных свойств следующих веществ:

- Порошок чеснока (ПЧ) сублимационной высушки (ООО “КиТ” – г. Бийск), с массовой долей аллицина 2,4 %, аттестат аккредитации № РОСС. RU. 0001.21ПФ21;
- Амарантовое масло (АМ) холодного отжима (“Витэко”), содержание сквалена не менее 8 %, содержание ПНЖК не менее 50 %;
- Льняное масло (ЛМ) (“Славянка Арина”), содержание ПНЖК не менее 55 %, ТУ 9141-001-45437467-99;
- Оливковое масло (ОМ) нерафинированное (“Каждый день”), содержание ПНЖК 8 %, содержание мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) 80 %, содержание НЖК 12 %, продукт соответствует требованиям федерального закона №90-ФЗ;
- Хитозан пищевой (ЗАО “Биопрогресс”, г. Щёлково), ТУ 9289-067-00472124-03;
- Альгинат натрия - 1000 (Е-401, Китай)
- Яблочный пектин АРА-105 высокой степени этерификации для кондитерских изделий (Россия), степень этерификации: < 60 %. Продукт соответствует всем критериям, указанным ЕU, FAO/WHO и FDA/FCC.

Изучение гипополипидемических свойств исследуемых природных веществ состояло из нескольких этапов. На первом этапе оценку липидного профиля крыс производили после отдельного применения вышеуказанных веществ природного происхождения (14 опытных групп, n= 84). Животным с ГЛП в лечебно-профилактическом режиме один раз в сутки перорально вводили один из изучаемых компонентов (300 мг/кг порошка чеснока/ 5 мл/кг масла оливкового/амарантового/ льняного, 300 мг/кг пектина/ альгината / хитозана). Длительность эксперимента составляла 5 дней.

На втором этапе изучался липидный профиль крыс при попарном применении веществ природного происхождения (24 опытные группы (n=144), 4 группы сравнения (n=24)). Изучаемые компоненты вводили крысам с ГЛП попарно в указанных выше дозировках на протяжении 5-ти

дней (таб.4).

В задачи третьего этапа входило определение гипополидемических свойств полученного нами поликомпонентного препарата на основе чеснока/амаранта/хитозана (300 мг/кг/ 5 мл/кг/ 300 мг/кг), (2 опытные группы (n=12), 6 групп сравнения (n=36)).

В качестве препаратов сравнения на втором и третьем этапах применялись порошок чеснока (биологически активная добавка к пище "АЛИСАТ", товарный знак "FATE CONTROL" ТУ 9164-001-51067075-07) в дозе 8,33 мг на крысу, желатиновые капсулы ПНЖК (биологически активная добавка к пище 'Омегатрин' ,ТУ 9197-062-75234508-07) в дозе 16,4 мг на крысу и препарат статинового ряда - Флувастатин в дозе 0,5 мг на крысу на третьем этапе. Эквивалентные дозы для животных рассчитывались по формуле, предложенной Т.А. Гуськовой (Гуськова Т.А., 2010).

Группа контроля была представлена двенадцатью мышами с индуцированной гиперлипидемией (витаминная модель (n=6), твиновая (n=6)).

Интактную группу составили 6 здоровых крыс, находящихся в стандартных условиях вивария (животным вводили воду и комбикорм).

Антиоксидантное действие полученного поликомпонентного препарата изучалось на двух опытных группах (n=12), в качестве группы сравнения использовались двенадцать мышей, получавших препарат Пробукол (1,2 мг на крысу). На данном этапе сравнивали показатели с интактной (n=6) и контрольными группами (n=12).

Определение острой токсичности полученного нами поликомпонентного препарата проводилось на пятнадцати крысах, которым однократно в различных дозировках вводили компоненты изучаемого препарата, группа контроля была представлена пятью мышами. Наблюдение длилось 14 дней, в течение которых оценивались витальные и поведенческие показатели и сравнивались с пятью интактными крысами (Р.У. Хабриев, 2005).

Выбор оптимальной терапевтической разовой дозы чеснока, масел и

изучаемых волокон основывался на дозировках, используемых в ряде аналогичных экспериментальных работ (Hassan H.A. 2012; Orekhov A.N., Tertov V.V., Sobenin I.A., Pivovarova E.M., 1995; Коренская И.М., Сулин В.Ю., Сафонова Е.Ф., Постыка А.Н, 2006; Richard C. Kraska, 2012). Основные этапы проведенного исследования представлены в таб. 1

Таблица 1

Основные этапы эксперимента с животными

Первый этап Методика 1/ Методика 2			Второй этап Методика 1/ Методика 2			Третий этап Методика 1/ Методика 2		
(N) Группа	Доза	Кол-во особей n1/n2	(N) Группа	Доза	Кол-во особей n1/n2	(N) Группа	Доза	Кол-во особей n1/n2
(1) Интактная	-	6/-	(1) Чесно/ амарантовое масло	300мг /5мл	6/6	(1) Чеснок/ ам. масло/ хитозан	300 мг / 5 мл / 300 мг	6/6
(2) Контроль	-	6/6	(2) Чеснок/ оливковое масло	300мг /5мл	6/6	Антиок. свойс. Чеснок/ ам. масло/ хитозан	300 мг / 5 мл / 300 мг	18/12
(3) Препарат сравнения Алисат®	300 мг	6/6	(3) Чеснок / льняное масло	300мг /5мл	6/6	LD50 Чеснок/ ам. масло/ хитозан	1500 4900 7500 мг/кг	20
(4) Чеснок	300 мг	6/6	(4) Пектин / амарантовое масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-
(5) Хитозан	300 мг	6/6	(5) Пектин / оливковое масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-
(6) Пектины	300 мг	6/6	(6) Пектин / льняное масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-
(7) Альгинаты	300 мг	6/6	(7) Альгинаты/ амарантовое масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-
(8) Оливковое масло	5 мл	6/6	(8) Альгинаты/ оливковое масло	300мг /1мл	6/6	-	-	-
(9) Льняное масло	5 мл	6/6	(9) Альгинаты/ льняное масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-
(10) Амаранто- вое масло	5 мл	6/6	(10) Хитозан/ амарантовое масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-
-	-	-	(11) Хито- зан/ оливковое масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-

-	-	-	(12)Хитозан/ льняное масло	300мг /5мл	6/6	-	-	-
---	---	---	----------------------------------	---------------	-----	---	---	---

Примечания: Методика1 – витаминная модель ГЛП, методика2 – твиновая модель ГЛП, n1 – количество животных в группе при витаминной модели ГЛП, n2 – количество животных в группе при твиновой модели ГЛП.

На шестые сутки животных обеих моделей ГЛП на первом, втором и третьем этапах выводили из эксперимента под эфирным наркозом. Осуществлялся забор крови из подвздошной артерии, материал замораживался до дня проведения биохимического анализа (Копаладзе Р.Е., 1998). Исследовались следующие показатели липидного профиля: ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП, КА. Для оценки антиоксидантных свойств поликомпонентного препарата измеряли уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме.

2.2. Экспериментальные методы изучения биохимических показателей крови животных:

Изучение биохимических показателей липидного спектра крови, а также продуктов перекисного окисления липидов сыворотки проводилось в Лаборатории иммунологии и регуляторных механизмов в хирургии ГУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского РАМН, руководитель д.м.н., проф. Л.И. Винницкий.

2.2.1. Определение общего холестерина:

Показатели липидного обмена - общий холестерин (ОХС), холестерин липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), триглицериды (ТГ) оценивались ферментативным методом спектрофотометрически (спектрофотометр/ UV-1902) (Allain C.C., Poon L.S., Chan C.S.G., et al., 1974; Meattini F., Prencipe L., Bardelli F. et al., 1978).

Кровь экспериментальных животных собирали самотёком в пробирки эппиндорфа с добавлением раствора гепарина (в качестве антикоагулянта) из расчёта 25 ед./мл и центрифугировали при 3000 об/мин (центрифуга лабораторная Sigma 1-14, Германия) в течение 15-ти мин. для получения плазмы. (Вечканов Е.М., Сорокина И.А., Алилуев И.А., Парибек И.М.,

Лукаш А.И., 2012).

Таблица 2

Подготовка проб для определения ОХС

	Холостая проба	Стандарт	Образец
Стандарт Холестерина (S)	-	10 мкл	-
Образец	-	-	10 мкл
Реагент (A)	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл

Всё тщательно перемешивали и инкубировали 10 минут при комнатной температуре (16-25° C), или 5 минут при 37° C, затем измеряли абсорбцию (A) в кювете с толщиной слоя 1 см для Стандарта и Образца при 500 нм в сравнении с Холостой пробой. Окраска раствора оставалась стабильной не менее 2 часов. Концентрацию ХС в образце рассчитывали по следующей формуле:

$$C \text{ образца} = C \text{ стандарта} \times A \text{ образца} / A \text{ стандарта}$$

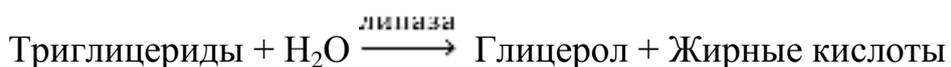
При этом: (C стандарта = 200 мг/дл или 5,17 ммоль/л)

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,0258 = ммоль/л

Чувствительность метода составляла: 1,75 мА x дл/мг = 67,6 мА x л/ммоль.

2.2.2. Определение триглицеридов:

Триглицериды, подобно ОХС, в результате сопряженных реакций, описанных ниже образуют цветной комплекс, который может быть измерен спектрофотометрически (Bucolo G., David H., 1973; Fossati P., Prencipe L., 1982).



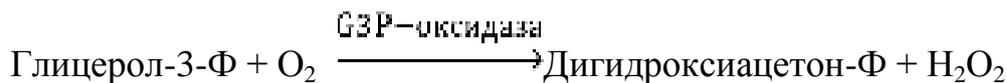
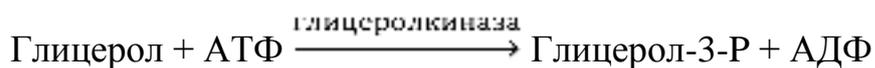


Таблица 3

Состав реагентов, используемых для определения ТГ

Реагенты	PIPES буфер – рН 7,0. хлорид магния 4-хлорфенол липаза глицеролкиназа глицерол-3- фосфатоксидаза пероксидаза 4-Аминоантипирин АТР	45 ммоль/л 5 ммоль/л 6 ммоль/л >100 Ед/мл > 1.5 Ед/мл > 4 Ед/мл > 0,8 Ед/мл 0,75 ммоль/л 0,9 ммоль/л
Стандарт Триглицериды	Глицерол эквивалентный (Первичный водный стандарт)	200 мг/дл (2.26 ммоль/л) триолеина

Концентрация ТГ в образце была вычислена по следующей формуле:

$$C \text{ образца} = C \text{ стандарта} \times A \text{ образца} / A \text{ стандарта}$$

При этом:

$$(C \text{ стандарта} = 200 \text{ мг/дл} (2.26 \text{ ммоль/л}))$$

$$\text{Коэффициент пересчета: мг/дл} \times 0,0113 = \text{ммоль/л}$$

Диапазон измерения: От определяемого уровня в 0,008 ммоль/л (0,7 мг/дл) до предела линейности 11,30 ммоль/л (1000 мг/дл). В случае, когда полученный результат превышал предел линейности, пробу разводили при помощи 9 г/л NaCl в соотношении 1:2, результат умножали на 2. Чувствительность метода составляла 1.2 мА х дл/мг = 112 мА х л/ммоль.

2.2.3. Определение ХС ЛПВП:

Концентрацию ХС ЛПВП также определяли спектрофотометрически ферментативным методом с участием сопряженных реакций, описанных ниже (Burstein M., Scholnick H.R., Morfin R. 1980; Grove T.H., 1979).

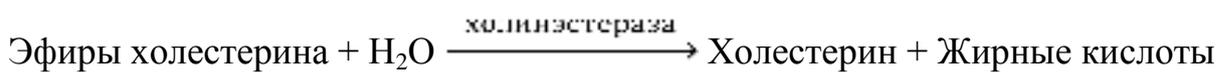


Таблица 4

Состав реагентов, используемых для определения ЛПВП

Реагенты	Фосфовольфрамат хлорид магния	0,4 ммоль/л 20 ммоль/л
Стандарт ХС ЛПВП	ХС ЛПВП (Первичный водный стандарт)	15 мг/дл

Вместе с наборами для определения ХС, в работе применялись дополнительные реагенты для осаждения ХС ЛПВП производства *BioSystems* (коды 11805, 11505, 11506, 11539).

Были применены :

- Настольная центрифуга ЕВА 20 (Hettich, Германия).
- Водяная термобаня (DAIHAN/ WHB-11, ООО "ЛабТулс", Россия) на 37°C.
- Спектрофотометр (UV-1902, спектральный диапазон 190 нм - 1100 нм, Китай)

Содержимое пробирок тщательно перемешивали и оставляли стоять 10 минут при комнатной температуре, затем центрифугировали минимум при 4000 об/мин. в течение 10 минут, после этого, осторожно собирали супернатант. Реагент Холестерина (наборы для определения Холестерина *BioSystems*) нагревали до комнатной температуры и разливали в подписанные пробирки эпиндорфа (2мл, градуированные, бесцветные, Safe-lock, 1000 шт/уп, Германия).

Таблица 5

Подготовка проб для определения ЛПВП

	Холостая проба	Стандарт	Образец
Дистиллированная вода	100 мкл	-	-

Стандарт ХС ЛПВП (S)	-	100 мкл	-
Супернатант образца	-	-	100 мкл
Реагент (А) Холестерина (код 11805, 11505, 11506, 11539).	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл

На следующем этапе, содержимое пробирок также тщательно перемешивали и инкубировали 15 минут при комнатной температуре (16 – 25°C), или 5 минут при 37° С, затем измеряли абсорбцию (А) в кювете с толщиной слоя 1 см для Стандарта и Образца при 500нм в сравнении с холостой пробой (Бланком). Окраска раствора оставалась стабильной не менее 30ти минут. Расчёт велся при помощи следующей формулы:

$$C \text{ образца(супернатанта)} = \Phi\text{-р разведения образца} \times C(\text{станд.}) \times A(\text{обр.})/A \text{ ст.}$$

Учитывая, что в качестве калибратора был использован стандарт ХС ЛПВП, то применялся следующий метод расчета:

$$C \text{ образца (супернатанта)} = 52,5 \text{ мг/дл ХС ЛПВП} \times A \text{ образца} / A \text{ стандарта}$$

Или:

$$C \text{ образца (супернатанта)} = 1,36 \text{ ммоль/л ХС ЛПВП} \times A \text{ образца} / A \text{ стандарта}$$

Предел обнаружения: 0,3 мг/дл = 0,008 ммоль/л.

Предел линейности: 150 мг/дл = 3,9 ммоль/л.

Чувствительность: 1,75 мА▪ дл/мг = 67,6 мА▪ л/ммоль.

2.2.4. Вычисление ХС ЛПНП:

Концентрация холестерина липопротеинов низкой плотности вычислялась из общей концентрации холестерина, холестерина ЛПВП и концентрации триглицеридов (ТГ) по формуле Friedewald (Friedewald, W.T., 1972):

$$ХС \text{ (ЛПНП)} = ОХ - ХС \text{ (ЛПВП)} - ТГ/5 \text{ [мг/дл.]}$$

Или:

$$ХС \text{ (ЛПНП)} = ОХ - ХС \text{ (ЛПВП)} - ТГ/ 2.2 \text{ [ммоль/л]}$$

2.2.5. Вычисление коэффициента атерогенности (КА):

Коэффициент атерогенности был рассчитан по следующей формуле:

$$\text{КА} = (\text{общий ХС} - \text{ЛПВП})/\text{ЛПВП}$$

2.3. Определение токсичности поликомпонентного природного средства (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан):

Определение острой токсичности, как одного из показателей доклинического изучения нового комплексного средства, разрабатываемого из природного сырья, проводилось на двадцати белых беспородных крысах-самцах массой 250-300г. (Басченко Н.Ж., 2006)

Животные были разделены на 4 группы (3 опытные и 1 контрольная), по 5 особей в каждой. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Рацион крыс состоял из стандартного гранулированного корма, который они получали 1 раз в сутки. За 24 часа до эксперимента кормление животных, находившихся на свободном водном режиме, прекращали. Крысам контрольной группы вводили физиологический раствор через зонд.

1. Крысам из трех опытных групп однократно вводили через зонд сочетание порошка чеснока/ амарантового масла/ хитозана в общих дозах 1500 либо 4900 либо 7500 мг/кг, в пересчете на сухой вес компонентов. Дозы были определены в соответствии с данными J. Asiedu-Gyekye Isaac et al., (2014), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, (2010) и результатами Levitskaia T.G., Thrall K.D., (2009)

Наблюдение длилось две недели, оценивались: двигательная активность, наличие судорог, окраска видимых слизистых оболочек, состояние шерсти, потребление воды и пищи, моче- и калоотделение, масса тела и гибель животных.

2.4. Оценка антиоксидантной активности гипополипидемического средства (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан):

Антиоксидантные свойства гипополипидемического средства оценивали

по степени ингибирования образования продуктов ПОЛ: диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА); антиокислительную активность (АОА) - по активности каталазы. Содержание продуктов ДК, МДА и фермента каталазы определяли спектрофотометрически в плазме крови животных (n=42), поделенных на семь групп: интактная (n=6), две контрольные (n=12), две опытные (n=12) и две группы сравнения (n=12).

2.4.1. Определение диеновых конъюгатов (ДК):

Содержание ДК в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом (Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И., 1983). Принцип метода основывается на установлении содержания первичных продуктов ПОЛ в крови по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра, так как молекулы с двумя сопряженными связями (диеновые конъюгаты) обладают максимумом поглощения при 233 нм.

В ходе нашего исследования к 0,2 мл плазмы животных добавляли 4 мл. смеси гептан:изопропанол=1:1 и встряхивали 10-15 мин. (лабораторный шейкер S-3 Elmi, Латвия). Далее, в пробирку добавляли 1 мл. раствора HCl (рН 2 = 0,1н HCl с рН 1,1 разводённого водой 1:4) и 2 мл. гептана, интенсивно встряхивали и после отстаивания и расслоения смеси на фазы (по прошествии 20-25 мин.), отбирали верхний, гептановый слой, который использовали для определения в нем ацилгидроперекисей по степени светопоглощения (A₂₃₃) при длине волны λ=233 нм. В качестве контрольной пробы был использован образец, содержащий вместо плазмы 0,2мл. воды, подвергнутый всем вышеперечисленным видам обработки. Расчет содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов (ДК) производили в относительных единицах по формуле:

$$A_{233} \text{ на } 1 \text{ мл плазмы (ед. ОП/мл)} = A_{233} \cdot V_{\text{э}} / V_{\text{пл}} = (A_{233} \cdot 4) / 0.2$$

Таким образом,

$$A_{233} \text{ на } 1 \text{ мл плазмы (ед. ОП/мл)} = A_{233} \cdot 206, \text{ где}$$

A₂₃₃ - значение оптической плотности опытной пробы при λ - 233 нм,

$V_{\text{э}} = 4$ мл. - конечный объем гептанового экстракта,

$U_{\text{пл}} = 0,2$ мл. - объем взятой плазмы крови.

Примечание: ед. ОП – единица оптической плотности.

Первичные продукты ПОЛ (гидроперекиси липидов) нестойкие и довольно быстро разрушаются с образованием вторичных продуктов ПОЛ: альдегидов, кетонов, спиртов, эпоксидов. Среди них наиболее известен малоновый диальдегид (МДА), составляющий основной компонент группы т.н. тиобарбитуратов (ТБК).

2.4.2. Определение малонового диальдегида (МДА):

Концентрацию МДА определяли спектрофотометрически по методу Р.А.Темирбулатова и Е.И.Селезнева (Темирбулатов Р.А., Селезнев Е.И.,1981). Тест был основан на образовании окрашенного комплекса при взаимодействии МДА с тиобарбитуровой кислотой (ТБК).

Для исследования отбирали 0,1 мл эритроцитов крови животных, трижды отмытых охлажденным изотоническим раствором натрия хлора (NaCl) (отмытые эритроциты получают из цельной крови центрифугированием и удалением плазмы с последующим отмыванием эритроцитов изотоническим раствором), и гемолизировали внесением в пробирку 2,0 мл дистиллированной воды. К полученному гемолизату добавляли 1,0 мл 17 % раствора трихлоруксусной кислоты и 1,0 мл 0,8 % раствора ТБК. Пробу прогревали в кипящей водяной бане (Memmert WNB, Германия) в течение 10-ти мин, затем удаляли осадок белка центрифугированием в течение 10-ти мин при 3000 об/мин (центрифуга лабораторная Sigma 1-14, Германия).

После этого, интенсивность окраски измеряли при длине волны $\lambda = 540$ нм на спектрофотометре (Спектрофотометр UV-1902, Китай) в кювете с толщиной слоя 1 см для проведения расчетов использовали формулу:

$$C \text{ (мкмоль/л)} = A_{\text{оп}} \cdot 10^6 \cdot 4 \text{ (мл)} / \varepsilon \cdot 0,1 \text{ (мл)}, \text{ где}$$

4 мл – объем водной фазы, 0,1 мл – объем эритроцитарной массы, 10^6 – коэффициент перевода «моль/л» в «мкмоль/л», ε – коэффициент молярной экстинкции = $1,56 \cdot 10^5$

$$C \text{ (мкмоль/мл)} = A_{\text{оп}} \cdot 10^3 \cdot 4 \text{ (мл)} / \varepsilon \cdot 0,1 \text{ (мл)}, \text{ где}$$

4 мл – объем водной фазы, 0,1 мл – объем эритроцитарной массы, 10^3 – коэффициент перевода «моль/мл» в «мкмоль/мл», ε – коэффициент молярной экстинкции = $1,56 \cdot 10^5$

2.4.3. Определение активности каталазы:

Принцип данного метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс (Королюк М.А., Иванова Л.И., 1988). Реакцию запускали добавлением 0,1 мл сыворотки крови животных к 2 мл 0,03% раствора H_2O_2 . В холостую пробу вместо сыворотки вносили 0,1 мл дистиллированной воды. Через 10 мин реакцию останавливали добавлением 1 мл 4% молибдата аммония. Интенсивность развившейся окраски измеряли на спектрофотометре (Спектрофотометр UV-1902, Китай) при длине волны 410 нм против контрольной пробы, в которую вместо перекиси вносили 2 мл воды. Активность каталазы сыворотки рассчитывали по формуле:

$$E = (A_{\text{хол}} - A_{\text{оп}}) \cdot V \cdot t \cdot K \text{ (мКат/л)}, \text{ где}$$

E – активность каталазы в (мкат/л),

$A_{\text{хол}}$ и $A_{\text{оп}}$ – экстинкция холостой и опытной проб,

V – объём вносимой пробы, t – время инкубации 600с, и

K - коэффициент миллимолярной экстинкции перекиси водорода, равный $22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

2.5. Определение эмульгирующей способности чеснока:

Наряду с исследованием гиполипидемических свойств была проведена оценка эмульгирующей способности чеснока. Данная часть работы

осуществлялась на базе лаборатории БАС НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (зав. лабораторией к.б.н., доцент Л.А. Павлова).

Эмульгирующая способность чеснока в трёх различных маслах (оливковое, амарантовое и льняное) была изучена при помощи двух методов:

- оценка дисперсности эмульсии
- метод количественного определения содержания жира в эмульсии

(Мансурханова И.М., 1967).

В эмульсиях для перорального применения внутренняя (дисперсная фаза) состоит из масла, внешняя (дисперсионная) - из воды. В качестве эмульгатора был использован порошок чеснока в количестве 3 г на 10 г масла. С целью определения дисперсности 1мл эмульсии был разведен водой в мерной колбе до 250 мл, отобрано несколько капель в камеру Горяева (ООО "Лабкомплект"), и под микроскопом (Альтами БИО-8 бинокулярный) подсчитывалось количество капель жира в 1 мм³ эмульсии, пользуясь формулой подсчёта эритроцитов. Таким образом, расчет количества жирных капель в 1мкл (1мм³) эмульсии производился исходя из разведения 200, числа сосчитанных квадратов 80 и объема 1 малого квадрата (1/4000 мкл) по следующей формуле:

$$X = (a \times 4000 \times 200) / 80,$$

где X — число капель жира в 1мкл эмульсии, а — число сосчитанных капель.

В результате сокращения:

$$X = a \times 10000$$

Согласно расчетам, в 1 мм³ эмульсии должно получиться не менее 10 млн. жирных капель (Мансурханова И.М., 1967).

Для количественного определения жировой составляющей эмульсии в цилиндр на 100 мл с притёртой пробкой отвешивали 10 г эмульсии, пипеткой вносили 75 мл этилового эфира, затем интенсивно взбалтывали в течение двух минут. После добавления 5 мл 25% соляной кислоты снова

взбалтывали в течение 2 - 3 мин. до полного исчезновения эмульсии в водном слое, оставляли на 2 минуты до просветления эфирно-жирового раствора, пипеткой отбирали 50 мл полученного раствора в колбу, предварительно высушенную до постоянного веса. Эфир отгоняли на водяной бане, остаток в колбе сушили до постоянного веса и рассчитывали процентное содержание масла по следующей формуле:

$$X = (a - б) \text{ г} \times 100 / в \times д ;$$

где: X – процентное содержание жира в эмульсии, а – вес колбы с жиром, б – вес пустой колбы, в – навеска взятой эмульсии, г – количество взятого эфира, д – количество взятого эфирно – жирового раствора.

Подставив значения, получено:

$$X = (a - б) \times 75 \times 100 / 10 \times 50$$

или сокращённо:

$$X = 15 (a - б)$$

Согласно методике, в эмульсии должно быть не менее 95% жира от указанного количества взятого масла (Мансурханова И.М., 1967).

2.6. Определение сорбционной способности пищевых волокон:

С целью выявления сорбционной способности пищевых волокон (яблочный пектин, альгинат натрия и хитозан) был применен метод, предложенный J. Waldstein. (Waldstein J. et al., 2000), в дополнении Е.Э. Куприной и соавт. (Куприна Е.Э., Осипова Е.В., Бачище Е.В., 2004).

Метод включал следующие этапы:

- создание условий, имитирующих переваривание пищи в желудке *in vivo*; с этой целью, к навеске жиропоглотителя был добавлен раствор соляной кислоты (0,25M), взятый в том количестве, которое обеспечивало рН 2 - 4 (с учётом кислотно-основных свойств исследуемых энтеросорбентов).
- к смеси соляной кислоты и сорбента был добавлен исследуемый липид (триглицерид на примере пальмового масла и жирную кислоту на примере стеариновой) в соотношении 2:1. Полученная смесь

инкубирована при температуре 37°C (Shaker Incubator/KWF Sci-tech Developement Co., Ltd., Китай) при постоянном перемешивании с частотой 32 об/ мин. в течение 2 ч.

- создание условий, имитирующих переваривание пищи в кишечнике *in vivo*. Для этого проводилась нейтрализация кислоты фосфатным буфером до значений pH 6,5-7,0 (pH метр “Metrohm”-827 lab, Швейцария).
- полученную смесь инкубировали при температуре 37 °С при постоянном перемешивании с частотой 200 об./ мин в течение 3 ч.
- суспензию центрифугировали (центрифуга Neofuge 13, Китай) при 6000 об./ мин. в течение 40 мин.
- Супернатант сливали, а осадок высушивали до постоянного веса при 50°C в течение суток и взвешивали.

Расчёт липидосвязывающей способности вели по следующей формуле:

$$EL = (m_1 - m_0) / m_0, \text{ где:}$$

EL, г/г – величина липидосвязывающей способности

m_0 , г – масса навески сухого материала

m_1 , г – масса осадка после центрифугирования и высушивания

2.7. Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка и анализ данных выполнялись с использованием пакета статистических программ STATISTICA 7.0, Excel 7.0 для Microsoft Office for Windows. Для количественных показателей вычисляли среднее арифметическое значение (M), стандартное отклонение (SD). Данные представлены в виде $M \pm SD$. Качественные признаки описаны абсолютными (n) и относительными значениями (%). Вычислялись коэффициенты вариабельности. Различия между изучаемыми показателями считали статистически значимыми при вероятности $p < 0,05$. Для оценки достоверности различий средних в группах использовали непараметрический

метод сравнения Kruskal-Wallis Anova test. При расчете p применяли поправку Wilcoxon.

При выборе статистических методик учитывались методологические требования Международного конгресса по гармонизации GCP “Статистические принципы для клинических исследований”, (ICH Guidelines//Good Clin.Pract.J., 1998).

ГЛАВА 3: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РАЗДЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ ЧЕСНОКА, МАСЕЛ ОЛИВКОВОГО, АМАРАНТОВОГО И ЛЬНЯНОГО, А ТАКЖЕ ПЕКТИНА, АЛЬГИНАТА И ХИТОЗАНА

В исследовании были выявлены гиполипидемические свойства чеснока, масел оливкового, амарантового и льняного, и волокон пектина, альгината и хитозана. Данные гиполипидемические свойства были изучены при раздельном применении названных веществ у крыс на двух моделях экспериментальной гиперлипидемии: витаминной и твиновой (*см. материалы и методы*).

3.1 Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии

При изучении гиполипидемических свойств чеснока, масел амарантового, льняного и оливкового, а также волокон пектина, альгината и хитозана на алиментарной (витаминной) модели у животных, у данных веществ был выявлен липид-корректирующий эффект.

Сила липид-корректирующего эффекта указанных веществ расценивалась относительно потенциала снижения атерогенных показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП), и повышения антиатерогенных показателей (ЛПВП).

Влияние раздельного применения исследуемых веществ на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии представлены в нижеследующих графиках.

Как видно из представленного ниже рисунка 1, 95%-ый доверительный интервал содержания ОХС в группе контроля не перекрывался таковым ни в одной из опытных групп. Следовательно, различия высоко значимы ($p < 0,001$) (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

95% доверительный интервал ОХС препарата сравнения на основе чеснока не пересекался с таковым в группах 6,9,10,11, а препарата сравнения ПНЖК с группами 5,6,7, 9,10,11, различия статистически значимы ($p < 0,01$) (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

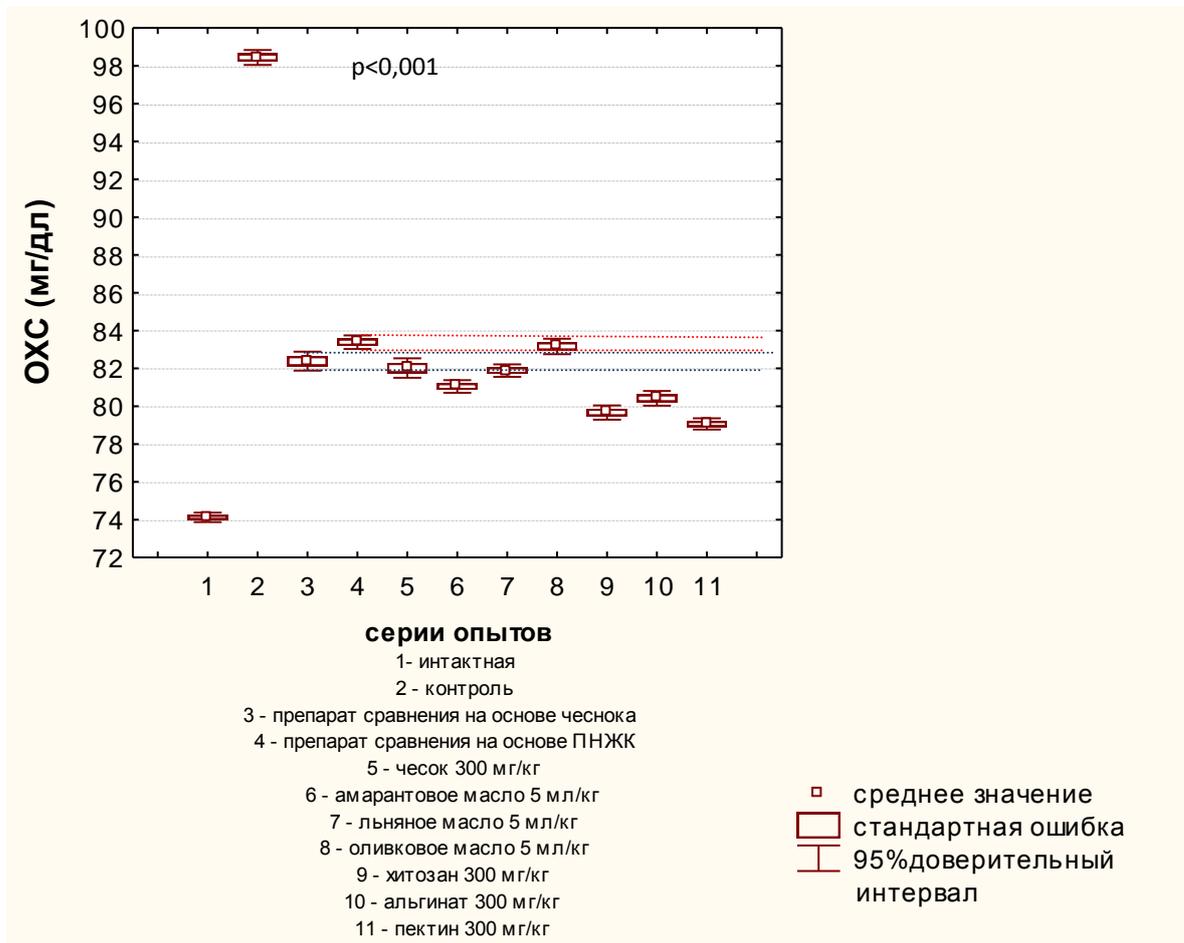


Рис. 1. Влияние отдельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ОХС у крыс при витаминной модели ГЛП

Сопоставление испытуемых групп по отдельным параметрам показало, что по снижению ОХС- 5 и 7 группы сопоставимы, остальные значимо различаются ($p < 0,05$), наибольшее статистически-значимое снижение установлено в группах 9-11. Все ПВ в большей степени, чем масла и чеснок снижают ОХС и ЛПНП ($p < 0,001$), наиболее эффективен хитозан. Чеснок значимо сильнее, чем масла и ПВ снижает ТГ ($p < 0,05$) (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

На представленном графике Рисунка 2 видно, что 95%-ый ДИ содержания ТГ всех опытных групп не пересекались с таковым в контроле, различия статистически значимы ($p < 0,001$).

Группы амарантового масла, хитозана, альгината, и пектина не выявили различий по ТГ в сравнении с интактными животными ($p < 0,05$) (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

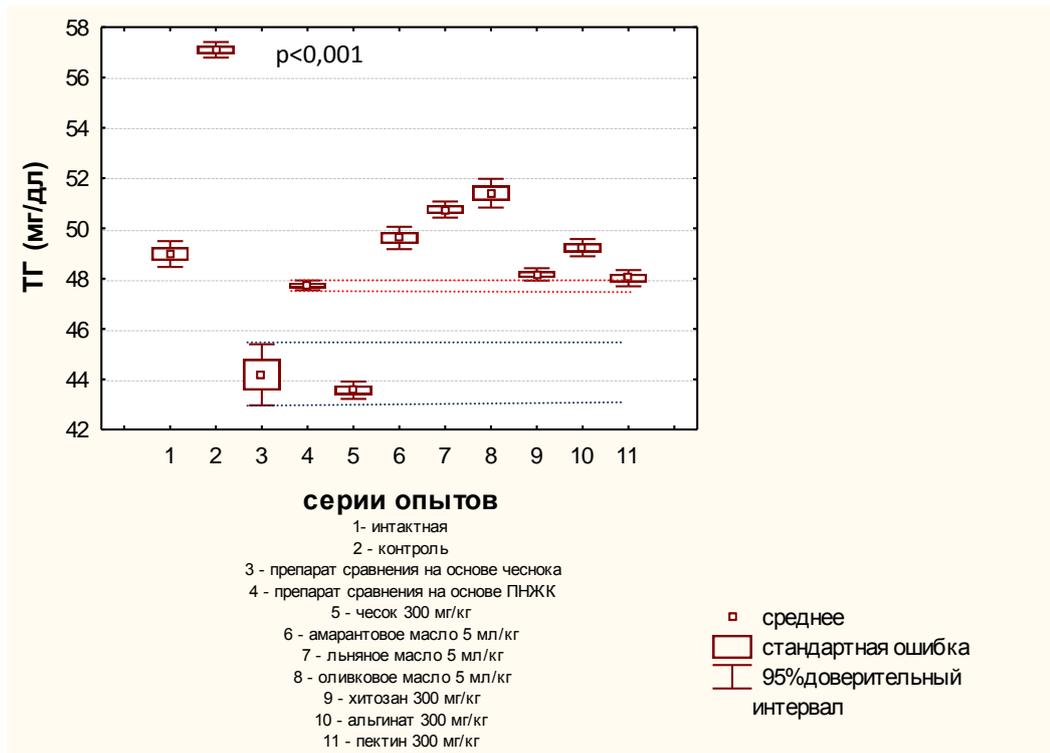


Рис. 2. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ТГ у крыс при витаминной модели ГЛП.

Лучше всего ТГ снижал порошок чеснока ($43,6 \pm 0,4$) при уровне значимости $p < 0,01$ относительно групп препаратов сравнения.

Данный эффект изучаемого порошка был статистически значимо лучше, чем препарат сравнения (3) при уровне значимости $p < 0,01$ (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

Выше всего данный показатель был у оливкового масла ($51,4 \pm 0,7$) при уровне значимости $p < 0,01$.

Относительно параметра ЛПВП, большей эффективностью обладали масла (в частности амарантовое масло), тогда как ПВ были менее эффективны по этому параметру ($p < 0,05$).

Все исследуемые масла статистически значимо лучше повышали концентрацию ХС ЛПВП, чем препарат сравнения на основе чеснока, при уровне значимости $p < 0,01$ ((прил. 1 табл. 1, стр. 162).

Сопоставление испытуемых групп 4 и 6 по данному параметру показало, что эти группы сопоставимы ($p < 0,01$), тогда как группы ПВ (9, 10, 11) оказались статистически значимо менее эффективны по этому параметру ($p < 0,05$).

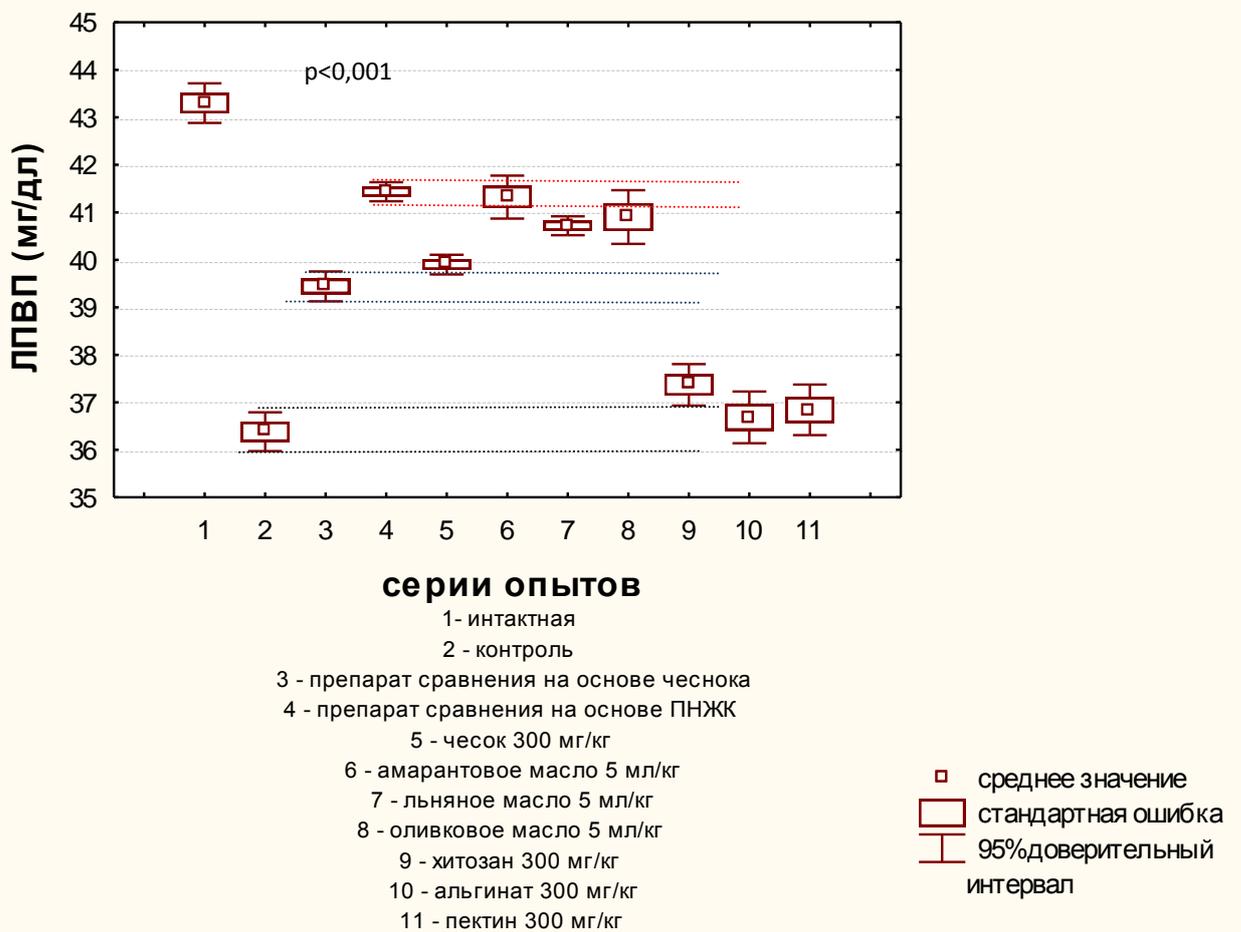


Рис. 3. Влияние отдельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ЛПВП у крыс при витаминной модели ГЛП.

Все изучаемые вещества оказывали нормализующее действие на уровень ХС ЛПНП (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

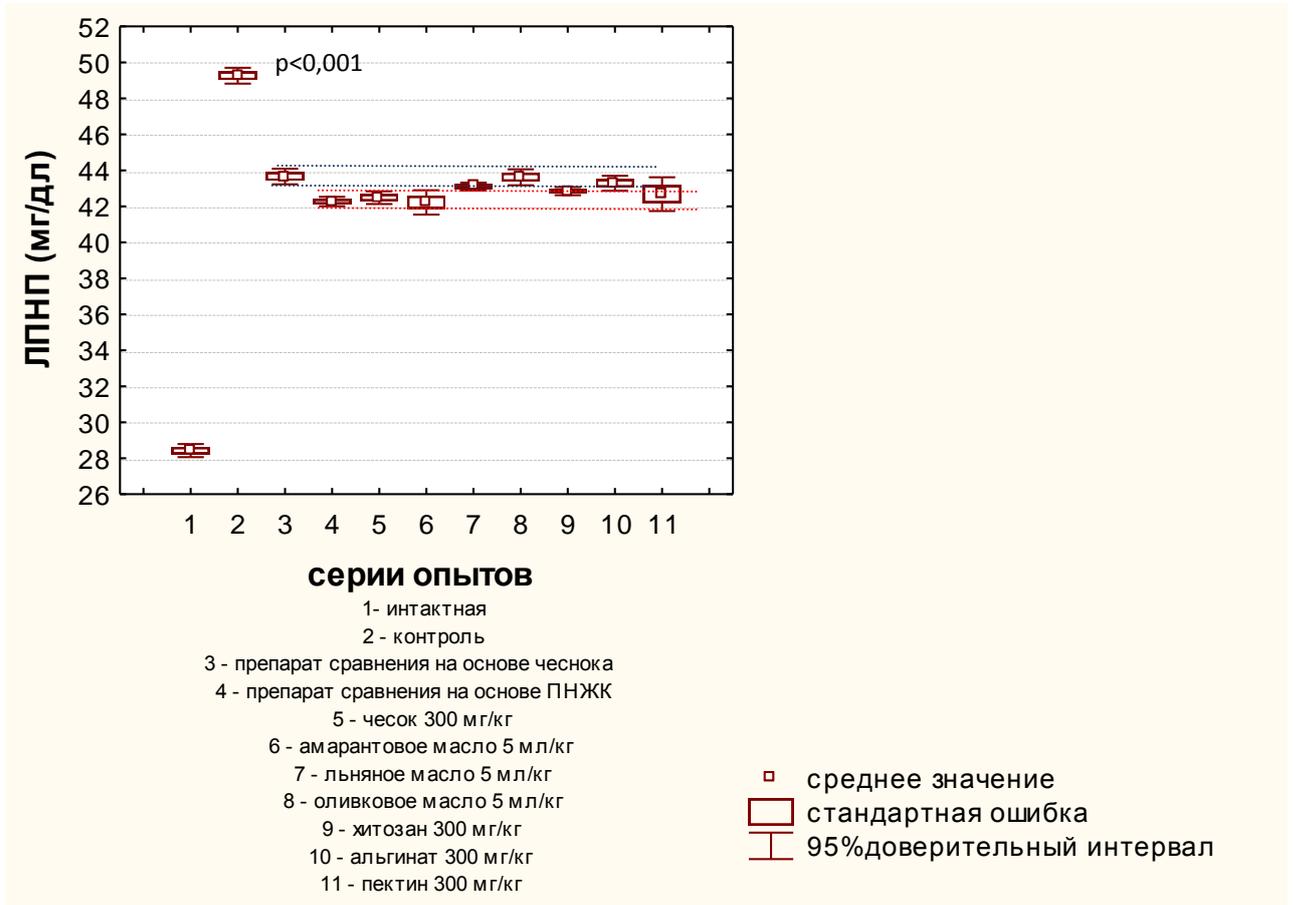


Рис. 4. Влияние отдельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ЛПНП у крыс при витаминной модели ГЛП.

Результаты воздействия чесноком, маслами и ПВ на показатели липидного профиля были статистически значимо хуже, чем у здоровых особей и достоверно лучше контроля ($p < 0,001$).

Наибольшие различия ЛПНП получены в опытных группах оливковое масло – амарантовое масло при уровне значимости $p < 0,05$ (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

Сравнение испытываемых групп 3 и 8 по данному параметру показало, что эти группы сопоставимы ($p < 0,01$)

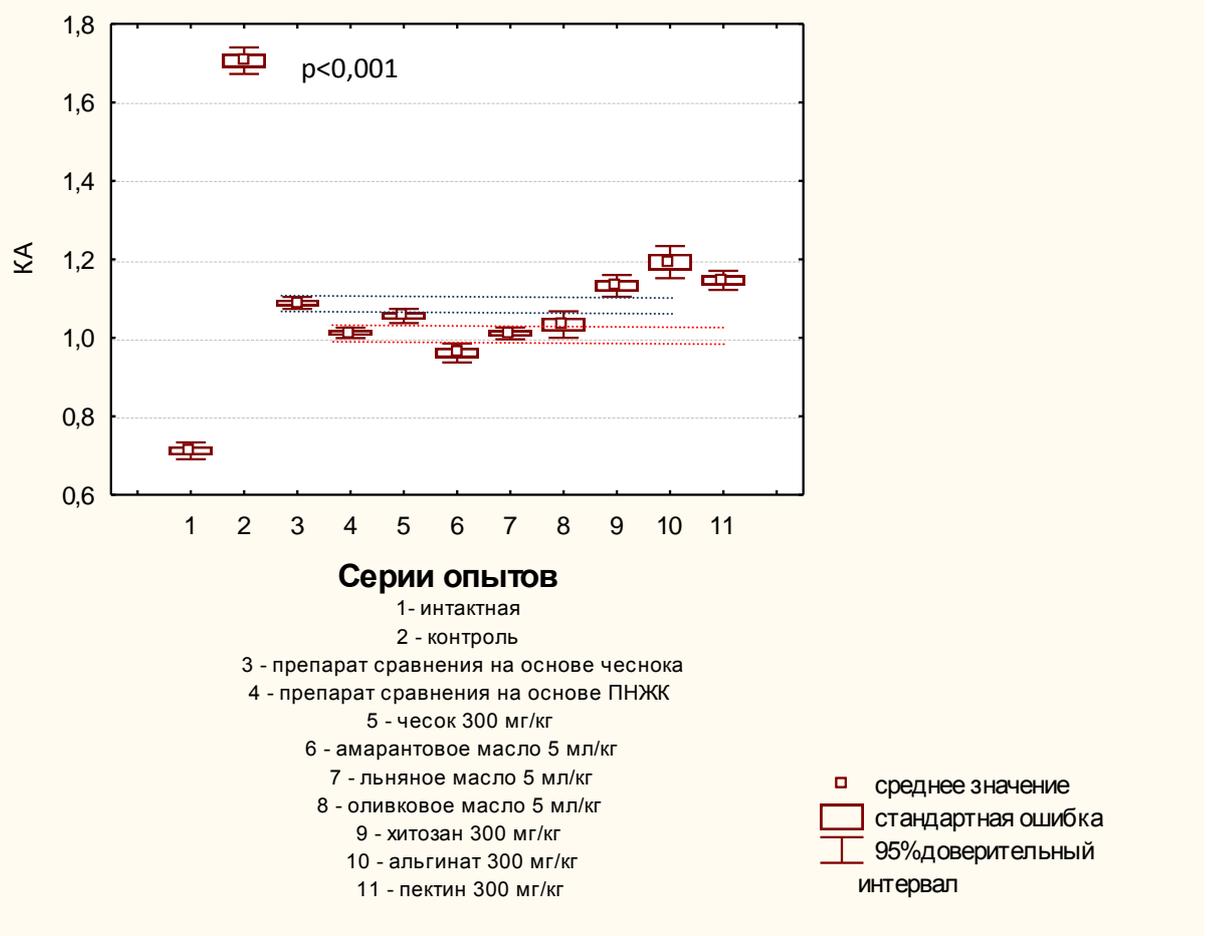


Рис. 5. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон КА у крыс при витаминной модели ГЛП.

Показатели КА, представленные на рисунке 5, доказывают различную эффективность исследуемых средств и обосновывают проведение сочетанной, комплексной терапии.

Согласно этим показателям, амарантовое масло имело самый низкий показатель атерогенности ($KA = 0,96 \pm 0,02$), альгинаты - самый высокий ($KA = 1,19 \pm 0,05$), при $p < 0,001$ по отношению к контролю (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

Данные КА перекликаются с результатами использования альгината и масла амарантового при витаминной модели гиперлипидемии.

Применение альгината вело к статистически значимому снижению концентрации ОХС на 18,3%, ТГ на 13,8%, и ХС ЛПНП на 12,2%, увеличению содержания антиатерогенного ХС ЛПВП плазмы лишь на 0,8%, при уровне значимости по отношению к контролю ($p < 0,001$).

Применение масла амаранта при витаминной модели гиперлипидемии у крыс, вело к статистически значимому снижению концентрации ОХС на 17,7%, ТГ на 13,1%, и ХС ЛПНП на 14,4%, увеличению содержания ХС ЛПВП плазмы на 13,5%, при уровне значимости по отношению к контролю ($p < 0,001$) (прил. 1 табл. 1, стр. 162).

3.2 Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль крыс на твиновой модели гиперлипидемии

При изучении гиполипидемических свойств чеснока, масел амарантового, льняного и оливкового, а также волокон пектина, альгината и хитозана на парентеральной (твиновой) модели у животных, у данных веществ был выявлен липид-корректирующий эффект.

Сила липид-корректирующего эффекта веществ расценивалась относительно потенциала снижения атерогенных показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП), и повышения антиатерогенных показателей (ЛПВП).

Влияние раздельного применения исследуемых веществ на липидный профиль у крыс на твиновой модели гиперлипидемии представлены в нижеследующей таблице 6.

Таблица 6

Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс при твиновой модели гиперлипидемии.

Твиновая модель гиперлипидемии						
Крысы N	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС(мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП (мг/дл) M±σ	ЛПНП (мг/дл) M±σ	КА M±σ
6	⁽¹⁾ Интактная	74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
6	⁽²⁾ Контроль	114±0,3	75,4±0,4	38,5±0,5	61,5±0,3	1,97±0,03
6	⁽³⁾ Препарат сравнения Алисат	93,8±0,2* -17,9%	58,4±0,4* -22,6%	41,9±0,3* +8,8%	53,5±0,5* -13,0%	1,24±0,01* -37,1%
6	⁽⁴⁾ Препарат сравнения ПНЖК	96,2±0,17*^# -15,6%	62,6±0,2*^ -17,0%	44,0±0,09*^ +14,3%	51,3±0,4*^ -16,6%	1,18±0,01*^ -40,1%
6	⁽⁵⁾ Чеснок 300мг/кг	92,5±0,5*^# -19,0%	58,2±0,4*# -22,8%	42,3±0,4*# +9,9%	53,2±0,3*# -13,5%	1,18±0,01*^ -40,1%
6	⁽⁶⁾ Амарант 5мл/кг	92,9±0,2*^# -18,7%	64,4±0,6*^# -14,6%	43,3±0,3*^ +12,5%	52,3±0,5*^ -15,0%	1,14±0,01*^ -42,1%
6	⁽⁷⁾ Льн. Масло 5мл/кг	93,6±0,2*# -18,0%	65,3±0,4*^# -13,4%	43,1±0,3*^# +12,0%	53,1±0,3*# -13,7%	1,17±0,01*^ -40,6%
6	⁽⁸⁾ Олив. масло 5мл/кг	94,3±0,3*# -17,4%	66,4±0,4*^# -11,9%	42,2±0,4*# +9,6%	54,3±0,3*# -11,7%	1,23±0,02*# -37,6%
6	⁽⁹⁾ Хитозан 300мг	90,4±0,3*# -20,8%	62,8±0,2*^ -16,7%	39,0±0,3^# +1,3%	53,1±0,3*# -13,7%	1,31±0,01*^# -33,5%
6	⁽¹⁰⁾ Альгинат	91,7±0,4*^# -19,7%	64,1±0,3*^# -15,0%	38,7±0,3^# +0,5%	54,7±0,4*^# -11,1%	1,36±0,02*^# -31%

	300мг					
6	^(П) Пектин	91,5±0,44* [^] #	63,3±0,3* [^]	38,9±0,14 [^] #	53,3±0,4*#	1,35±0,01* [^] #
	300мг	- 19,9%	- 16,1%	+ 1,0%	- 13,3%	-31,5%

Статистически значимые различия (критерий Крускала-Уоллеса)

* - по отношению к контролю ($p < 0,001$),

[^] - по отношению к препарату сравнения 3 ($p < 0,01$)

- по отношению к препарату сравнения 4 ($p < 0,01$);

процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

Из представленных в таблице 6 результатов следует, что коэффициент атерогенности группы контроля (КА=1,97±0,03) значительно вырос по отношению к здоровым особям (интактная группа) (КА=0,71±0,02), при уровне значимости $p < 0,001$.

Согласно таблице 6, применение чеснока снижает концентрацию атерогенных показателей липидного профиля плазмы крови, в частности ОХС, ТГ и ЛПНП, оказывает благотворное влияние на уровень ХС ЛПВП. Применение чеснока при твиновой модели гиперлипидемии у крыс, приводило к снижению концентрации ОХС на 19,0%, ТГ на 22,8%, и ХС ЛПНП на 13,5%, при уровне значимости по отношению к контролю ($p < 0,001$). В дополнении к сказанному, применение чеснока приводило к увеличению содержания ХС ЛПВП плазмы на 9,9%. Отметим низкий коэффициент вариабельности в группе контроля ОХС-0,3%, ТГ-0,5%, ЛПВП-1,3%, ЛПНП -0,5%. Наибольшие коэффициенты вариабельности в опытных группах также были малы и составили 0,5%, 0,9%, 0,9% и 1%, что позволило использовать небольшое количество животных для получения статистически значимых результатов.

Лучше всего ОХС при твиновой модели ГЛП снижал хитозан, на 20,8% при уровне значимости $p < 0,01$ по отношению к препаратам сравнения 3, 4. Хуже всего эти показатели были получены в случае применения оливкового масла. Оно понижало концентрацию ОХС на 17,4 % при уровне значимости $p > 0,01$ по отношению к препарату сравнения 3.

По содержанию ТГ, препарат сравнения 3 сопоставим с изучаемым порошком чеснока, препарат сравнения 4 сопоставим с группой 9.

Данный показатель был статистически значимо хуже у группы оливкового масла при уровне значимости $p < 0,01$ по отношению к препаратам сравнения.

Амарантовое и льняное масло статистически значимо лучше других опытных групп повышали содержание ЛПВП в сыворотке животных. Концентрация ХС ЛПВП при приёме амарантового и льняного масел, $(43,3 \pm 0,3)$ и $(43,1 \pm 0,3)$ соответственно, была практически равна концентрации ЛПВП у здоровых животных $(43,3 \pm 0,5)$. Статистически значимо худший результат по данному показателю был у альгинатов, уровень ЛПВП при их приёме не отличался значимо от уровня ЛПВП в контрольной группе ($p > 0,05$).

Показатель ЛПНП крови животных статистически значимо лучше снижало амарантовое масло (15,0 %) при уровне значимости $p < 0,001$ по отношению к интакту и контролю и $p < 0,01$ по отношению к препаратам сравнения. Самым слабым эффектом обладала 10 группа альгинатов при уровне значимости к группе 8, $p > 0,05$.

Наиболее эффективным при твиновой ГЛП у крыс оказалось применение амарантового масла ($КА = 1,14 \pm 0,01$) при уровне значимости $p < 0,001$ по отношению к интакту и контролю, и $p < 0,01$ по отношению к препарату сравнения на основе чеснока.

Самой малой эффективностью ($КА = 1,36 \pm 0,02$) отличались альгинаты, при уровне значимости $p < 0,001$ по отношению к интакту и контролю, и

$p < 0,01$ по отношению к обоим препаратам сравнения.

Относительно отдельных параметров липидного спектра крови, из таблицы 6 и рисунков 1, 2, 3, 4, 5 следует, что:

- 1) Хитозан эффективнее других изученных веществ снижает ОХС; амарантовое и льняное масло повышают ЛПВП, чеснок снижает ТГ при уровне значимости $p < 0,001$ относительно контроля.
- 2) Самым эффективным в снижении показателя атерогенности КА является амарантовое масло; самыми неэффективными – альгинаты, при статистической значимости к контролю $p < 0,001$.
- 3) Гиполипидемические свойства компонентов были более заметными в случае применения твиновой модели ГЛП.
- 4) Внутригрупповые различия очень малы (4-12)%, что позволило получить высокосignимые различия на малых объемах выборки.

ГЛАВА 4: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПАРНОГО СОЧЕТАНИЯ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ ЧЕСНОКА, МАСЕЛ ОЛИВКОВОГО, АМАРАНТОВОГО И ЛЬНЯНОГО, А ТАКЖЕ ПЕКТИНА, АЛЬГИНАТА И ХИТОЗАНА

В исследовании были выявлены гиполипидемические свойства сочетаний чеснока с оливковым, амарантовым и льняным, а также сочетаний названных масел с волокнами пектина, альгината и хитозана. Данные гиполипидемические свойства были изучены при отдельном применении названных веществ у крыс на двух моделях экспериментальной гиперлипидемии: витаминной и твиновой (*см. материалы и методы*).

4.1 Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел, а также масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии

При изучении гиполипидемических свойств парных сочетаний чеснока, масел амарантового, льняного и оливкового, а также волокон пектина, альгината и хитозана на алиментарной (витаминной) модели ГЛП у животных, был выявлен липид-корректирующий эффект. Сила липид-корректирующего эффекта сочетаний определялась относительно потенциала снижения атерогенных показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП), и повышения антиатерогенных показателей (ЛПВП). Влияние парного сочетания исследуемых веществ на липидный профиль крыс на витаминной модели гиперлипидемии представлены в нижеследующих графических рисунках.

Сочетанное применение чеснока и исследуемых масел, как и сочетание масел с каждым из волокон в различной степени снижает концентрацию атерогенных показателей липидного профиля плазмы крови животных, в частности ОХС, ТГ и ЛПНП, повышают уровень ХС ЛПВП.

Применение амарантового масла в сочетании с хитозаном при витаминной диете, приводило к статистически значимому снижению концентрации ОХС на 19,6%, ТГ на 14,5%, и ХС ЛПНП на 14,2%, увеличению содержания ЛПВП на 8,0% относительно контроля ($p < 0,001$) (прил. 2 табл. 2, стр. 163).

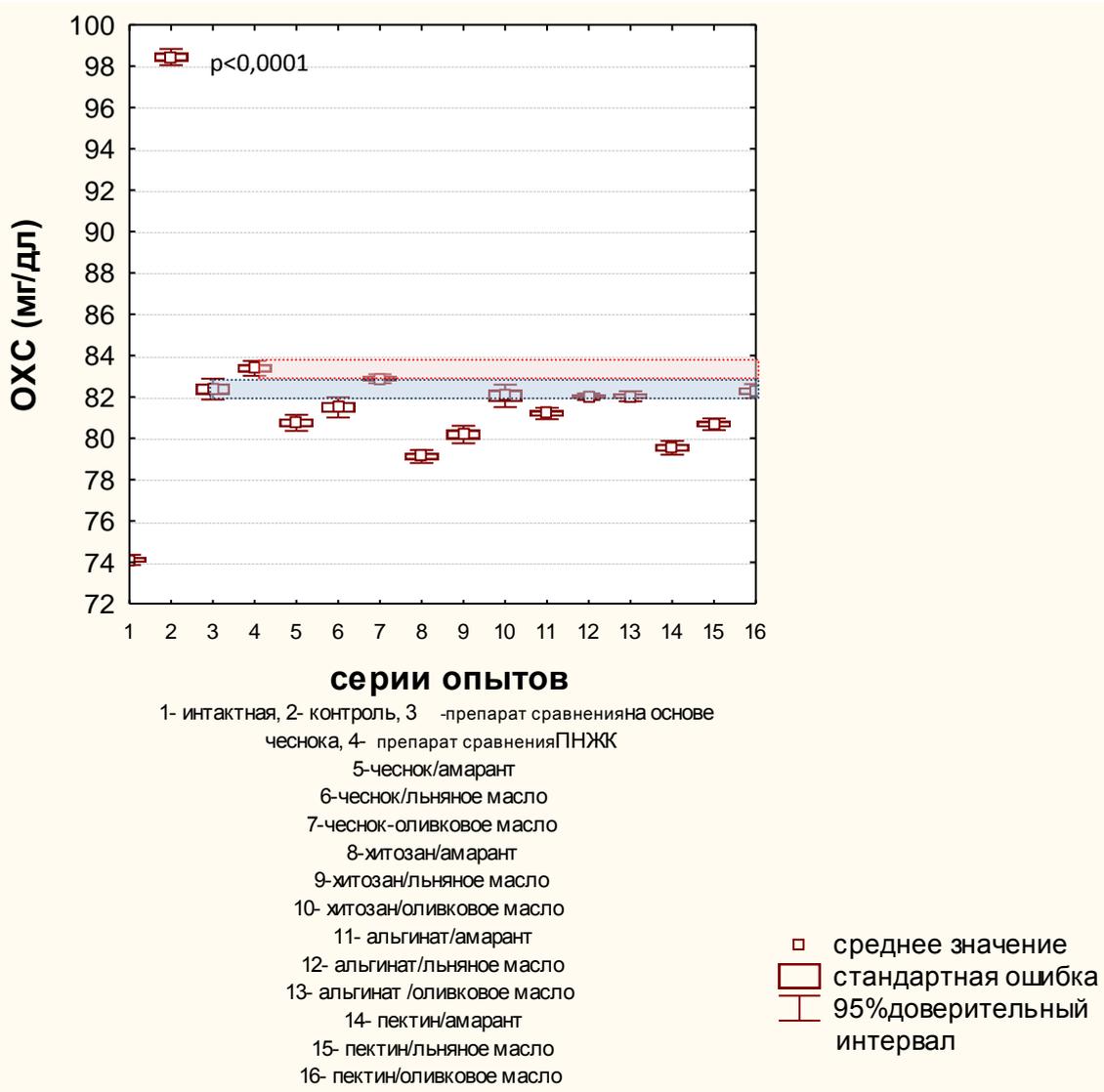


Рис. 6. Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ОХС у крыс при витаминной модели ГЛП

Сочетание чеснока с оливковым маслом значимо слабее снижала ОХС, чем препарат сравнения 3, и группа чеснока в амарантовом масле при уровне значимости $p < 0,01$, относительно первого и $p < 0,05$ относительно второго (прил. 2 табл. 2, стр. 163).

Как видно из следующего рисунка, 95%-ый ДИ содержания ТГ в опытных группах не пересекался с таковым в контрольной группе ($p < 0,001$). Результаты снижения концентрации ТГ в крови животных при помощи сочетания чеснока и льняного масла, а также чеснока и амарантового масла при витаминной модели не отличались значимо от показателя ТГ у здоровых животных ($p > 0,05$) (прил. 2 табл. 2, стр. 163). Концентрации ТГ остальных опытных групп были статистически значимо выше, чем при приеме препарата сравнения 3 ($p < 0,01$) и здоровых особей ($p < 0,001$) (рис. 7).

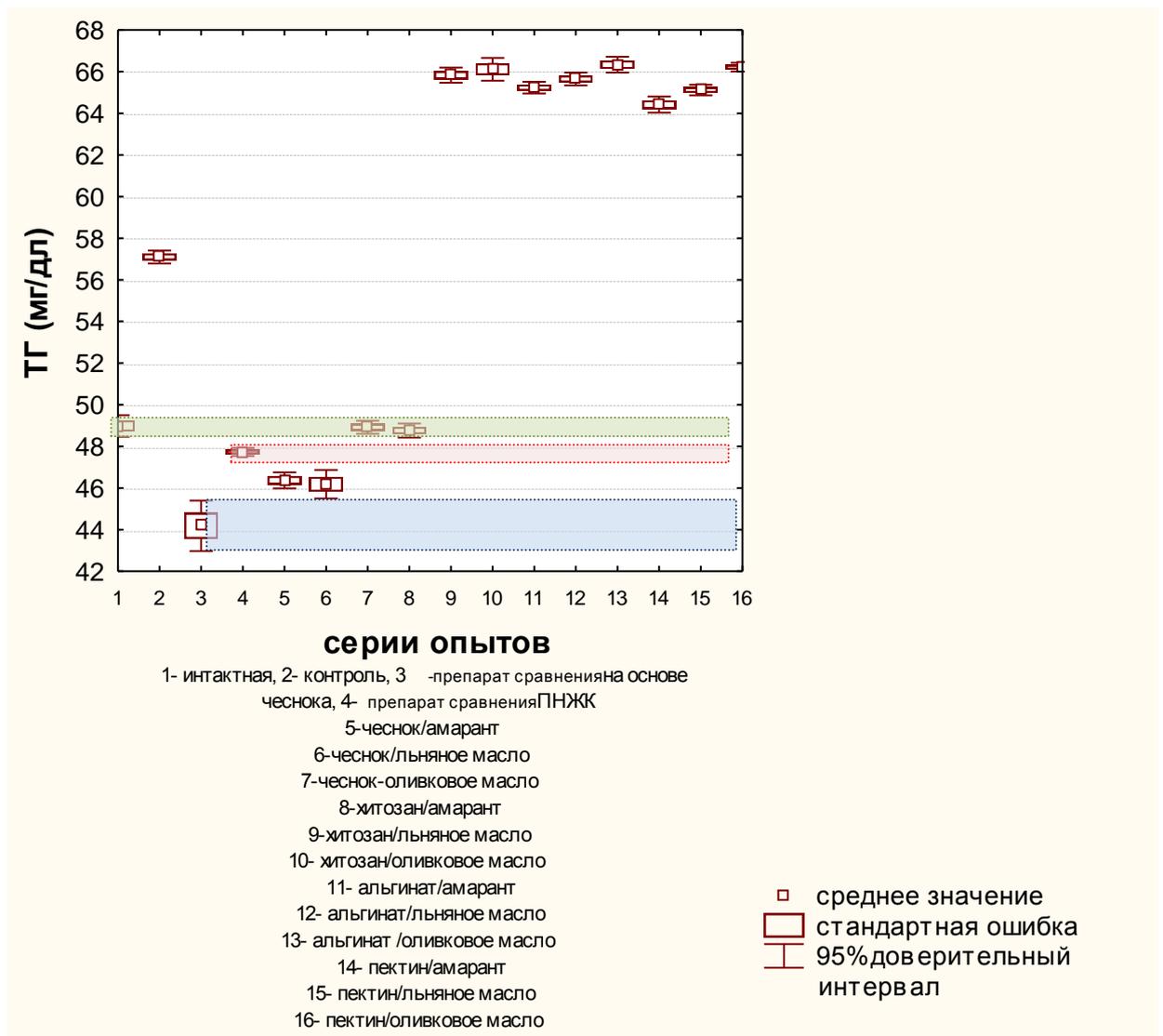


Рис. 7. Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ТГ у крыс при витаминной модели ГЛП.

При оценке показателя ХС ЛПВП лучшие результаты были

зарегистрированы в группах чеснок/ льняное масло и чеснок/ амарантовое масло при уровне значимости $p < 0,05$ относительно препарата сравнения 3 и группы чеснок/ оливковое масло 7.

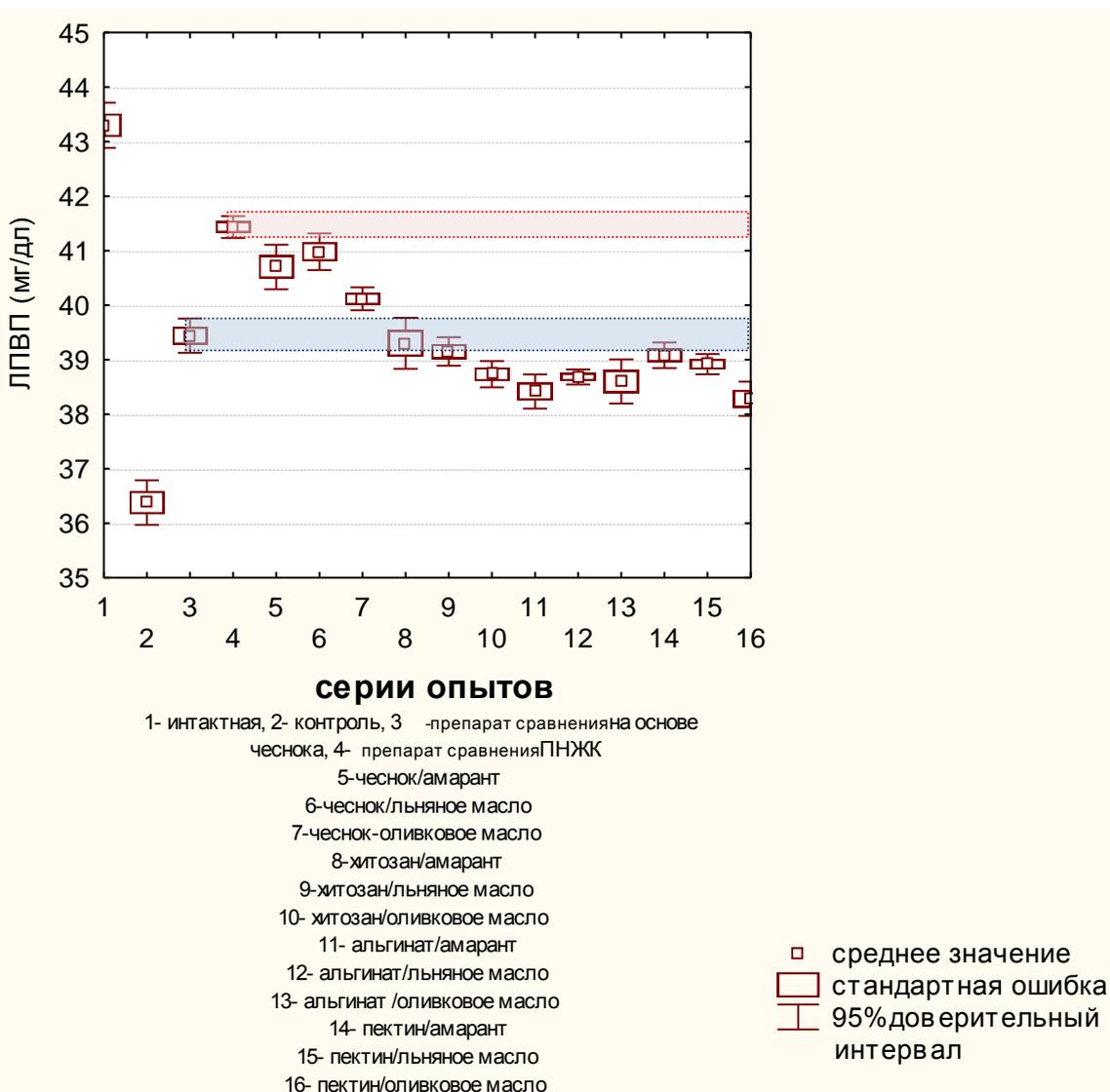


Рис. 8. Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ХС ЛПВП у крыс при витаминной модели ГЛП.

Наиболее слабые результаты были зарегистрированы в группах пектин/ льняное масло, пектин/ оливковое масло и альгинаты/ амарантовое масло при уровне значимости относительно интакта и контроля $p < 0,001$ (прил. 2 табл. 2, стр. 163).

Из рисунка 9 следует, что группа хитозан/ амарантовое масло статистически значимо лучше снижала концентрацию ЛПНП, чем группа альгинаты/ амарантовое масло при уровне значимости $p < 0,01$ относительно препарата сравнения 3 (прил. 2 табл. 2, стр. 163).

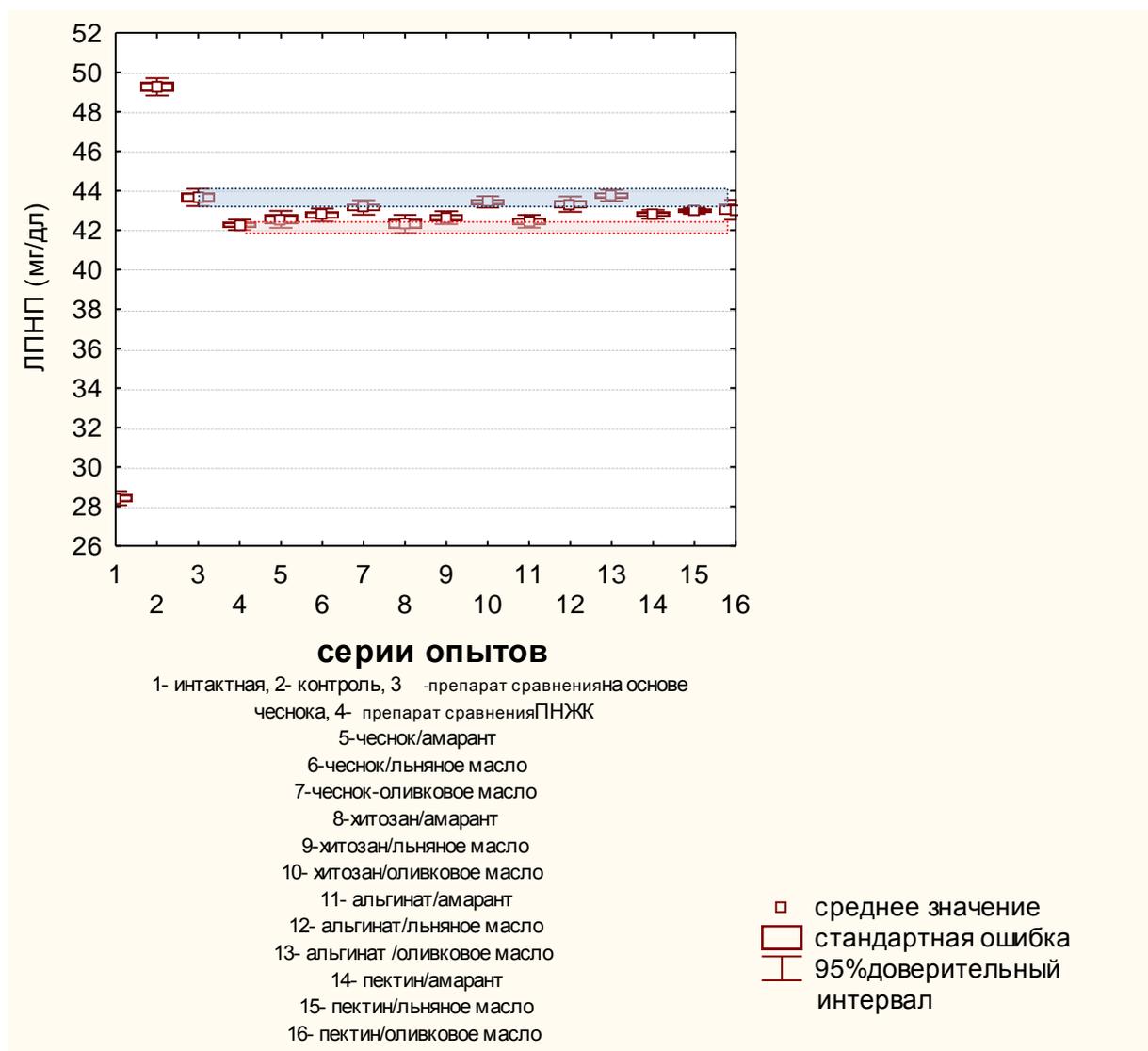


Рис. 9. Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ХС ЛПНП у крыс при витаминной модели ГЛП

Сочетание альгинаты/ оливковое масло, а также сочетание хитозан/оливковое масло статистически-значимо слабее снижали данный показатель при уровне значимости $p < 0,01$ относительно препарата сравнения 4.

Согласно данным, представленным в рисунке 10, сочетание пектин/оливковое масло имеет самый высокий КА ($1,15 \pm 0,02$), тогда как

комбинация чеснок/ амарантовое масло - самый низкий ($0,98 \pm 0,02$) КА, при уровне значимости $p < 0,001$ относительно интакта и контроля (прил. 2 табл. 2, стр. 163).

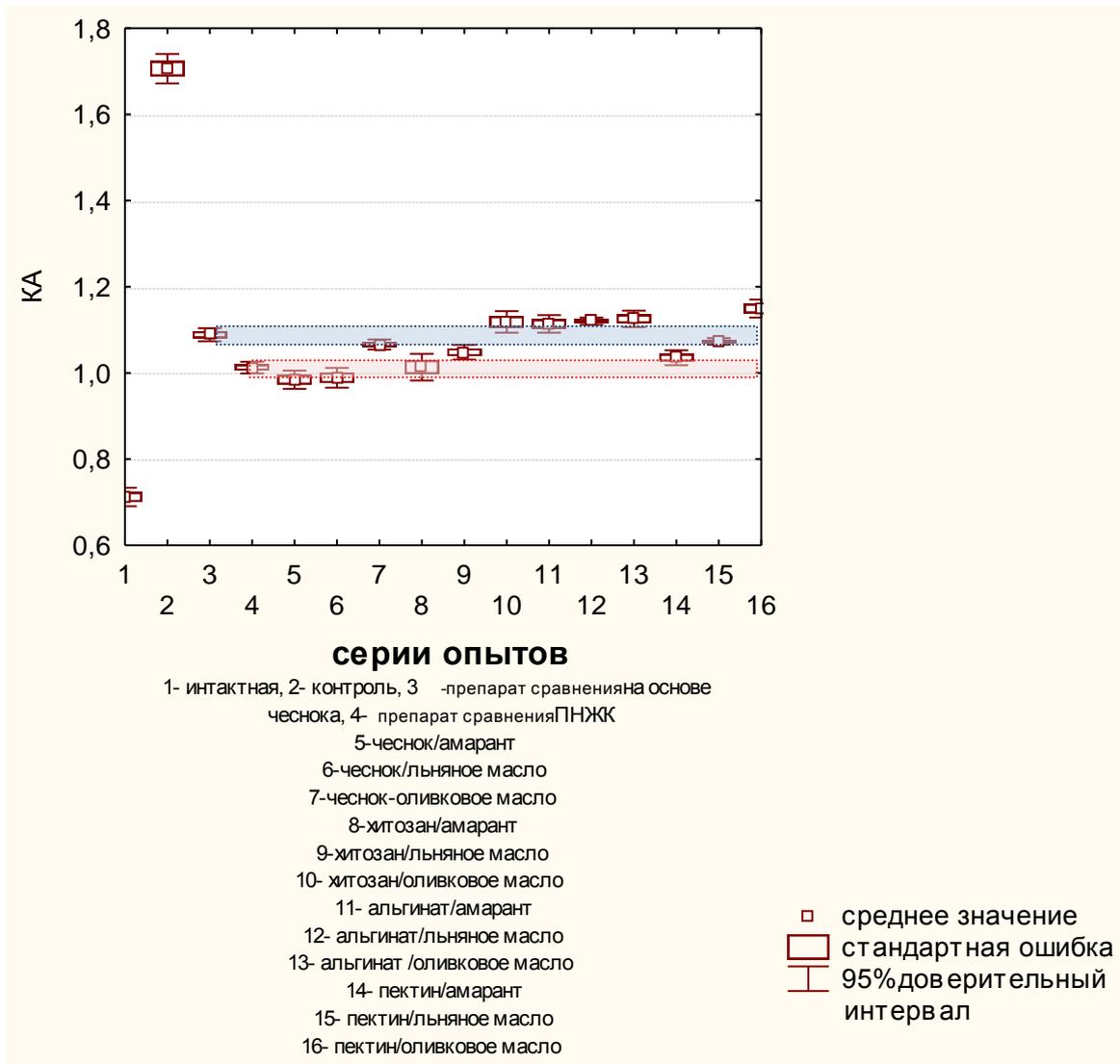


Рис. 10. Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на КА у крыс при витаминной модели ГЛП.

4.2 Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел, а также масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс на твиновой модели гиперлипидемии

При изучении гиполипидемических свойств парных сочетаний чеснока, масел амарантового, льняного и оливкового, а также волокон пектина,

альгината и хитозана на парентеральной (твиновой) модели у животных, у данных сочетаний веществ был выявлен липид-корректирующий эффект. Сила липид-корректирующего эффекта сочетаний расценивалась относительно потенциала снижения атерогенных показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП), и повышения антиатерогенных показателей (ЛПВП). Влияние парного сочетания исследуемых веществ на липидный профиль у крыс на твиновой модели гиперлипидемии представлены в нижеследующей таблице 7.

Таблица 7

Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс при твиновой модели ГЛП

Твиновая модель гиперлипидемии						
Крысы N	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС(мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП(мг/дл) M±σ	ЛПНП(мг/дл) M±σ	КА M±σ
5	Интактная ⁽¹⁾	74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
6	Контроль ⁽²⁾	114±0,3	75,4±0,4	38,5±0,5	61,5±0,3	1,97±0,03
6	Препарат сравнения ⁽³⁾	93,8±0,2* -17,7%	58,4±0,4* -22,5%	41,9±0,3* +8,8%	53,5±0,5* -13,0%	1,24±0,01* -37,1%
6	Препарат сравнения ⁽⁴⁾	96,2±0,2*^ -15,6%	62,6±0,2*^ -17,0%	44,0±0,1*^ +14,3%	51,3±0,4*^ -16,6%	1,18±0,01*^ -40,1%
6	Чеснок/ Амарант ⁽⁵⁾	91,2±0,4*^# - 20,0%	59,0±0,5*^# - 21,8%	43,1±0,3*^# + 12,0%	52,2±0,3*^# - 15,1%	1,11±0,02*^ -43,7%
6	Чеснок/ ЛМ ⁽⁶⁾	92,3±0,3*^# - 19,0%	59,3±0,4*^# - 21,4%	43,2±0,3*^# + 12,2%	52,5±0,3*^# - 14,6%	1,14±0,02*^# -42,1%
6	Чеснок/ ОМ ⁽⁷⁾	93,1±0,4*^# - 18,3%	63,8±0,2*^# - 15,4%	42,2±0,3*# + 9,6%	53,3±0,5*# - 13,3%	1,20±0,02* -39,1%
5	Хитозан/ Амарант ⁽⁸⁾	90,9±0,2*^# - 20,3%	63,3±0,3*^# - 16,1%	41,5±0,4*# + 7,8%	52,5±0,4*^# - 14,6%	1,19±0,03* -39,6%
6	Хитозан/ ЛМ ⁽⁹⁾	92,2±0,2*^# -19,1 %	64,6±0,2*^# -14,3 %	41,5±0,3*# +7,8 %	53,5±0,3*# - 13,0%	1,22±0,01* -38,1%
5	Хитозан/ ОМ ⁽¹⁰⁾	93,8±0,2*# - 17,7%	65,8±0,4*^# - 12,7%	40,1±0,5*^# + 4,2%	53,8±0,2*# - 12,5%	1,34±0,03*^# -32,0%

6	Альгинат/ Амарант ⁽¹¹⁾	93,0±0,3*^# - 18,4%	45,2±0,3*^# -40,1%	41,7±0,8*# + 8,3%	53,2±0,2*# - 13,5%	1,23±0,04* -37,6%
6	Альгинат/ ЛМ ⁽¹²⁾	93,6±0,3*# - 17,9%	65,3±0,1*^# -13,4%	40,9±0,4*^# + 6,2%	53,8±0,2*# -12,5%	1,29±0,03*^# -34,5%
6	Альгинат/ ОМ ⁽¹³⁾	94,7±0,4*^# - 16,9%	66,2±0,2*^# - 12,2%	40,7±0,2*^# + 5,7%	54,3±0,2*^# - 11,7%	1,32±0,02*^# -33,0%
5	Пектин/ Амарант ⁽¹⁴⁾	91,4±0,3*^# - 19,8%	64,0±0,2*^# - 15,1%	41,6±0,3*# + 8,1%	53,2±0,1*# - 13,5%	1,19±0,01* -39,6%
5	Пектин/ ЛМ ⁽¹⁵⁾	92,8±0,2*^# - 18,6%	64,8±0,4*^# - 14,1%	41,2±0,1*# +7,0%	53,7±0,2*# - 11,1%	1,24±0,01*# -37,1%
6	Пектин/ ОМ ⁽¹⁶⁾	94,3±0,2*^# -17,3%	66,0±0,1*^# - 12,5%	40,7±0,4*^# + 5,7%	54,3±0,2*^# - 11,7%	1,31±0,02*^# -33,5%

Примечание: Критерий Крускала-Уоллеса:

* — различия по отношению к контролю ($p < 0,001$),

^ — по отношению к препарату сравнения 3 ($p < 0,01$),

— к препарату сравнения 4 ($p < 0,01$),

процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

Наибольший коэффициент вариабельности в опытных группах и группах сравнения не превышал 1,5%, что позволило получить значимые различия на небольших количествах подопытных животных.

Согласно таблице 7, применение масла амаранта совместно с хитозаном при твиновой диете, приводило к статистически-значимому снижению концентрации ОХС на 20,3 %, ТГ на 16,1 %, и ХС ЛПНП на 14,6 %, увеличению содержания ЛПВП на 7,8%, при уровне значимости по отношению к контролю $p < 0,001$. Сочетанное применение чеснока и масла амаранта при твиновой ГЛП у крыс приводило к статистически-значимому снижению концентрации ОХС, ТГ И ХС ЛПНП на 20,0 %, 21,8%, и 15,1% соответственно, увеличению содержания ХС ЛПВП плазмы на 12 % при уровне значимости по отношению к контролю $p < 0,001$.

Лучшие показатели ОХС были достигнуты при сочетании хитозана и амарантового масла, чеснока/ амарантового масла при уровне значимости $p < 0,001$ относительно интакта и контроля, и при уровне значимости $p < 0,01$ относительно препаратов сравнения. Самый худший показатель был получен при сочетании альгинатов и оливкового масла при уровне значимости $p < 0,01$ относительно препаратов сравнения.

Сочетание альгинаты/ амарантовое масло достоверно лучше других комбинаций снижало уровень ТГ в крови при уровне значимости $p < 0,001$ относительно интактной и контрольной группы, и уровне значимости $p < 0,01$ относительно группы препарата сравнения.

Группы чеснок/ амарантовое масло и чеснок/ льняное масло достоверно снижали уровень ТГ в крови у крыс на 21,8 % и 21,4 %, соответственно при уровне значимости $p < 0,01$ относительно групп препаратов сравнения на основе чеснока и ПНЖК.

Слабее всего ТГ снижали комбинации пектин/ оливковое масло, альгинаты/ оливковое масло и хитозан/ оливковое масло при уровне значимости $p < 0,001$ относительно интактной и контрольной группы.

Сочетания чеснок/ амарантовое масло и чеснок/ льняное масло статистически-значимо лучше других сочетаний повышали содержание ХС ЛПВП в крови животных при уровне значимости $p < 0,01$ по отношению к препаратам сравнения. Эти показатели достоверно приближались к показателю уровня ЛПВП в крови крыс у здоровых животных при уровне значимости $p < 0,001$.

Комбинация хитозан/ оливковое масло обладала худшим эффектом касательно данного показателя липидного профиля при уровне значимости $p < 0,01$ относительно групп препаратов сравнения.

Эффект снижения ХС ЛПВП в крови животных был более выражен в случае сочетания чеснок/ амарантовое масло при уровне значимости $p < 0,001$ относительно интактной и контрольной группы (табл. 7). Менее выраженным эффектом обладали сочетания чеснок/ льняное масло и хитозан/ амарантовое

масло при уровне значимости $p < 0,01$ относительно препаратов сравнения. Менее выраженным гиполипидемическим эффектом относительно ЛПНП показателя обладали сочетания альгинаты/ оливковое масло и пектин/ оливковое масло ($p < 0,05$).

Исследование выявило наибольшее приближение показателей к таковым у здоровых особей при использовании сочетаний чеснок/ хитозан, хитозан/ амарантовое масло. Это позволило рассматривать данные сочетания в качестве наиболее перспективных гиполипидемически. Сочетания пектин/оливковое масло и хитозан/ оливковое масло имели самые высокие показатели атерогенности ($КА=1,31 \pm 0,02$) и ($КА=1,34 \pm 0,03$), соответственно, тогда как комбинация чеснок/ амарантовое масло имела самый низкий коэффициент ($КА=1,11 \pm 0,02$) при уровне значимости $p < 0,01$ по отношению к препаратам сравнения.

Применение пектинов с оливковым маслом вело к статистически-значимому снижению уровня ОХС на 17,3%, ТГ на 12,5 %, и ХС ЛПНП на 11,7 % ($p < 0,05$). Использование пектинов с амарантовым маслом у крыс вело к статистически-значимому снижению концентрации ОХС на 19,8%, ТГ на 15,1%, и ХС ЛПНП на 13,5% ($p < 0,001$). Сочетание льняного масла совместно с пектинами, при изучении лечебно-профилактического действия, давало следующие показатели: уровень ОХС понижался на 18,6%, ТГ на 14,1%, и ХС ЛПНП на 11,1 % ($p < 0,001$).

Согласно данным по влиянию изученных комбинаций на параметры липидного спектра крови при экспериментальной ГЛП (табл. 7 рис. 6, 7, 8, 9, 10) можно сделать следующие выводы:

1) Изучение влияния сочетаний чеснок/амарантовое масло, хитозан/амарантовое масло, пектин/оливковое масло и хитозан/ оливковое масло на липидный спектр крови у животных, позволило рекомендовать два первых сочетания в качестве гиполипидемически-перспективных. Два последних наименее перспективных сочетаний рекомендовать к исключению из подобных дальнейших исследований.

- 2) Внутри перспективной группы трудно доказуема лидирующая, таким образом полученные результаты отражают наиболее перспективное семейство воздействий.
- 3) Благодаря сочетанному применению компонентов при холестериневой нагрузке, конечный гиполипидемический эффект превосходил липид-корректирующие свойства каждого компонента по отдельности.
- 4) Гиполипидемические свойства компонентов были более заметными в случае применения твиновой модели ГЛП.
- 5) Внутригрупповые различия были очень малы, что позволило получить высокосignимые различия на малых объемах выборки.

ГЛАВА 5: ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И БЕЗОПАСНОСТИ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЧЕСНОКА, АМАРАНТОВОГО МАСЛА И ХИТОЗАНА

В исследовании были выявлены гиполипидемические свойства сочетания чеснока, амарантового масла, и хитозана. Данные гиполипидемические свойства были изучены при комплексном применении названных веществ у крыс на двух моделях экспериментальной гиперлипидемии: витаминной и твиновой (*см. материалы и методы*).

5.1 Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии

При изучении гиполипидемических свойств сочетанного применения чеснока, масла амарантового, а также волокон хитозана на алиментарной (витаминной) модели у животных, у данного сочетания веществ был выявлен липид-корректирующий эффект. Сила липид-корректирующего эффекта комплекса расценивалась относительно потенциала снижения атерогенных показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП), и повышения антиатерогенных показателей (ЛПВП). Влияние сочетанного применения исследуемых веществ на липидный профиль у крыс на витаминной модели гиперлипидемии представлены в нижеследующих графиках.

Сочетанное применение чеснока, амарантового масла и хитозана в наиболее оптимальной степени статистически значимо снижало концентрацию атерогенных показателей липидного профиля плазмы крови животных, в частности ОХС (- 21,7 %), ТГ (- 20 %) и ЛПНП (- 16,5 %), достоверно повышает уровень антиатерогенного ХС ЛПВП (+ 12,3 %) при уровне значимости $p < 0,001$ относительно здоровых животных и группы контроля, при $p < 0,01$ относительно препарата сравнения на основе чеснока, и $p < 0,05$ относительно групп препаратов сравнения 4, 5 (прил. 3 табл. 3, стр. 164).

Согласно данным рисунка 11, 95%-ый ДИ всех групп не перекрывались, то есть содержание ОХС всех групп значимо различалось ($p < 0,05$).

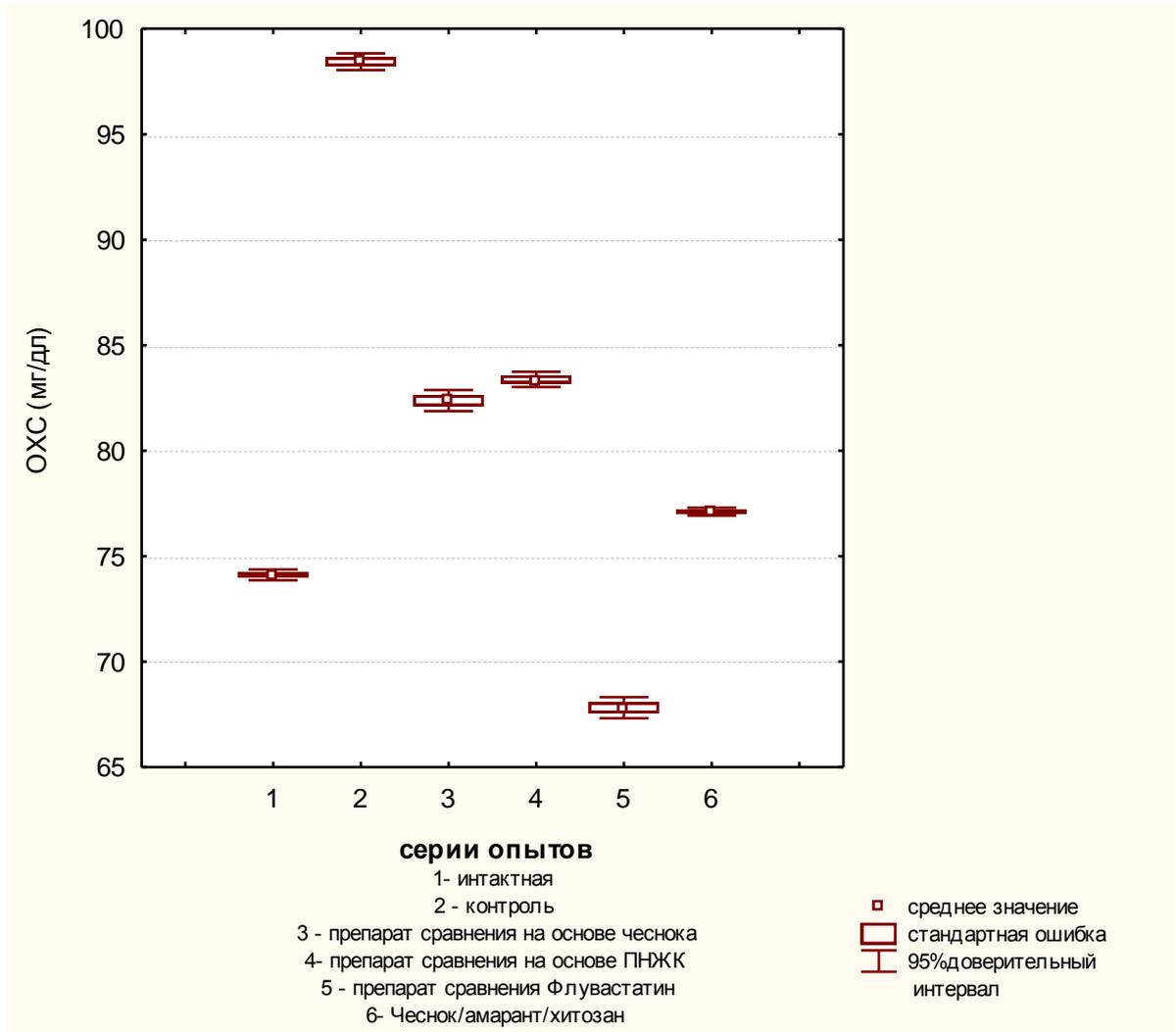


Рис. 11. Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на показатели ОХС у крыс при витаминной модели ГЛП

При этом, использование сочетания чеснок/ амарантовое масло/ хитозан статистически-значимо снижало показатели ОХС в крови у крыс, почти достигнув по данному показателю уровня интактной группы ($p < 0,001$). Показатели уровня ОХС при применении данного сочетания были статистически-значимо лучше, чем при использовании препарата сравнения на основе чеснока ($p < 0,01$), и препарата сравнения на основе ПНЖК ($p < 0,01$).

Тем не менее, показатели уровня ОХС при применении сочетания чеснок/ амарантовое масло/ хитозан были статистически значимо хуже аналогичных показателей в группе флувастатина 5 ($p < 0,05$) (прил. 3 табл. 3, стр. 164).

Из следующего рисунка следует, что препараты сравнения 4 и 5 были сопоставимы по содержанию ТГ ($p < 0,05$), остальные группы значимо различались ($p < 0,05$). Таким образом, применение сочетания чеснок/ амарантовое масло/ хитозан статистически-значимо снижает данный показатель почти до уровня препарата сравнения 3 ($p < 0,01$).

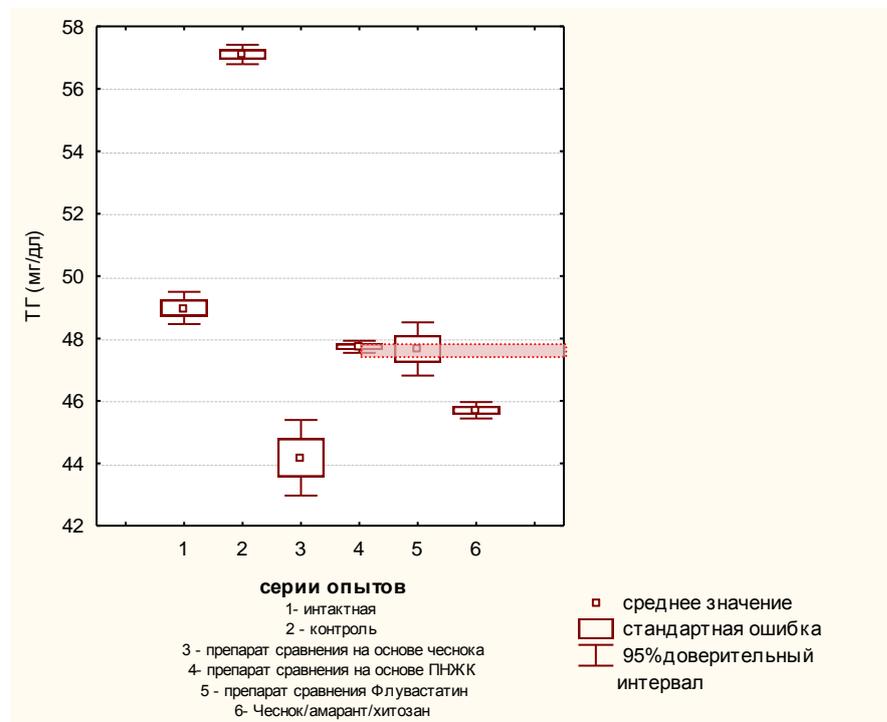


Рис. 12. Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на показатели ТГ у крыс при витаминной модели ГЛП.

Использование данного сочетания ведёт к достоверно лучшим значениям ТГ по сравнению с интактной группой ($p < 0,001$) (прил. 3 табл. 3, стр. 163).

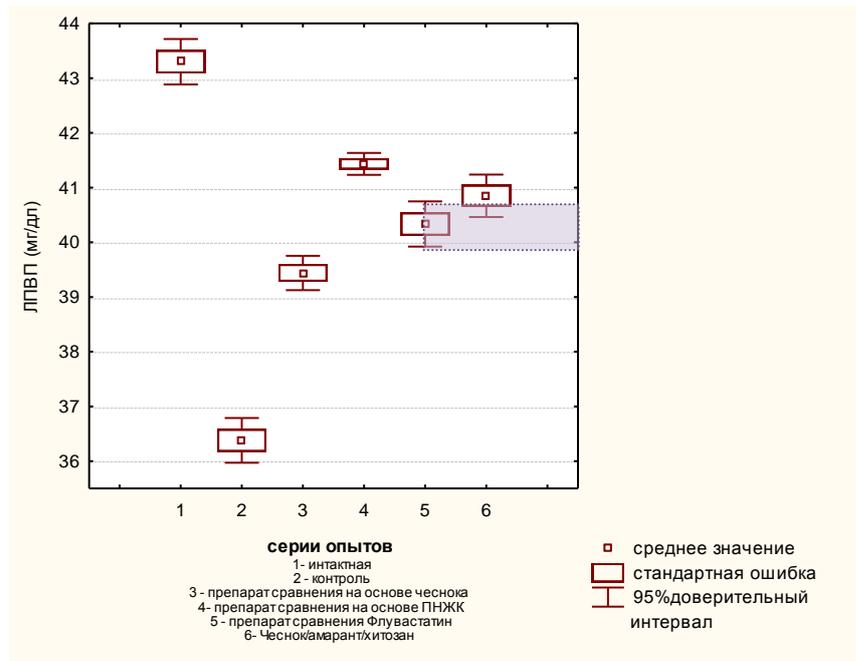


Рис. 13. Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на показатели ХС ЛПВП у крыс при витаминной модели ГЛП.

Согласно рисунку, эффект повышения ЛПВП за счёт сочетания чеснок/амарантовое масло/ хитозан статистически-значимо слабее, по сравнению с эффектом интактной группы ($p < 0,001$).

Использование данного сочетания статистически-значимо лучше повышает концентрацию ХС ЛПВП в крови у крыс, чем препарат сравнения 3 ($p < 0,01$).

Использование данного сочетания статистически-значимо слабееповышает концентрацию ХС ЛПВП в крови у крыс, чем препараты сравнения 4, 5 ($p < 0,05$) (прил. 3 табл. 3, стр. 164).

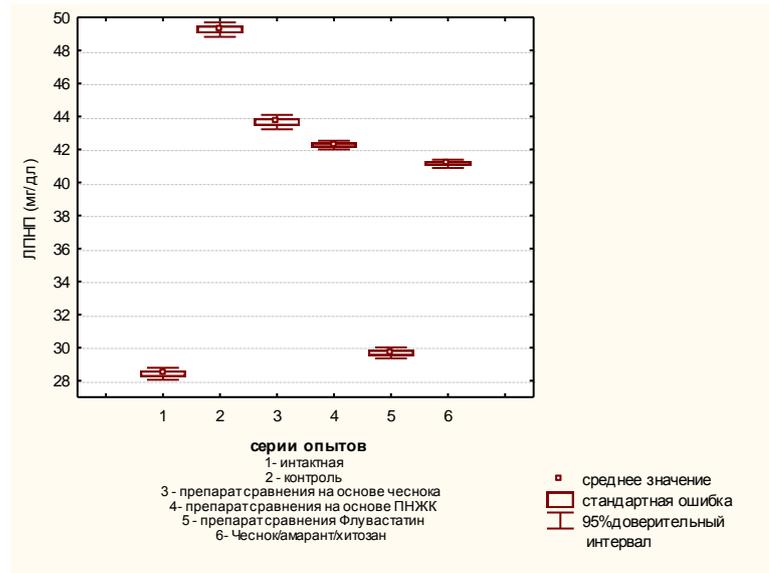


Рис. 14. Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на показатели ЛПНП у крыс при витаминной модели ГЛП.

Содержание ХС ЛПНП всех групп значительно различалось ($p < 0,05$). Так, сочетание чеснок/ амарантовое масло/ хитозан достоверно снижает ХС ЛПНП у крыс, как по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$), так и по сравнению с препаратом сравнения 3,4 ($p < 0,01$), однако это снижение значительно меньше по сравнению с применением Флувастатина ($p < 0,01$).

95%-ый ДИ всех групп не перекрывались, то есть различия КА всех групп значимы ($p < 0,05$).

Наиболее близкими значениями КА к таковым в интактной группе были КА в группе препарата сравнения Флувастатин и в 6 опытной группе (прил. 3 табл. 3, стр. 164).

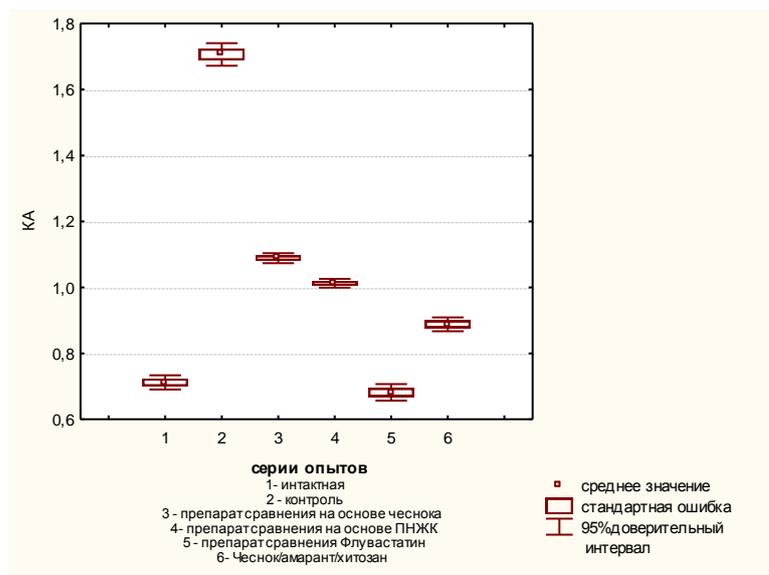


Рис. 15. Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на КА у крыс при витаминной модели ГЛП.

Так, показатель атерогенности исследуемого комплекса чеснок/амарантовое масло/ хитозан при витаминной модели гиперлипидемии ($KA=0,89\pm 0,03$), что ниже аналогичного показателя для препарата сравнения 3 ($KA=1,09\pm 0,02$), при уровне значимости $p<0,01$ (прил. 3 табл. 3, стр. 164).

5.2 Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на липидный профиль у крыс на твиновой модели гиперлипидемии

При изучении гиполипидемических свойств сочетанного применения чеснока, масла амарантового, а также волокон хитозана на парентеральной (твиновой) модели у животных, у данного сочетания веществ был выявлен липид-корректирующий эффект. Сила липид-корректирующего эффекта комплекса расценивалась относительно потенциала снижения атерогенных показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП), и повышения антиатерогенных показателей (ЛПВП). Влияние сочетанного применения исследуемых веществ на липидный профиль у крыс на твиновой модели гиперлипидемии представлены в нижеследующей таблице.

Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на липидный профиль у крыс при твиновой модели гиперлипидемии

Твиновая модель гиперлипидемии						
Крысы	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС (мг/дл)	ТГ (мг/дл)	ЛПВП (мг/дл)	ЛПНП (мг/дл)	КА
		М±σ	М±σ	М±σ	М±σ	М±σ
5	Интактная ⁽¹⁾	74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
6	Контроль ⁽²⁾	114,2±0,3	75,4±0,4	38,5±0,5	61,5±0,3	1,97±0,03
6	Препарат сравнения ⁽³⁾	93,8±0,2*# ' ° -17,9%	58,4±0,4*# ' ° - 22,6%	41,9±0,3*# ' ° + 8,9%	53,5±0,5*# ' ° - 12,9%	1,24±0,01*# ' ° -37,1%
6	Препарат сравнения ⁽⁴⁾	96,2±0,2*^ ' ° -15,8%	62,6±0,2*^ ' ° -17,0%	44,0±0,1*^ ' ° +14,3%	51,3±0,4*^ ' ° -16,6%	1,19±0,01*^ ' ° -39,6%
6	Препарат сравнения ⁽⁵⁾	78,0±0,4*^# ' ° -31,7%	64,5±0,5*^# ' ° -14,5%	43,3±0,9*^ ' ° +12,5%	36,8±0,5*^# ' ° -40,1%	0,80±0,05*^# ' ° -59,4%
6	Чеснок/ Амарант/ Хитозан ⁽⁶⁾	87,9±0,2*^# ' ° - 23,0%	59,7±0,4*^# ' ° - 20,9%	43,3±0,2*^ ' ° + 12,6%	51,6±0,3*^ ' ° - 16,0%	1,03±0,01*^# ' ° -47,7%

Примечание: критерий Крускал-Уоллес:

* – достоверность по отношению к контролю ($p < 0,001$);

^ – достоверность по отношению к препарату сравнения 3 ($p < 0,05$);

– достоверность по отношению к препарату сравнения 4 ($p < 0,05$);

° – достоверность по отношению к препарату сравнения 5 ($p < 0,05$);

' – достоверность по отношению к интактной группе ($p < 0,001$);

Из таблицы 8 следует, что сочетанное применение чеснока, амарантового масла и хитозана при твиновой модели ГЛП статистически-значимо ещё более снижает концентрацию атерогенных показателей липидного профиля плазмы крови животных, в частности ОХС (- 23,0 %), ТГ (- 20,9 %) и ЛПНП (- 16,0 %), достоверно повышает уровень

антиатерогенного ХС ЛПВП (+ 12,6 %) при уровне значимости $p < 0,05$ относительно здоровых животных, группы контроля и препарата сравнения.

Использование сочетания чеснок/ амарантовое масло/ хитозан достоверно снижало показатели ОХС в крови у крыс по отношению к контролю ($p < 0,001$). Показатели уровня ОХС при применении данного сочетания были достоверно лучше, чем при использовании препарата сравнения 3 ($p < 0,01$).

Применение сочетания чеснок/ амарантовое масло/ хитозан достоверно снижает показатель ТГ почти до уровня препарата сравнения при уровне значимости $p < 0,001$ относительно группы контроля.

Показатели повышения ЛПВП за счёт сочетания чеснок/ амарантовое масло/ хитозан почти достоверно схожи с показателями интактной группы ($p < 0,001$). Использование данного сочетания достоверно лучше повышает концентрацию ЛПВП в крови у крыс, чем препарат сравнения 3 ($p < 0,01$).

Сочетание чеснок/ амарантовое масло/ хитозан достоверно снижает ЛПНП у крыс, по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). Использование данного сочетания достоверно лучше снижает концентрацию ЛПНП в крови у крыс, чем препарат сравнения 3 ($p < 0,01$).

Показатель атерогенности исследуемого комплекса чеснок/амарант/ хитозан при твиновой модели гиперлипидемии ($КА = 1,03 \pm 0,01$), что ниже аналогичного показателя у препарата сравнения 3 ($КА = 1,24 \pm 0,01$), при уровне значимости $p < 0,05$.

Полученные данные указывают на усиленный гиполипидемический эффект от сочетанного применения порошка чеснока, амарантового масла и хитозана при холестериневой нагрузке.

Таким образом, каждый из компонентов обладает гиполипидемическими свойствами, которые синергизируют с аналогичными свойствами остальных составляющих.

Примечательно, что гипополидемическое действие изучаемых компонентов было более заметным в ходе твиновой модели гиперлипидемии.

5.3 Изучение безопасности сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана

Результаты изучения клинической картины отравления (масса тела, гибель животных и т.д.) на фоне введения животным через зонд больших доз (1500 – 4900 – 7400) мг/кг нового комплекса чеснок/ амарантовое масло/ хитозан показали, что во всех группах крыс в диапазоне доз (1500 – 4900 – 7400) мг/кг в течение всего периода наблюдения не регистрировались признаки интоксикации и гибель животных.

В результате отсутствия показателя гибели животных, отсутствовала возможность определения показателя полуметальной дозы (ЛД50).

Таблица 9

Результаты исследования острой токсичности нового гипополидемического комплекса (чеснок/амарантовое масло/ хитозан) при пероральном введении

Группа	Доза препарата (мг/кг)	Количество крыс (шт.)	Из них пало	Клиника интоксикации
контроль – 1	-	5	-	Отсутствует
2	1500	5	-	Отсутствует
3	4900	5	-	Отсутствует
4	7400	5	-	Отсутствует

Исходя из действующих нормативов определения классов токсичности (опасности) химических веществ ГОСТ 12.1.007-76, изучаемый гипополидемический состав следует отнести к IV классу (мало опасные), где пероральная полуметальная доза (ЛД50) составляет более 5000 мг/кг.

Таким образом, новый гипополидевический состав относится к IV классу токсичности (опасности) химических веществ – малоопасные вещества.

ГЛАВА 6: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЧЕСНОКА, АМАРАНТОВОГО МАСЛА И ХИТОЗАНА

На основании разработанных теоретических положений, благодаря использованию экспериментальных методов исследования был создан комплекс веществ природного происхождения на основе сочетания чеснока, амаранта и хитозана, как альтернатива широкому спектру медикаментозных препаратов при лёгких формах гиперлипидемии, а также в качестве дополнения к медикаментозной терапии на более поздних стадиях заболевания. По силе суммарный гиполипидемический эффект от сочетанного применения указанных веществ превышал гиполипидемический эффект каждого из них в отдельности. Данный эффект был построен на синергизме гиполипидемического действия каждого из компонентов комплекса по отдельности. Так в нашем исследовании было выявлено, что хитозан статистически-значимо лучше снижал ОХС, амарант повышал ХС ЛПВП, а чеснок снижал ТГ.

Наше исследование выявило, что поликомпонентный состав на основе сочетания чеснока, амаранта и хитозана, наносил удар по всему спектру липидов крови животных с экспериментальной гиперлипидемией.

6.1 Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на показатели перекисного окисления липидов

При оценке влияния нового комплекса на показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты организма (АОЗ) на витаминной и твиновой моделях (см. *Материалы и методы*) было выявлено, что сочетание чеснока, амарантового масла и хитозана обладает существенной антиоксидантной активностью.

Коэффициент вариабельности в группах не превышал 11,5%, что позволило получить достоверные различия на небольшом количестве животных.

Было установлено, что под влиянием испытуемого натурального комплекса, содержание малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК) в сыворотке крови крыс снижается по сравнению с контролем на 40 и 28 % соответственно, а активность каталазы повышается по сравнению с соответствующими данными у животных контрольной группы на 52 % ($p < 0,05$).

Ниже представлен набор графических иллюстраций по теме (прил. 4 табл. 4, стр. 164).

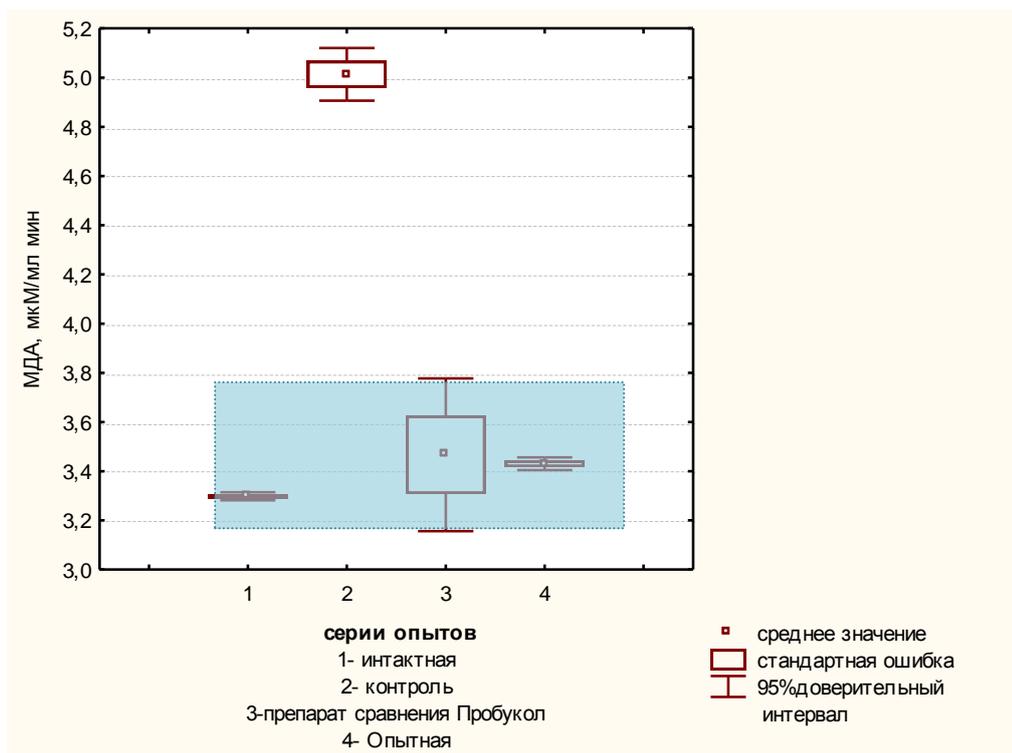


Рис. 16. Влияние нового комплекса на показатель МДА в крови у крыс при витаминной модели ГЛП.

Согласно рисунку 16, новый комплекс статистически-значимо снижает показатель МДА почти до уровня интактной группы ($p < 0,001$) при уровне значимости $p < 0,05$ по отношению к контролю.

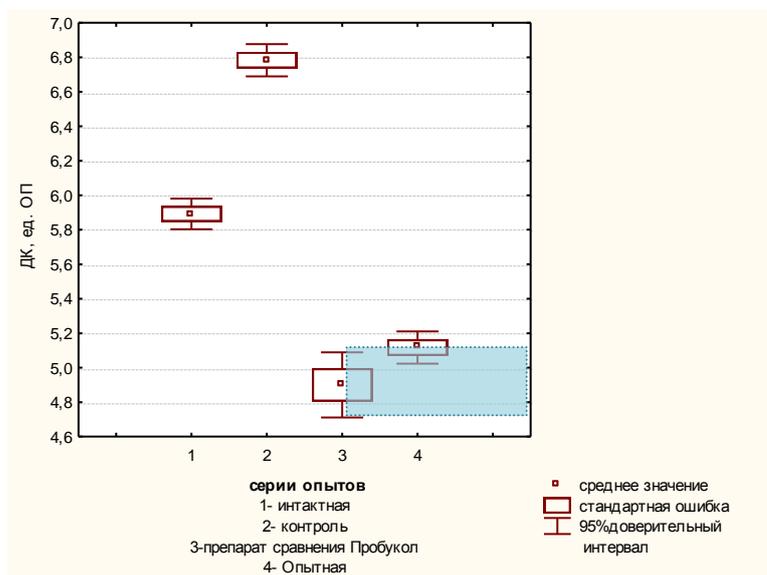


Рис. 17. Влияние нового комплекса на показатель ДК в крови у крыс при витаминной модели ГЛП.

Согласно рисунку 17, новый комплекс достоверно снижает показатель ДК ниже уровня интактной группы ($p < 0,001$), но выше уровня группы препарата сравнения 3 ($p < 0,01$) (прил. 4 табл. 4, стр. 164).

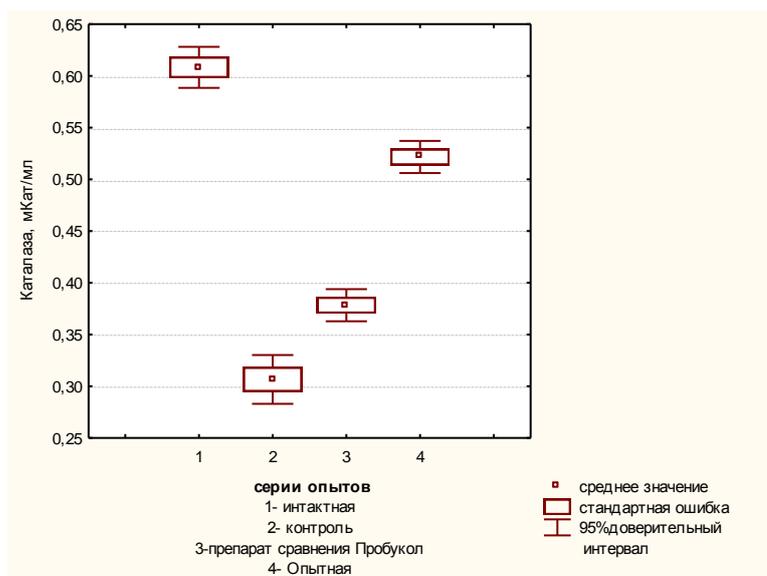


Рис. 18. Влияние нового комплекса на показатель каталазы в крови у крыс при витаминной модели ГЛП.

Согласно рисунку 18, новый комплекс достоверно снижает концентрацию каталазы ниже уровня интактной группы ($p < 0,001$), и группы препарата сравнения ($p < 0,01$) (прил. 4 табл. 4, стр. 164).

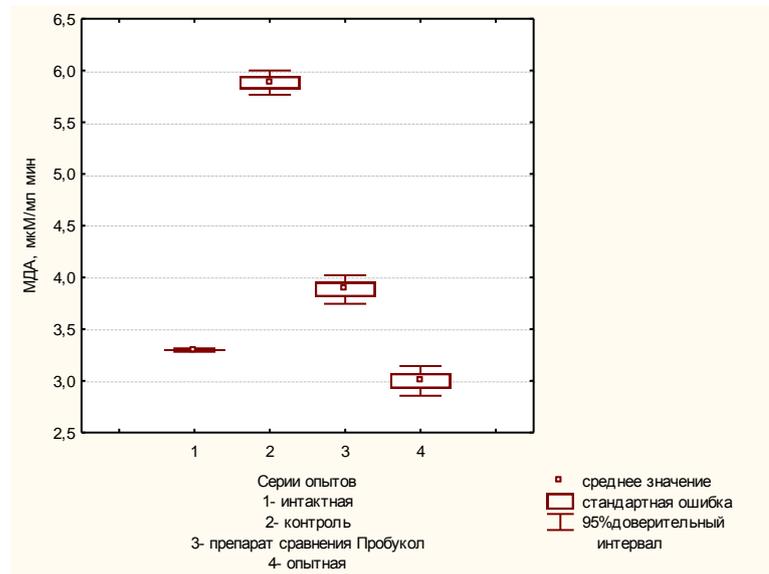


Рис. 19: Влияние нового комплекса на показатель МДА в крови у крыс при твиновой модели ГЛП.

Согласно рисунку 19, новый комплекс достоверно снижает показатель МДА, одного из продуктов ПОЛ, ниже уровня интактной группы ($p < 0,001$).

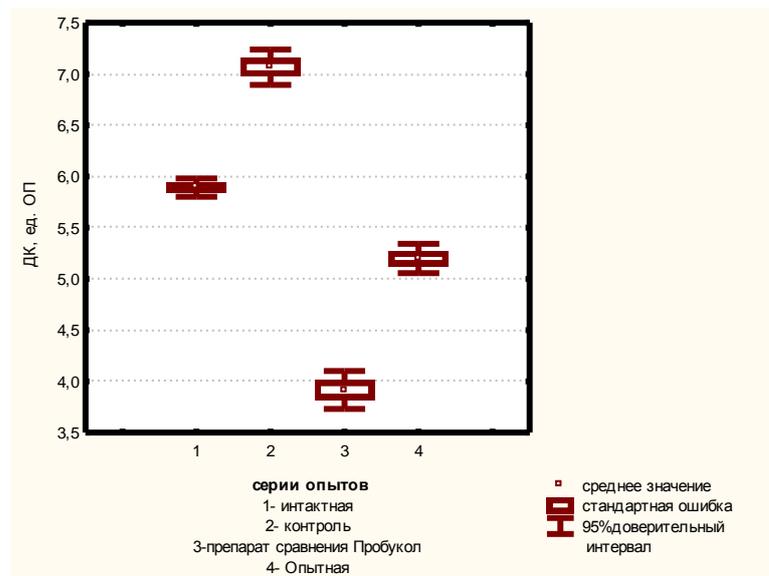


Рис. 20. Влияние нового комплекса на показатель ДК в крови у крыс при твиновой модели ГЛП.

Согласно рисунку, новый комплекс достоверно снижает показатель ДК ниже уровня интактной группы ($p < 0,001$), но не достигает уровня группы препарата сравнения ($p < 0,01$) (прил. 4 табл. 4, стр. 164).

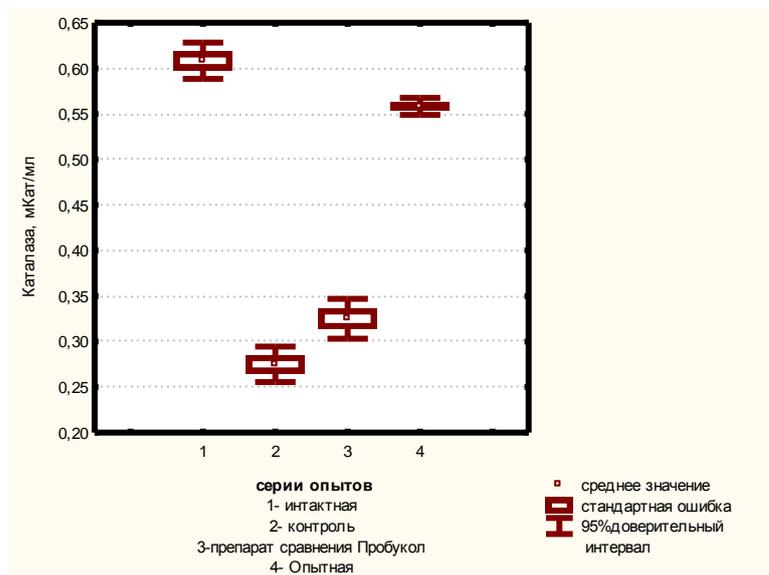


Рис. 21. Влияние нового комплекса на показатель каталазы в крови у крыс при твиновой модели ГЛП.

Согласно графику, активность каталазы при применении нового комплекса достоверно ниже активности данного фермента у интактной группы при твиновой модели ГЛП ($p < 0,001$). Тем не менее, данная активность для нового сочетания превосходит аналогичную у групп контроля и препарата сравнения ($p < 0,01$) (прил. 4 табл. 4, стр. 164).

Исходя из полученной картины нормализации антиоксидантных свойств крови крыс при введении указанного сочетания на фоне экспериментальной ГЛП, можно сделать вывод, что новый комплекс обладает антиоксидантной активностью. Это в свою очередь ведёт к задержке развития процессов свободно-радикального окисления, отрицательно сказывающихся на развитие гиперлипидемии и прогрессирования АС.

6.2 Эмульгирующие свойства чеснока в маслах оливковом, амарантовом и льняном

В рамках работы были изучены эмульгирующие свойства чеснока с целью обосновать выбор пастообразной лекарственной формы для поликомпонентного препарата на его основе. Полученные результаты позволили выдвинуть гипотезу о ранее незаявленном механизме гиполипидемического действия чеснока, основанную на эмульгирующих свойствах этого продукта.

Эмульгирующие свойства чеснока изучали с помощью двух способов: метода камеры Горяева и метода количественного определения.

6.2.1. Метод камеры Горяева

Согласно методике, в 1 мм³ эмульсии должно было получиться не менее 10 млн. жирных капель, что продемонстрировало наше исследование.

Ниже в таблице-11 представлены показатели эмульгирующих свойств чеснока в каждом из трёх масел:

Таблица 10

Количество жирных капель в 1 мм³ эмульсии чеснока в оливковом, льняном и амарантовом маслах – данные получены при помощи камеры Горяева.

Показатель	N	ДИСПЕРСНОСТЬ ЭМУЛЬСИИ (млн жир. капель/ мм ³)	
		M±σ (млн жир. капель/ мм ³)	Пределы (млн жир. капель/ мм ³)
чеснок/льняное масло ¹	5	14,40 млн±1,71 млн	12,10 млн-16,80 млн
чеснок /амарант ²	5	18,15 млн±2,97 млн	13,98 млн-21,65 млн
чеснок/ оливковое масло ³	5	10,90 млн±1,96 млн	8,97 млн-13,62 млн

Примечание: $p_{1-2} = 0,016$, $p_{1,2-3} = 0,009$, критерий Крускала-Уоллеса

Из таблицы 10 следует, что дисперсность в серии опытов 1,2,3 достоверно различалась ($p < 0,05$). Статистически-значимая большая

дисперсность была у представителей серии (чеснок/ амарантовое масло, чеснок/ льняное масло).

Наилучшую диспергирующую способность чеснок проявил в сочетании с амарантовым маслом. Данный показатель для указанной серии опытов соответствовал значению $18,15 \text{ млн} \pm 2,97 \text{ млн}$ в пределах $13,98 \text{ млн} - 2,16 \text{ млн}$ жир. капель. / мм^3 . Коэффициент вариабельности значений дисперсности равнялась в 1 опыте 11,9%, во 2 опыте 16,4%, в 3 опыте 18%, то есть была однородной (менее 33%), что позволило использовать минимальное количество опытных групп.

Полученные результаты доказывают выдвинутые предположения о том, что чеснок обладает эмульгирующим действием. Это действие отличается в зависимости от использованного в эмульсии масла. Из таблицы следует, что лучшие свои эмульгирующие свойства чеснок показал в амарантовом и льняном, и только после, в оливковом маслах.

6.2.2. Метод количественного определения

Данные таблицы 11 подтверждают эмульгирующие свойства чеснока. Из таблицы 11 следует, что диспергирующие свойства во всех трёх сериях опытов достоверно различается при уровне значимости $p < 0,05$. Коэффициенты вариабельности жировой фазы в 1,2,3 опытах составили 0,7%, 0,72% и 0,53% соответственно, то есть показатель однороден.

Наилучшую диспергирующую способность показала серия опытов (чеснок/ амарантовое масло, чеснок/ льняное масло).

Процентное соотношение жировой фазы для данного сочетания соответствовала ($98,4 \pm 0,7$) и ($96,7 \pm 0,7$), соответственно.

Процентное соотношение жировой фазы эмульсии чеснока в оливковом, льняном и амарантовом маслах – данные получены при помощи метода количественного определения

Показатель	N	КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ (%)	
		M±σ (%)	Пределы (%)
чеснок/амарант ¹	5	98,4±0,7	97,3-99,0
чеснок/льняное масло ²	5	96,7±0,7	95,8-97,45
чеснок/оливковое масло ³	5	94,7±0,5	94,1-95,3

Примечание: $p_{1-2} = 0,016$, $p_{1,2-3} = 0,009$

Согласно данным таблицы 11, свои лучшие эмульгирующие свойства чеснок проявлял в амарантовом и льняном, и только в последнюю очередь, в оливковом масле.

Таким образом, данные обоих методов подтверждают как наличие у чеснока эмульгирующих свойств, так и то, что статистически значимо более выраженные эмульгирующие свойства чеснок проявлял в амарантовом и льняном масле. Эмульгирующие свойства чеснока в оливковом масле оказались худшими на уровне значимости $p < 0,001$, относительно интакта и контроля.

Результаты, полученные в ходе настоящего исследования, позволили выдвинуть гипотезу о ранее не заявленном механизме гиполипидемического действия чеснока, основанном на эмульгирующих свойствах этого продукта. Это, в свою очередь, позволяет рассматривать эмульгирующий механизм действия препаратов на его основе. Таким образом, согласно полученным данным, чеснок, подобно выделяемым в просвет кишечника желчным кислотам, может эмульгировать липиды в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Это, в свою очередь, способствует ускорению метаболизма липидов и выводу их из организма, препятствует повышению их уровня в крови и кумуляции в тканях. Ранее, в многочисленных работах, снижение

холестерина (ХС) при помощи чеснока было обусловлено лишь подавлением его синтеза в печени, главным образом, на уровне ГМГ-КоА-редуктазы.

6.3 Сорбционные свойства пектина, хитозана и альгината

В соответствии с изложенной во второй главе методикой, в рамках проведенного исследования были определены сорбирующие (липидсвязывающие) свойства энтеросорбентов хитозана, альгинатов и пектина в отношении триглицеридов и жирных кислот, подобно тому, как это происходит в организме.

Проведённое нами исследование подтвердило наличие сорбционных возможностей у хитозана, пектина и альгинатов. Сравнительное изучение сорбционной ёмкости у данных ПВ выявило у хитозана на сорбционные свойства, достоверно превосходящие аналогичные у альгинатов ($p=0,027$), и практически не уступающие сорбционным свойствам пектина ($p>0,05$). Коэффициенты вариабельности ТГ в 1,2,3 группах составили 2,0%, 1,2% и 14,3% соответственно.

Таблица 12

Сравнительная сорбирующая способность хитозана, альгината и пектина по отношению к ТГ и ЖК

Показатель	N	ТГ (г/г)		ЖК (г/г)	
		М±σ	Пределы	М±σ	Пределы
Пектин ¹	5	4,53±0,09	4,49-4,69	3,22±0,04	3,17-3,27
Альгинаты ²	5	4,16±0,05	4,10-4,21	3,17±0,03	3,13-3,21
Хитозан ³	5	4,38±0,59	3,35-4,75	3,21±0,06	3,15-3,29

Примечание: $p_{1-2} < 0,027; p_{1,2-3} > 0,05$

Данные, представленные в таблице-13 доказывают наличие сорбционных свойств у волокон хитозана, пектина и альгинатов в отношении основных липидных составляющих - ТГ и ЖК.

Согласно таблице, пектин статистически-значимо отличается лучшими сорбционными свойствами по сравнению с альгинатами ($p < 0,027$). Показатели данных свойств пектина в отношении ТГ соответствовали $4,53 \pm 0,09$ г/г, а в отношении ЖК $3,22 \pm 0,04$ г/г, соответственно. Показатели данных свойств альгината в отношении ТГ соответствовали $4,16 \pm 0,05$ г/г, а в отношении ЖК $3,17 \pm 0,03$ г/г, соответственно. Исследование не выявило статистически-значимых различий между 1 и 3 группами, а также между 2 и 3 ($p > 0,05$).

Таким образом, в рамках проведенного исследования были экспериментально подтверждены адсорбирующие (липидсвязывающие) свойства хитозана в отношении триглицеридов и жирных кислот, подобно тому, как это происходит в организме.

Согласно статистической обработке результатов таблицы 12 следует, что сорбционная емкость хитозана практически не отличается от аналогичной у альгинатов, и почти не уступает таковой у пектинов.

Тем не менее, хитозан показал себя «жиропоглотителем», действие которого направлено на сорбцию жирных кислот и триглицеридов в условиях кишечника. Его липид-связывающие способность по ЖК составляет 3,21, по ТГ – 4,13 г/г.

С другой стороны, практически не уступая в сорбционных свойствах пектину, хитозан обладает меньшей способностью адсорбировать на себе масло амаранта, обладающее мощным гиполипидемическим эффектом. Это свойство может сыграть положительную роль при сочетании хитозана с амарантовым маслом в комплексе.

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Являясь этиологической основой большинства ССЗ, атеросклероз (АС) признан «неинфекционной пандемией XXI века» (Сусеков А.В., Зубарева М.Ю., Кухарчук В.В., 2002). В настоящее время АС является наиболее распространённым и социально значимым заболеванием в мире, а его клинические проявления, ведущее место среди которых занимают ишемическая болезнь сердца (ИБС) и острый инфаркт миокарда (ОИМ) в течение последних десятилетий прочно занимают первое место в структуре заболеваемости и смертности в экономически развитых странах (Assmann G., Cullen P., Schulte H., 2002).

Самым ранним проявлением АС служит накопление внутри - и внеклеточных липидов в интиме. Накопление внутриклеточных липидов (липидоз), главным образом эфиров ХС, в клетках субэндотелиальной интимы сопровождается стимуляцией их пролиферативной активности и синтеза внеклеточного матрикса (фиброз) (Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A. et al., 1990). Перегрузка внутриклеточными липидами, в частности эфирами ХС, ведёт к образованию так называемых пенистых клеток, цитоплазма которых переполнена липидными включениями в форме жировых капель. Источниками данных жировых накоплений в пенистых клетках являются только химически модифицированные ЛПНП, циркулирующие в крови. Нативные ЛПНП не вызывают образования пенистых клеток (Austin M.A., Breslow J.L., Hennekens C.H. et al., 1988; Avogaro P., Bittolo Bon G., Cazzalato G., 1988; Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N., et al., 1989). Накопление внутриклеточных липидов, вызванное модифицированными ЛПНП, сопровождается усилением пролиферации и стимуляцией синтеза внеклеточного матрикса. В результате, атерогенные модифицированные ЛПНП способны вызвать в сосудистой стенке все основные проявления АС на клеточном уровне: липидоз, фиброз и пролиферацию (Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A. et al., 1990).

Учитывая, что АС характеризуется набором определённых морфологических, гистологических и гемореологических изменений в крупных сосудах, действительными целями при лечении данной патологии должны стать остановка роста атеросклеротических поражений, сокращение липидного ядра и стабилизация бляшки, что в конечном итоге должно привести к регрессии поражения (Собенин И.А., Филатова Л.В., Скалбе Т.А., Орехов А.Н., 2000).

Статины, ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А редуктазы (ГМГ-КоА-редуктазы), являются неотъемлемым компонентом стратегии сердечно-сосудистой профилактики. Ввиду широкого применения статинов (Aitken M., 2011) всё чаще обсуждаемых в литературе вызванных ими и другими химическими гиполипидемическими средствами побочных явлений (Петров В.И., Смусева О.Н., Соловкина Ю.В., 2012), актуальным представляется вопрос поиска их альтернативы или замены.

Среди потенциальных антиатеросклеротических лекарственных средств особое место по праву занимают традиционные натуральные продукты. Комплексные растительные препараты имеют ряд преимуществ перед монопрепаратами. В частности, благодаря сложному и сбалансированному химическому составу, рациональному сочетанию биологически активных веществ, они оказывают многостороннее действие на организм: воздействуют, с одной стороны, непосредственно на очаг поражения, с другой стороны, обеспечивают фармакологическую коррекцию различных функциональных систем. Кроме того, синергизм, проявляющийся при сочетанном применении природных компонентов в комплексах позволяет усилить полезные свойства каждого из составляющих (Асеева Т.А., Блинова К.Ф., Яковлев Р.П., 1989). Продолжаются исследования целого ряда средств, применяемых для коррекции факторов риска (ФР) атеросклероза (в первую очередь, гиперлипидемии), ведутся поиски наиболее оптимальных (безопасных, эффективных, обладающих плеiotропным, многофакторным действием) среди них (Волкова Э.Г., 2005; Карачаров А.Т.

1999; Кобалава, Ж.Д., 2005. Кухарчук, В.В., 1996; Ланкин В.З., Тихазе А.К., Каминная В.И., 2000; Собенин И.А., 1999).

Актуальным представляется применение натуральных препаратов на основе чеснока, известных умеренными гиполипидемическими свойствами (Аникин, В.В., 1999; Моисеев С.В., 1997; Собенин И.А., 1999), и характеризующихся хорошей переносимостью, минимумом побочных эффектов и низкой стоимостью, а также обладающих pleiotropic действием. Не менее актуальным предстаёт сочетанное применение натурального поликомпонентного комплекса на его основе (Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Павлова Л.А., 2013).

Вышесказанное совпадает с одной из задач нашей работы - рассмотрение возможности сочетанного применения чеснока совместно с одним из представителей растительных масел и пищевых волокон, как альтернативу широкому спектру медикаментозных препаратов, применяемых в лечении дислипидемии (ДЛП). Преимуществом данного подхода было не столько создание «конкурента» сильнейшим на сегодняшний день гиполипидемическим препаратам (статинам, фибратам, никотиновой кислоте), сколько акцентировать внимание на синергическом эффекте комплекса природных компонентов, каждый из которых по отдельности известен своими гиполипидемическими и антиатерогенными свойствами. Исследованные природные компоненты не имеют побочного действия, в отличие от фибратов, статинов и других известных на фармацевтическом рынке синтетических препаратов гиполипидемического действия.

Изучение эмульгирующих свойств чеснока было продиктовано комплексной составляющей поликомпонентного препарата (чеснок, амарантовое масло, хитозан) с одной стороны, и химическим составом чеснока, с другой.

Именно химический состав чеснока стал отправной точкой в поиске его эмульгирующих свойств. Известно, что наряду с сераорганическими веществами в состав чеснока входят: белки, углеводы, эфирные масла,

макроэлементы и микроэлементы, витамины, фитостерины, фитонциды, сапонины, гликозиды, простагландины, органические кислоты, азотсодержащие вещества и многие другие (Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Павлова Л.А., 2013).

С целью изучения эмульгирующих свойств чеснока, была приготовлена масляная эмульсия для внутреннего применения (*Emulsa ad usum interum*) на его основе, аналогично методикам, приведённым в дис. работе Мансурхановой И. М., (1967 г) и дополненным нами в рамках данного исследования. Согласно этим методикам, чесноку отводилась роль эмульгатора, а волокнам - роль стабилизатора (Мансурханова И.М., 1967).

Таким образом, в нашем случае, для приготовления эмульсии были использованы растительные масла, известные своим гиполипидемическим действием (амарантовое масло, оливковое и льняное). Продукты, богатые на пищевые волокна (пектин, хитозан или альгинаты) должны были быть добавлены позже, в качестве стабилизатора к уже образовавшейся эмульсии (масло/ чеснок), показавшей лучшую эмульгирующую способность.

Полученные при помощи методик камеры Горяева и количественного определения данные (табл. 2, 3) подтвердили выдвинутые предположения об эмульгирующих свойствах чеснока. Эти свойства чеснока недостаточно освещены в литературе.

Результаты, указанные в таблицах 2, 3 показали зависимость эмульгирующего эффекта чеснока от использованного в приготовлении эмульсии масла. Из таблиц 2, 3 следует, что лучшие свои эмульгирующие свойства порошок чеснока показал в льняном и амарантовом маслах. В оливковом масле, данные свойства чеснока были менее перспективными. Этот эффект можно объяснить гидрофильностью эмульгатора, а также наличием в льняном масле наибольшего количества полярных групп, соответствующих данной гидрофильности. Оливковое масло, соответственно, содержит в своём составе большее количество гидрофобных групп. Кроме того, велика вероятность наличия в исследуемых маслах примесей (присутствие

электролитов в воде), что в свою очередь сказывается на результатах, и находит отражение в разнящихся эмульгирующих свойствах чесночного компонента.

Данные, полученные в ходе настоящего исследования, позволили выдвинуть гипотезу о ранее не заявленном механизме гиполипидемического действия чеснока, основанном на эмульгирующих свойствах этого продукта. Эти свойства чеснока позволяет выдвинуть гипотезу об эмульгирующем механизме действия препаратов на его основе. Согласно полученным данным, чеснок, подобно выделяемым в просвет кишечника желчным кислотам, может эмульгировать липиды в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Это в свою очередь, способствует ускорению метаболизма липидов и выводу их из организма, препятствует повышению их уровня в крови и кумуляции в тканях. Ранее, в многочисленных работах снижение холестерина (ХС) при помощи чеснока было обусловлено лишь подавлением его синтеза в печени главным образом на уровне ГМГ-КоА-редуктазы (Моисеев С.В., 1997; Gebhardt R., Beck H., 1996; Gerhardt R., 1993; Isensee H., 1993; Neil A., 1994).

В соответствии с методикой, изложенной Waldstein J. и др., (2000), дополненной Куприной Е. Э. и др., (2004), в рамках проведенного исследования были определены адсорбирующие (липид-связывающие) свойства энтеросорбентов хитозана, альгинатов и пектина в отношении триглицеридов и жирных кислот, подобно тому, как это происходит в организме. Согласно результатам таблицы 4 следует, что сорбционная емкость хитозана превосходит аналогичную у альгинатов, и почти не уступает таковой у пектинов. Хитозан показал себя «жиропоглотителем», действие которого направлено на сорбцию жирных кислот и триглицеридов в условиях кишечника. Его липидосвязывающие способность по ЖК составляет 3,22, по ТГ – 4,53 г/г. Эти результаты коррелируют с данными, представленными в работе Куприной Е. Э. и др., (2004). В работе показано, что хитозаны

являются наиболее перспективными энтеросорбентами (Куприна Е.Э., Осипова Е.В., Бачище Е.В., 2004; Waldstein J. et al., 2000).

На протяжении последних десяти лет, были предприняты попытки установить связь структуры некрахмальных полисахаридов с их фармакологической активностью, например, с механизмом гипохолестеринемического действия (Trautwein E.A. et al., 1998b; , Yamaguchi F. et al., 1995), воздействием на активность микрофлоры кишечника (Langhout D.J., Schutte J.B., Van Leeuwen P. et al., 1999), сорбцией желчных кислот (Dongowski G., 1995). Структура природных некрахмальных полисахаридов значительно варьирует в зависимости от источника получения, методов экстракции, обработки и условий проведения эксперимента. Пектин в нашем эксперименте обладал высокой степенью этерификации (> 60 %). Это коррелировало с данными работы Хотимченко М.Ю. (2011), в которой была установлена зависимость связывающей способности природных полисахаридов в отношении холевой кислоты (монокарбоновая триоксикислота из группы желчных кислот) с их степенью этерификации (Кочеткова А.А., 1992; Хотимченко М.Ю., 2011).

Результаты нашей работы доказывают, что пектины с высокой степенью этерификации в несколько раз эффективней связывают холевые кислоты, по сравнению с низко-этерифицированными пектинами. Было сделано заключение о том, что при применении некрахмальных полисахаридов в качестве липидонор-мализующих средств, наиболее целесообразно использовать вязкие высоко-этерифицированные их формы. Это согласуется с заключением, полученным в работе Хотимченко М.Ю.

В ряде исследований, собранных Brownlee I. A et. al. (2005), была доказана связь между степенью вязкости альгинатов и их способностью связывать производные холевой кислоты (холаты). Согласно Brownlee I. A. et. al. (2005), альгина натрия высокой степени вязкости (от 900 сантипуазов) обладали более выраженной способностью связывать холаты. В нашем исследовании, мы применяли альгинаты натрия высокой степени вязкости

(1000). Следовательно, полученные нами результаты (табл. 6) были оптимальными для данного вида полисахаридов. Результаты нашей работы (табл. 6) также перекликаются с результатами работ Brownlee I. A. et al. (2005), Wang et al., (2001), в которых альгинаты значительно слабее пектинов связывают производные желчных кислот (альгинаты: 113 $\mu\text{mol/g}$, пектины: 73,4 $\mu\text{mol/g}$) (Brownlee I.A., Allen A., Pearson J.P. et al., 2005). Связываясь с желчными кислотами, изучаемые пищевые волокна уменьшают всасывание липидов (ТГ и жирных кислот) и тем самым снижают уровень ХС в крови.

Учитывая, что в рамках нашей работы, мы разрабатывали комплексный препарат, в состав которого будут входить не только пищевые волокна (энтеросорбенты), но и растительные масла, образованные из ТГ и жирных кислот (ЖК), принимался во внимание сам факт способности изучаемых сорбентов адсорбировать на своей поверхности жировую субстанцию. Таким образом, незначительно уступая в сорбционных свойствах пектину, хитозан был менее склонен адсорбировать на себе амарантовое масло, обладающее мощным гипополипидемическим эффектом.

Эмульгирующая способность чеснока в амарантовом масле и адсорбционные возможности хитозана обосновывают использование комплексного гипополипидемического средства на основе чеснока, равно как и целесообразность сочетанного применения данного продукта вместе с хитозаном и маслом амаранта. Полученные результаты дополняют ранее известные сведения о влиянии на липидный обмен каждого из этих компонентов по отдельности.

В основе нарушения обмена жиров могут лежать изменения функции липопротеинов (ЛП) плазмы крови и/или изменения их уровней и соотношений. Эти факторы сами по себе или в сочетании с другими факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) могут привести к развитию атеросклероза (Рекомендации европейского общества кардиологов (ESC), 2011). Наибольшее значение в развитии атеросклероза имеют ЛПНП (атерогенные ЛП) и ЛПВП (антиатерогенные ЛП). ЛПНП подвергаются

перекисному окислению, активируют моноциты, проникают в субэндотелиальное пространство сосудов, превращаются в макрофаги, а затем в пигментные клетки и играют важную роль в формировании атеросклеротической бляшки. Следовательно, ЛПНП являются главной мишенью гиполипидемической терапии.

Не менее важным является изучение уровней ОХС и ТГ крови. Свободный ХС участвует в образовании жирных кислот. Этерифицированный ХС (ЭХС) является результатом соединения с жирными кислотами, обнаруживается преимущественно в плазме крови, атеросклеротических бляшках. Триглицериды представляют собой эфиры жирных кислот, глицерина, входят в состав липопротеинов, в основном хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП).

Содержание жирных кислот и фосфолипидов в крови не связано с риском развития ИБС, поэтому они не обладают диагностической ценностью (Житникова Л.М., 2011).

Опираясь на вышесказанное, следующим этапом было сравнительное изучение влияния чеснока, оливкового масла, льняного масла, амарантового масла, пектина, альгината и хитозана на показатели липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП) у животных с экспериментально индуцированной гиперлипидемией (ГЛП).

Изучение антиатерогенных свойств по указанным показателям согласовывалось с результатами работ, в которых основной причиной развития АС назвалось увеличение в циркулирующей крови уровня ХС и развитие гиперхолестеринемии. Это могло быть связано, как с избыточной калорийностью пищи, избыточным содержанием в ней насыщенных жирных кислот и углеводов (высококоррафинированных), так и с эндогенными расстройствами (Calhoun D.A., 2006; Fukada Y., Kimura K. and Ayaki Y., 1991; Moncada S., Higgs A., 1993; Vercauteren M., Remy E., Bauer F., Mulder P. et al., 2006).

Для решения поставленных в исследовании задач животные были разделены на 2 основные подгруппы, в зависимости от методов моделирования гиперлипидемии. В нашей работе, мы индуцировали две модели гиперлипидемии у крыс: алиментарную и твиновую.

Алиментарная (витаминная) гиперлипидемия сопровождается усилением процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гепатоцитах на фоне антиоксидантной активности ферментов в цитолизе клеток, следствием чего является окислительная модификация ХС ЛПНП и проявление атерогенных свойств (Разыкова Г.В., 2012).

Механизм гиперлипидемического действия поверхностно-активного детергента Твин-80 обусловлен его способностью связывать липиды липопротеинов плазмы крови, образуя мицеллы, изолированные от действия фермента липопротеидлипазы (Климов А.Н., Рыженков В.Е., 1988). Параллельно этому, создаётся нарушение обмена липидной части липопротеинов между кровью и тканями (т.н. «дефицит липидов»). Последнее по механизму обратной связи стимулирует липолиз в жировой ткани, усиление синтеза триацилглицеридов (ТГ) и холестерина в печени и, в конечном итоге, усиленное образование холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП). Все это способствует развитию гиперлипидемии (ГЛП) (Климов А.Н., 1974).

Индуцирование ГЛП при помощи витаминной и твиновой методик совпадает с их сочетанием в работах И. М. Белая и др. (2011) и Yousufzai S.Y.K. et al., (1976), в рамках которых также проводилось изучение фармакодинамических свойств потенциальных гиполипидемических препаратов (Белай И.М., Остапенко А.А., 2011; Yousufzai S.Y.K.M., 1976). Гиполипидемические и антиатерогенные свойства чеснока доказаны десятком научных исследований за последние несколько лет (Hassan H.A., 2012; Lau Benjamin, H.S., 2001). Результаты нашего исследования доказали безусловную гиполипидемическую активность чеснока в отношении показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП и ЛПВП). Различные

этапы нашей работы продемонстрировали статистически-значимое снижение ОХС, ТГ, ЛПНП и повышение ЛПВП при применении порошка чеснока на витаминной и твиновой моделях ГЛП у крыс. При витаминной ГЛП, порошок чеснока статистически-значимо снижал показатели ОХС, ТГ, ЛПНП на 16,7%, 23,6%, 13,8%, соответственно и повышал ЛПВП на 9,6%. При твиновой ГЛП, порошок чеснока снижал показатели ОХС, ТГ, ЛПНП на 19,0%, 22,8% и 13,5%, соответственно, и повышал ЛПВП 9,9%. Эти данные коррелировали с результатами предыдущих исследований, продемонстрировавших снижение уровня ОХС, ТГ, ЛПНП и повышение ЛПВП при введении животным экстрактов чеснока на экспериментально индуцированной гиперхолестеринемии (Рыженков В.Е. ,2003; Andrianova I.V. 1996).

Согласно нашей работе, гиполипидемический эффект изучаемого порошка чеснока превосходил гиполипидемический эффект препаратов сравнения при на обоих моделях индуцированной ГЛП. Коэффициент атерогенности (КА) препарата сравнения на основе чеснока при витаминной модели составил 1,08, при твиновой 1,24. Данный показатель для порошка чеснока при витаминной модели составлял 1,05, при твиновой модели 1,18.

Это могло бы означать, что разные чесночные порошки обладают разной гиполипидемической активностью. Данное сравнение было проведено впервые, и ранее не освещалось в литературе.

Парное сочетание чесночного порошка и масел, особенно льняного и амарантового, в нашем исследовании, ещё более улучшало показатели липидного спектра крови и достоверно понижало ЛПНП, ОХС и ТГ, способствуя повышению ЛПВП при обоих моделях ГЛП у крыс (витаминной и твиновой). Подобные сочетания были проведены впервые: информации по ним в литературных источниках найдено не было. Тем не менее, данные улучшения показателей липидов крови за счёт сочетания чеснока с продуктом, богатым на НЖК в нашей работе коррелировали с результатами

исследований, похожей направленности (Mohamed M.S., Abdel-Kader M.M., Kassem S.S., 2011; Morcos N.C., 1997).

Среди наиболее перспективных сочетаний в данном ключе представлялись сочетания чеснока, амаранта и хитозана, относительно групп препаратов сравнения. Данное сочетание при витаминной ГЛП снижало атерогенные показатели ОХС, ТГ и ХС ЛПНП на 21,7 %, 20 % и 16,5 % соответственно, и повышало антиатерогенные, в частности ХС ЛПВП на 12,3 %. При твиновой ГЛП, ОХС, ТГ и ХС ЛПНП снижались на 23,0 %, 20,9 % и 16,0 %, ХС ЛПВП повышался на 12,6%. Эти и похожие данные объясняют высокий объём продаж чесночных препаратов в некоторых европейских странах, который сравним с объемами продаж наиболее часто используемых лекарств (Lawson L.D., 1993).

Антиатерогенные свойства чеснока обусловлены его химической составляющей. Исследования *in vitro* показали, что водорастворимые сераорганические соединения, особенно S-аллилцистеин, присутствующий в состаренном чесночном экстракте, а также диаллил дисульфид, также являются потенциальными ингибиторами синтеза ХС (Gebhardt R., Beck H., 1996; Sainani O.S., Desai D.B., Natu M.N. et al., 1979). Содержание общих липидов и холестерина в плазме у крыс понижалось после инъекции в брюшную полость смеси диаллил дисульфида и диаллил трисульфида (Pushpendran C.K. et al., 1980). Пероральное введение аллицина крысам в течение двух месяцев вызывало понижение содержания уровня общих липидов, ФЛ, ТГ и ОХС в сыворотке и в печени (Augusti K.T., Mathew P.T., 1974). Было показано, что удаление из чеснока серосодержащих соединений, в частности органических сульфидов и особенно S-алкил-производных цистеина (важнейшим из которых является Аллиин), практически полностью лишает данный продукт его биологической активности (Lawson L.D., Ransom D.K., Hughes B.G., 1992).

После приема чеснока внутрь, под действием фермента аллииназы, содержащейся в нем, аллиин в желудке и кишечнике превращается в алкил-

алканти-о-сульфинаты, основным из которых является аллицин (до 80%). Тиосульфиды - нестойкие соединения. Они быстро деградируют до сульфидов. Эти соединения всасываются в тонком кишечнике, и обнаруживаются через 4-24 часа в сыворотке крови, печени, почках, жировой ткани, выводятся почками с мочой и через выдыхаемый воздух легкими (Amagase H., Petesch B.L., Matsuura H., 2001; Egen-Schwind C., Eckard R., Jekat F.W., Winterhoff H., 1992; Rosen R.T., Hiserodt R.D., Fukuda E.K. et al, 2000; Rosen R.T., Hiserodt R.D., Fukuda E.K. et al, 2001; Sosova M., Sova P., 2001).

Несмотря на то, что гипополипдемический эффект чеснока часто объясняют его способностью ингибировать синтез ХС, доказано его прямое антиатерогенное и антиатеросклеротическое действие на толщину стенки артерии или сосуда (Моисеев С.В., 1997; Gerhardt R., 1993; H. Isensee, B. Rietz, R. Jacob, 1993).

Снижение содержания внутриклеточного ХС при приеме экстракта чеснока объясняется следующими механизмами: 1) чеснок активирует внутриклеточную холестерин-эстеразу, что в свою очередь приводит к усиленному гидролизу накопившихся эфиров; 2) чеснок ингибирует внутриклеточную ацил-КоА-холестеринацилтрансферазу, что препятствует образованию новых эфиров ХС в клетке. Данный фермент принимает участие в образовании эфиров ХС, которые составляют основную часть избыточного жира, накапливающегося в клетках. Недаром, в перегруженных эфирами ХС атеросклеротических клетках активность ацил-КоА-холестеринацилтрансферазы превышает в три раза его активность в нормальных клетках. Водный экстракт чеснока снижает эту активность до нормальных значений (Orekhov A.N., Tertov V.V., 1997).

Наряду с прямым антиатерогенным и антиатеросклеротическим действием чеснока на толщину стенки артерии или сосуда, было показано, что чеснок подавляет печеночную активность липогенных и холестерогенных ферментов таких, как малеиновый фермент, синтазы жирных

кислот, глюкоз-6-фосфат дегидрогеназа и ГМГ-КоА редуктаза (Gebhardt R., Beck H., 1996).

Указанные механизмы во многом объясняют полученные в ходе нашей работы результаты гиполипидемических свойств порошка чеснока. Так, механизм гипохолестеринемического и гиполипидемического действия чеснока, по-видимому, в основном обусловлен угнетением ГМГ-КоА редуктазы печени, и перестройкой липопротеинов плазмы и клеточных мембран.

С другой стороны, полученные в ходе нашего исследования результаты позволили выдвинуть предположение о другом гиполипидемическом механизме действия чеснока, основанном на его эмульгирующих свойствах.

Чеснок повышает скорость выведения ХС, что следует из увеличения скорости выведения окисленных и натуральных стероидов после его употребления.

Исследования чеснока также показывают, что подавление окисления ЛПНП может быть одним из основных механизмов благоприятного действия этого продукта при АС (Lau Benjamin H.S., 2001). Водный экстракт чесночного порошка подавляет формирование диеновых конъюгатов, которые сопровождают перекисное окисление ЛПНП в присутствии ионов меди (Дзизинский А. А., 1997). Среди мотиваций подавления чесноком окисления ЛПНП способность его компонентов ингибировать свободно-радикальные процессы, и гасить или подавлять гидроксильный радикал (Popov I., Blumstein A., Lewin G., 1994). Атерогенные ЛПНП больных характеризуются низким содержанием сиаловой кислоты в сравнении с нативными ЛПНП здоровых лиц. Десиалирование ЛПНП индуцирует в последних атерогенные свойства (Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N., et al., 1989). Десиалированные ЛПНП вызывают накопление ХС в артериальных клетках из-за более высокой скорости захвата. Таким образом, чем ниже содержание сиаловой кислоты в ЛПНП, тем выше их атерогенность. Использование чесночного порошка увеличивает содержание

сиаловой кислоты в ЛПНП вплоть до нормального уровня (Orekhov A.N., Tertov V.V., Sobenin I.A. et al., 1992).

Эти данные согласуются с результатами, полученными в рамках нашего исследования при изучении антиоксидантных свойств комплекса (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан). Выраженные антиоксидантные свойства комплексного состава (табл.13):

1) МДА=3,43±0,03 мкМ/ мл.мин, ДК=5,11±0,11 ед. ОП/ мл, Каталаза=0,52±0,01 мКат/мл) при витаминной модели ГЛП и уровне значимости $p<0,05$ по отношению к контролю (МДА=5,01±0,13 мкМ/мл мин, ДК=6,78±0,11 ед. ОП/мл, Каталаза=0,30±0,03 мКат/мл);

2) МДА=3,00±0,17 мкМ/ мл.мин, ДК=5,20±0,17 ед. ОП/ мл, Каталаза=0,55±0,01 мКат/мл) при твиновой модели ГЛП и уровне значимости $p<0,05$ по отношению к контролю (МДА=5,88±0,14 мкМ/ мл. мин, ДК=7,06±0,21 ед. ОП/ мл, Каталаза=0,27±0,02 мКат/ мл); могут быть частично опосредованы антиоксидантными свойствами чеснока.

Антиоксидантная активность чеснока, равно как и гиполипидемическая, по-видимому, обусловлена серосодержащими компонентами, входящими в его состав (серосодержащие аминокислоты и сульфоксиды). Данные соединения способны подавлять захват модифицированных ЛПНП клетками интимы артерий, снижать синтез эстерифицированного ХС и повышать гидролиз его эфиров за счет модуляции активности внутриклеточных ферментов (Орехов А.Н., Тертов В.В., Собенин И.А. и др., 1996; Собенин И.А., 2006; Sobenin L.A., Filatova L.V., Orekhov A.N., 2001; Sobenin L.A., Zalepugin D.Y., Til'kunova N.A., Orekhov A.N., 2002).

В ряде работ отмечена возможность компонентов чеснока повышать активность фермента глутатионпероксидазы и, в итоге, уменьшать окислительную модификацию липопротеинов (Михин В.П., 1996; В.Е. Рыженков, В.Г. Макаров, 2003).

Из вышесказанного следует, что применение препаратов чеснока вполне обоснованно влияет как на благоприятные изменения показателей липидного спектра крови, так и на течение заболевания в целом. Данные изменения в последствие были наиболее статистически значимыми при впервые сочетанном использовании чеснока, амарантового масла и хитозана: материалы по комплексу чеснок/ амарантовое масло/ хитозан в лит. источниках нами не были найдены.

Согласно литературным данным, положительное влияние, которое оказывает чеснок на ССС, помимо улучшения показателей липидного спектра крови, связано с участием натурального продукта в регуляции артериального давления (АД) и ингибированием агрегации тромбоцитов (Резник Н.Л., 2010; Jang G., Wu L., Liang W., Wang R., 2005; Soran H., Durrington P., 2008; Lowicka E., Beltowski J., 2007; Zhao W., Wang R., 2002; Zhao W., Zhang J., Wang R. et al., 2001).

Эти данные не противоречат результатам, полученным в ходе нашей работы, и являются дополнительной мотивацией антиатерогенных свойств чеснока. Показано, что, помимо своего прямого влияния на метаболизм липидов, чеснок, по-видимому оказывает косвенное, непрямое влияние на течение АС. АД, как известно, является одним из важнейших факторов риска развития данного заболевания (Sosova M., Sova P., 2001; Zhao W., Wang R., 2002).

Гипотензивный эффект чеснока может быть частично опосредован его прямыми релаксирующими свойствами на сосудистую гладкую мускулатуру. Водный экстракт чеснока, а также его отдельные компоненты, такие, как аллицин и аджоен, открывают K^+ каналы и вызывают гиперполяризацию мембраны. Следствием этого становится уменьшение тока Ca^{2+} в гладкомышечную клетку того или иного сосуда. Снижение уровня внутриклеточного Ca^{2+} вызывает вазодилатацию (Siegel G. et al., 1991).

Механизм ингибирования агрегации связывают со снижением формирования тромбоксана из экзогенной арахидоновой кислоты, а также с

изменением физико-химических свойств плазматической мембраны тромбоцитов, благодаря чесночным аллицину и аджоену (Андрианова И.В., Габбасов З.А., Ионова В.Г., Орехов А.Н., 1997; Андрианова И.В., Ионова В.Г., Демина Е.Г. и др., 2001; Neil A., Silagy C., 1994).

В последние годы, значительно возрос интерес к использованию ненасыщенных жирных кислот (НЖК), особенно класса омега-3, в профилактике ССЗ, несмотря на выраженный эффект статинов, успевших себя зарекомендовать в лечении дислипидемии. Согласно современным клиническим и экспериментальным исследованиям, представленным в фундаментальных эпидемиологических программах, механизм действия полиненасыщенных жирных кислот, особенно класса омега-3, сводится к ограничению всасывания пищевого ХС в тонком кишечнике, стимуляции в печени синтеза желчных кислот, торможению синтеза и секреции ХС ЛПОНП в гепатоцитах, повышают уровень ХС ЛПВП и усиливают липопротеинолиполилиз (Мартынов А.И., Чельцов В.В., 2007).

Эти данные согласуются с результатами нашей работы, где при помощи витаминной и твиновой моделей ГЛП были продемонстрированы гиполипидемические свойства оливкового, льняного и амарантового масел. Все изучаемые растительные масла снижали атерогенные показатели (ОХС, ТГ, ЛПНП) и повышали антиатерогенные (ЛПВП). Наиболее перспективными гиполипидемическими свойствами отличались амарантовое и льняное масло, менее перспективными - оливковое. Лучшими совокупными гиполипидемическим эффектом обладало масло амаранта. При витаминной модели амарантовое масло снижало ОХС, ТГ и ЛПНП на 17,7 %, 13,1 % и 14,4 %, соответственно, и повышало ЛПВП на 13,5 %. При твиновой модели амарантовое масло снижало ОХС, ТГ и ЛПНП на 18,7 %, 14,6 %, и 15,0 %, повышало ЛПВП на 12,5 %. Изучаемые растительные масла содержат в своём составе ПНЖК семейства омега-3. Таким образом, результаты нашей работы коррелируют с результатами экспериментальных работ учёных Верткина А.Л. (1991), Исаева В.А. (1997), Мартынова А.И.

(2007), Панченко В. М. (2002) и др. о положительном влиянии омега-3 ПНЖК на липидный обмен. В рамках упомянутых работ также отмечено, что дефицит ПНЖК в питании крыс сопровождается снижением уровней ЛПВП (Верткин А. Л., Прохорович Е. А., 1991; Исаев В.А., Лютова Л.В., Карабасова М.А., Панченко В.М., Андреев Г.В., Ершов А.А. и др., 1996; Панченко В.М., Ершов А.А., Исаев В.А., 2002; Панченко В.М., Лютова Л.В., Карабасова М.А., Ершов А.А. и соавт., 2002; Панченко В.М., Назлуханян С.О., Ершов А.А. и соавт., 1995; Панченко В.М., Назлуханян С.О., Исаев В.А., Ершов А.А., 1997).

Гиполипидемический эффект изучаемых порошка чеснока, масел и масле и ПВ был более выраженным при их парном сочетании. Результаты таких сочетаний были лучше, чем в случае применения соответствующих препаратов сравнения на основе чеснока и ПНЖК. Это доказывает наличие синергизма в пользу более выраженного, суммарного эффекта их сочетанного применения. Данные нашей работы согласуются с данными исследовательских работ Kassem S. S., et al. (2011), и Morcos N.C. (1997), нацеленных на изучение эффекта сочетаний природных компонентов, известных своими гиполипидемическими свойствами (Mohamed M.S., Abdel-Kader M.M., Kassem S.S., 2011). Наше исследование совпадает с диссертационными работами Мелтоян В. В., (2013) и Банзаракшеев В. Г., (2004), в рамках которых были исследованы поликомпонентные средства природного происхождения, где каждый компонент дополняет и усиливает эффект другого (Банзаракшеев В. Г., 2004; Мелтоян В. В., 2013).

Среди наиболее перспективных относительно гиполипидемических свойств в нашей работе были сочетания чеснок/ амарантовое масло, чеснок/ льняное масло и амарантовое масло/ хитозан при обоих моделях ГЛП, витаминной и твиновой. Помимо чесночного порошка и волокон, в упомянутых сочетаниях присутствуют масло амаранта, источник сквалена и ПНЖК-омега-3. Наши результаты совпадают с данными авторов, отмечающих большую физиологическую ценность ряда растительных масел,

т. к. они являются не только источником эссенциальных жирных кислот (ПНЖК семейства омега-3 и омега-6), но и содержат фосфолипиды, стерины, витамины и различные антиоксиданты (сквален) (Рыженков В.Е., 2002).

Механизм антиатерогенного действия Омега-3 ПНЖК обусловлен их хим. составом (ЭПК, ДГК). Так благодаря ЭПК и ДГК, Омега-3 ПНЖК снижают воспалительные изменения в сосудистой стенке и подавляют пролиферацию гладкомышечных клеток в области бляшки, повышению электрической стабильности миоцитов. Они способствуют изменению жидкостных свойств мембран клеток и, соответственно, повышению активности мембранных рецепторов, способствуют образованию простагландинов и лейкотриенов с меньшей тромбогенной и воспалительной активностью. Омега-3-ПНЖК уменьшают агрегационную функцию тромбоцитов и их взаимодействие с сосудистой стенкой путем снижения синтеза тромбоксана А₂, увеличения синтеза тромбоксана А₃ не обладающего коагулирующим эффектом (ЭПК ингибирует продукцию простагландинов из эндогенной арахидоновой кислоты, которая с одной стороны приводит к образованию тромбоксана-А₂, а с другой, стимулирует метаболизм циклооксигеназы и липооксигеназы усиливающих пролиферацию эндотелиальных клеток) (Connor W.E., 2000; Dart A.M., Chm J.P., 1995; Hams W.S., 1997).

Омега-3-ПНЖК снижают фибриноген и другие факторы свертывания, уменьшают вязкость крови (Yang W., Deng Q., Huang Q. et al., 2012).

Опираясь на многочисленные литературные данные, для проведения нашего исследования, были выбраны три растительных представителя ненасыщенных жирных кислот (НЖК). Этими представителями стали оливковое, льняное и амарантовое масла. Согласно показателям липидного профиля крови животных в нашем исследовании, результаты амарантового масла оказались среди наиболее перспективных гиполипидемически. Наиболее выраженными оказались показатели при твиновом подходе.

Исходя из литературных данных по метаболизму ХС, полученные в экспериментах с маслами результаты можно объяснить следующим образом (Климов А.Н., 1987; Климов А.Н., Никульчева Н.Г., 1984; Оганов Р.Г., 1990; Оганов Р.Г., 1992). Известно, что поступивший с пищей липидный комплекс растительных масел в энтероцитах преобразуется в первичные хиломикроны (ХМ). В крови эти первичные ХМ ассоциируются с апо-Е белково-липидным комплексом (БЛК), тем самым формируя зрелые ХМ, которые содержат эфиры ХС. ХМ путём апо Е/В-48 рецепторного эндоцитоза попадают в печень, где происходит реэстерификация ХС. В лизосомах гидролиз эфиров ХС освобождает полиеновые ЖК, которые использует клетка. Транспортные белки цитозоля переносят ХС на мембрану, с которой ХС диффундирует в кровь. В крови ХС связывает апо А-IV и в ЛПВП опять его используют для эстерификации следующей полиеновой ЖК. Таким образом, полиеновые омега-3-ПНЖК, входящие в состав ЛПВП в форме эстерифицированного холестерина (ЭХС), обеспечивают необходимый активный транспорт данных незаменимых ЖК в клетки, связывая тем самым ХС и препятствуя его превращению в ЛПНП. В своих работах В.Н. Титов (2001, 1998) предположил, что уровень определяемого в крови ХС на самом деле отражает уровень ЭХС, который клетки, при дефиците полиеновых ЖК, не могут поглотить (Титов В.Н., 2001; Титов В.Н., 1998). В этом случае, полученные нами результаты отражают относительно более мощные антиатерогенные свойства амарантового масла нежели льняного и оливкового масел, что можно объяснить наличием в амаранте не только полиеновых жирных кислот, в частности, линолевой, а-линоленовой кислотой, но и сквалена. Это наблюдение согласуется с результатами работы Tilvis R. S. и Miettinen T. A. (1986), где одновременное применение гиперлипидемической диеты с маслом амаранта в процентном соотношении 5 % приводило к снижению ОХС и ХС ЛПНП в пределах (15-22 %) по сравнению с интактными животными (Sainani O.S., Desai D.B., Natu M.N. et al., 1979).

Сквален стимулирует активность ацилкоэнзима:холестерин ацилтрансферазу (АСАТ, ЕС 2.3.1.26), однако одновременно с этим, действует как ингибитор ГМГ-коэнзим-А-редуктазы (ЕС 1.1.1.34), который является мишенью для таких препаратов как статины. Таким образом, приём сквалена приводит к снижению уровня стеролов в печени и сыворотке крови.

Существующие данные позволяют предположить, что значимое количество поступающего с пищей человека сквалена всасывается и преобразуется в ХС. Однако данное увеличение синтеза не связано с последующим повышением уровня ХС в крови, а является результатом сопутствующего увеличения фекальной экскреции ХС. Согласно указанному источнику, применение сквалена приводит к значительному увеличению фекальной экскреции как самого ХС, так и его неполярных производных и желчных кислот. Это, в свою очередь, позволяет предполагать что, несмотря на то, что синтез ХС увеличивается на 50 %, его элиминация и экскреция также повышается, в итоге, не происходит никакого увеличения концентрации ХС сыворотки крови животных (Strandberg T.E, Tilvis R.S et al., 1990).

Было показано, что замена ТГ, поступающих с пищей, при помощи сквалена у крыс приводила к уменьшению всасывания и абсорбции ХС более чем на 50% (Richter P., Schafer S.G., 1982).

По данным Anandan et al. (2003) в придачу к своим полезным свойствам, ПНЖК, тем не менее, обладают способностью окисляться, что весьма негативно сказывается на стабилизации клеточных и субклеточных мембран, а также ускоряет экспериментально индуцированный инфаркт миокарда у крыс. Однако согласно Conforti F. et. al. (2005), комбинирование сквалена и ПНЖК значительно ($p < 0,001$) снижало уровень перекисного окисления липидов в ткани сердца (Conforti F., Statti G., Loizzo M.R., Sacchetti G., Poll F., Menichini F., 2005; Dhandapani B., Ganesan R., Anandan R., Jeyakumar D., et al., 2007).

Антиоксидантные свойства масла, вероятно, обусловлено наличием изопреноидного блока в структуре сквалена, одного из основных компонентов амарантового масла (Aioi A, Shimizu T, Kuriyama K., 1995; Kohno Y., Egawa Y., Itoh S., 1995). Согласно докладу Miyachi и соавт. (1983), сквален не очень чувствителен к окислению и функционирует как эффективный гаситель синглетного кислорода и предотвращает перекисное окисление липидов на поверхности кожи человека впоследствии таких факторов окислительного стресса, как солнечный свет (Miyachi Y., Horio T., Imamura S., 1983).

Эксперименты *in vitro* подтверждают, что сквален является высокоэффективным кислород-поглощающим средством (Saint-Leger D., Bague A., Cohen E., Chivot M., 1986). Константа скорости тушения “синглетного” кислорода скваленом намного превышает данный показатель у других похожих липидов (Dhandapani B., Ganesan R., Anandan R., Jeyakumar D., et al., 2007). Исследования показали, что сквален захватывает свободные радикалы в рамках неферментативного процесса, где сам выступает в роли электронного донора (Roullet J.B., Xue H., Roullet C.M., et al., 1995; Saint-Leger D., Bague A., Cohen E., Chivot M., 1986).

Таким образом, своими выраженными антиоксидантными свойствами комплекс чеснок/ амарантовое масло/ хитозан обязан не только серосодержащим компонентам чеснока, но и сквалену в амарантовом масле.

Среди перспективных гиполипидемически растительных масел, амарантовое в нашем исследовании показало относительно более выраженные гипохолестеринемические и гиполипидемические свойства нежели льняное масло. Так, при твиновой модели ГЛП амарантовое масло снижало атерогенные показатели ОХС, ТГ и ЛПНП на 18,7%, 14,6 % и 15,0 %, соответственно, повышало ЛПВП на 12,5 %. Льняное масло при твиновой ГЛП снижало ОХС, ТГ и ЛПНП на 18,0 %, 13,4 %, 13,7 %, соответственно, повышало ЛПВП на 12,0 %. Достоверность по отношению к контролю составляла $p < 0,001$. Наши результаты коррелируют с

результатами работы Коренской И.М. и соавт. (2006), в рамках которой был проведён фармакологический анализ влияния амарантового и льняного масел на динамику липидного обмена у крыс в условиях холестериневой нагрузки (группа амарантового масла снижала липиды крови до значений $3,38 \pm 0,12$ г/л, группа льняного масла до $3,56 \pm 0,10$ г/л при уровне значимости $p < 0,05$) (Коренская И.М., Сулин В.Ю., Сафонова Е.Ф., Постыка А.Н., 2006).

Однозначно наименьшими гипополипидемическими свойствами в нашем исследовании обладало оливковое масло. Отличительной его особенностью в сравнении с другими маслами является то, что оно почти на 70 % состоит из олеиновой кислоты, в то время как другие масла преимущественно состоят из ПНЖК семейства омега-6.

По имеющимся в литературе данным, именно антиоксидантные свойства оливкового масла могут способствовать защитным эффектам данного продукта. Результаты нашего исследования коррелируют с результатами работы Gorinstein S., et. al. (2002), в которой были показаны гипополипидемические и антиоксидантные свойства оливкового масла (Gorinstein S., Leontowicz H., Lojek A., et al., 2002).

Было высказано предположение, что фенолы оливкового масла (гидрокситирозол и олеуропеин) обладают способностью действовать синергически против изопростанов - маркеров окисления ЛПНП, предотвращая тем самым окисление этих атерогенных липопротеинов (Salami M., Galli C., De Angelis L., Visioli F., 1995).

Таким образом, наименьший среди изучаемых масел гипополипидемический эффект оливкового масла можно объяснить:

- практическим отсутствием ПНЖК за счёт присутствия менее эффективных мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) в лице олеиновой кислоты, по сравнению с льняным маслом;
- низким содержанием сквалена, в сравнении с амарантовым маслом;
- более слабыми антиоксидантными способностями фенольных соединений, о чём свидетельствуют полученные нами результаты.

Различные экспериментальные исследования на животных и клинические наблюдения на людях доказывают, что некрахмальные полисахариды снижают такой важный фактор риска (ФР) ССЗ, как уровень ХС в сыворотке крови. Это согласуется с результатами нашей работы (Глава III). Данные нашего исследования коррелируют с результатами работ, отчётливо показавших гипополипидемический эффект для пектинов (Knorr R.H., Superko H.R., Davidson M. et al., 1999; Toeller M., Buyken A.E., Heitkamp G. et al., 1999), альгинатов (Хотимченко Ю.С., Ковалев В.В., Савченко О.В., Зиганшина О.А., 2001; Kimura Y., Watanabe K., Okuda H., 1996; Yoshie Y., Suzuki T., Shirai T., Hirano T., 1995) и хитозана (Blundell J.E., Burley V.J., 1987; Gallaher D.D., Gallaher C.M., Mahrt G.J., et al., 2002).

Результаты нашей работы доказывают гипохолестеринемические и гипотриглицеридемические свойства изучаемых ПВ. Так, в условиях витаминной модели ГЛП, пектин снижал ОХС, ТГ и ЛПНП на 19,6 %, 15,9 % и 13,4 %, повышал ЛПВП на 1,1 %, соответственно. При твиновой модели, пектин снижал ОХС, ТГ и ЛПНП на 19,9 %, 16,1 %, 13,3 %, и повышал ЛПВП 1,0 %, соответственно. Эти результаты коррелируют с данными исследования Marounek M., et al., 2007., в котором, на примере массы тела животных и липидных показателей крови, было изучено влияние пектинов на гомеостаз ХС при холестериневой нагрузки (Marounek M., Volek Z., Synytsya A., Copikova J., 2007).

Альгинаты в условиях витаминной модели ГЛП, пектин снижал ОХС, ТГ и ЛПНП на 18,3 %, 13,8 % и 12,2 %, повышал ЛПВП на 0,8 %, соответственно. При твиновой модели, альгинат натрия-1000 снижал ОХС, ТГ и ЛПНП на 19,7 %, 15,0 %, и 11,1 %, повышал ЛПВП на 0,5 %, соответственно. Эти результаты коррелируют с данными исследований Nishide et al., (1993), Brownlee I. A. N., et al. (2005), Jimenez-Escrig & Sanchez-Muniz (2000). В работах были показаны гипополипидемические свойства альгинатов при экспериментально индуцированной гиперхолестеринемии

(Brownlee I.A., Allen A., Pearson J.P. et al., 2005; Jimenez-Escrig A., Sanchez-Muniz F.J., 2000; Nishide, E., Anzai, H., and Uchida, N., 1993).

В условиях витаминной модели ГЛП, хитозан снижал ОХС, ТГ и ЛПНП на 19,0 %, 15,6 % и 13,0 %, повышал ЛПВП на 2,7 %, соответственно. При твиновой модели, хитозан снижал ОХС, ТГ и ХС ЛПНП на 20,8%, 16,7 % и 13,7 %, и повышал ХС ЛПВП на 1,3 %, соответственно. Эти результаты коррелируют с данными исследований Jing S. et al. (1992), Razdan A., et al. (1996), и Qujeq D. и Ataei G. (2000), где было показано, что хитозан достоверно снижает атерогенные показатели липидного спектра крови и повышает антиатерогенные (Jing S., Yamaguchi T., 1992; Qujeq D., Ataei G., 2000; Razdan A., Pettersson D., 1996).

Гипохолестеринемические свойства некрахмальных полисахаридов являются наиболее изученными эффектами этих соединений. В то же время, механизм, благодаря которому эти соединения уменьшают концентрацию холестерина и триглицеридов, до настоящего времени до конца не ясен.

Влияние пищевых волокон на обмен липидов может быть связан с несколькими механизмами, в том числе и со снижением всасывания глюкозы. Последнему механизму принадлежит немаловажная роль, поскольку пищевые волокна не только снижают уровень глюкозы в крови, но и инсулина, который стимулирует синтез ХС и ЛПНП (Evans E., Miller D., 1975).

Однако, основным механизмом эффектов, оказываемых полисахаридами, считается связывание желчных кислот в тонком кишечнике и препятствие их реабсорбции обратно в кровоток (Matheson H.B., Story J.A., 1994), что ведет к увеличению синтеза желчных кислот *de novo* в печени за счет деградации ХС, а также усилению фекальной экскреции желчных кислот в результате повышения вязкости содержимого кишечника (Ismail M.F., Gad M.Z., Hamdy M.A., 1999). Серия экспериментов в условиях *in vitro* показала, что благодаря высокому аффинитету к холевой кислоте, пектины и

альгинаты эффективно взаимодействуют с ней, образуя с субстратом прочные комплексы (Хотимченко М.Ю., 2009).

Результаты настоящей работы не противоречат упомянутому возможным механизмом действия ПВ. Таким образом, более мощный гиполлипидемический эффект пектинов, по сравнению с альгинатами, даёт основание полагать, что пектины отличаются более сильным аффинитетом к субстрату холевой кислоты, нежели альгинаты.

Пищевые волокна (ПВ) связывают желчные кислоты, что приводит к уменьшению пула желчных кислот в просвете кишечника и снижению уровня сывороточного ХС вследствие замедления его абсорбции и использования ХС для синтеза *de novo* желчных кислот в печени (Kritchevsky D., 1995; Stark A., Nyska A., Madar Z., 1996; Tietyen J.L., Nevins D.J., Shoemaker C.F. et al., 1995; Turner P.R., Tuomilehtj J., Happonen P. et al., 1990). Повышение вязкости содержимого кишечника также предлагается в качестве механизма усиления фекальной экскреции желчных кислот (Fernandez M.L., Sun D.M., Tosca M., McNamara D.J., 1994; Moundras C., Behr S.R., Demigne C. et al., 1994; Topping D., 1994). Кроме того, пищевые волокна слабее связывают гидрофильные желчные кислоты, в связи, с чем в плазме увеличивается относительное содержание гидрофобных желчных кислот, которые сильнее, чем гидрофильные кислоты, ингибируют активность холестерин-7 α -гидроксилазы в печени (Matheson H.B., Coon I.S., Story J.A., 1995; Matheson H.B., Story J.A., 1994).

Наше исследование также выявило, что хитозан лучше снижал показатели липидного спектра крови, нежели альгинаты, и при этом относительно не уступал пектинам. Эти данные можно объяснить тем, что хитозан, наряду с прочими возможными механизмами действия пищевых волокон, способен образовывать ионные комплексы с жирами, в том числе с ХС, и ингибировать их абсорбцию и рециркуляцию из кишечника в печень (Ylitalo R., Lehtinen S., Wuolijoki E. et al., 2002).

Другой механизм действия пищевых волокон заключается в том, что продукты богатые пищевыми волокнами замещают по массе более калорийные продукты. Согласно многочисленным данным, полисахариды связывают желчные кислоты или холестерин посредством образования так называемых мицелл в просвете тонкого кишечника (Хотимченко М.Ю., 2011). В результате уменьшение количества ХС в печеночных клетках ведет к изменению чувствительности рецепторов к липопротеинам низкой плотности и увеличенному клиренсу ХС этих липидов (Federation of American Societies for Experimental Biology., 1987, DOI: 10.1096/fj.1530-6860).

Среди механизмов действия ПВ называется ингибирование синтеза жирных кислот в печени продуктами бактериальной ферментации (короткоцепочечные жирные кислоты - уксусная, масляная и пропионовая) (Nishina P.M., Freedland R.A., 1990). В толстом кишечнике пектины более или менее полностью ферментируются бактериальными энзимами с образованием короткоцепочечных жирных кислот, таких как щавелевая, масляная и уксусная (Dongowski G., Lorenz A., Anger H., 2000). Через стенку кишечника эти кислоты быстро проникают в кровеносное русло и через порталный кровоток достигают печени, после чего распространяются по всему организму (Weber F.L. et al., 1987). Экспериментально показано, что эти кислоты ингибируют синтез холестерина в печени (Ylitalo R., Lehtinen S., Wuolijoki E. et al., 2002).

Полисахариды изменяют моторику желудочно-кишечного тракта (Schneeman B.O., Gallaher D., 1985), а их высокая вязкость замедляет абсорбцию макронутриентов, что ведет к увеличению чувствительности к инсулину (Schneeman B.O., 1987) и более быстрому насыщению, что в конечном итоге, способствует снижению общей энергоемкости потребляемого пищевого рациона (Blundell J.E., Burley V.J., 1987).

В процессе ферментации полисахаридов микрофлорой толстой кишки образуются короткоцепочечные жирные кислоты, такие как уксусная и

масляная кислоты (Berggren A.M., Björck I.M.E., Nyman E.M.G.L., Eggum B.O., 1993), которые обладают физиологической активностью и могут участвовать в регуляции жирового обмена (Kishimoto Y., Wakabayashi S., Takeda H., 1995). Из короткоцепочных жирных кислот большее внимание уделяется пропионовой кислоте, которая после абсорбции метаболизируется в печени (Moundras C., Behr S.R., Demigne C. et al., 1994). Введение крысам вместе с пищей этой кислоты приводило к снижению сыровоточного и печеночного ХС (Chen W.-J.L., Anderson J.W., Jennings D., 1984). Экспериментально показано, что пропионовая и уксусная кислоты способны ингибировать синтез ХС в печени животных (Beunen A.C., Buechler K.F., Van der Molen A.J., Geelen M.J.H., 1982; Moundras C., Demigne C., Mazur A., Remesy C., 1995).

Гиполипидемический эффект пектинов связывают также с ускорением катаболизма ЛПНП (Fernandez M.L., Lin E.C.K., Trejo A., McNamara D.J., 1992; Fernandez M.L., Trejo A., McNamara D.J., 1990).

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день экспериментальные данные, коррелирующие с результатами нашего исследования, позволяют рассматривать несколько механизмов гиполипидемического действия полисахаридов. Результаты нашего исследования не противоречат данным механизмам и делают все названные механизмы приемлемыми.

Сочетание изучаемых компонентов выявило более выраженный гиполипидемический эффект комплексов, нежели их отдельных составляющих.

Статистически-значимые результаты получены при таких сочетаниях, как (чеснок/ амарантовое масло: $KA=0,98\pm 0,02$, хитозан/ амарантовое масло: $KA=1,01\pm 0,03$, при витаминной ГЛП и; $KA=1,11\pm 0,02$, $KA=1,19\pm 0,03$, при твиновой ГЛП) были изучены в виде комплекса (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан). Результаты доказали, что данный состав обладал более высокой гиполипидемической активностью, равно как и более выраженными антиоксидантными свойствами. Своими антиоксидантными свойствами препарат, по-видимому, в большей мере обязан сероорганическому составу

чеснока, а также ПНЖК-омега-3 и сквалену, входящих в состав амарантового масла. Механизмы были рассмотрены выше.

Комплекс (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан) превосходил по антиатерогенному эффекту подобные эффекты препаратов сравнения на основе чеснока и ПНЖК, и был слабее флувастатина.

В дополнении к вышесказанному следует отметить, что антиоксидантные свойства комплекса веществ на основе (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан), были изучены по уровню:

- диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) - продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ);
- каталазы – одного из ферментов антиоксидантной системы защиты (АСЗ).

Понижение содержания каталазы говорит об угнетении АСЗ. Вследствие угнетения АСЗ организма происходит инициирование свободными радикалами ПОЛ. Последнее ведёт к интенсификации процессов ПОЛ и повышению содержания ДК и МДА (Писарева Е.В., Власов М.Ю., Орлова Е.В., 2012).

Результаты оценки антиоксидантных свойств комплекса (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан) в нашей работе (табл.13) согласуются с вышеупомянутыми фактами. Следовательно, полученный комплекс угнетает процессы ПОЛ у экспериментальных животных и параллельно активизирует АСЗ.

Известно, что лекарственные препараты природного происхождения крайне часто используются без назначения врача. Следовательно, изучение их токсичности всегда является необходимым этапом в процессе доклинической оценки.

При изучении острой токсичности установить не удалось, поскольку исследуемый препарат (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан) при внутрижелудочном введении крысам в больших дозах (1500 – 4900 – 7500 мг/кг) в течение всего периода наблюдения не вызвал гибели экспериментальных животных. Это свидетельствует о безопасности состава (чеснок/ амарантовое

масло/ хитозан) и позволяет отнести его к VI классу токсичности (опасности) химических веществ (Классификация и общие требования безопасности//. ГОСТ 12.1.007-76, 1977).

Наши результаты согласуются с данными J. Asiedu-Gyekye Isaac et al., (2014) безопасности порошка чеснока (ORAL LD₅₀ > 5000 мг/кг), данными European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, (2010) по безопасности амаранта (ORAL LD₅₀ = 6 г/кг) и результатами Levitskaia T.G., Thrall K.D., (2009) по безопасности хитозана (ORAL LD₅₀ > 10000 мг/кг) (Charles A., J. Asiedu-Gyekye Isaac et al., 2014; European Food Safety Authority, 2010; Levitskaia T.G., Thrall K.D., 2009). Все показатели получены относительно перорального введения изучаемых средств.

Выявленные фармакологические эффекты и низкая токсичность исследуемого комплекса веществ на основе (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан) позволяют рекомендовать его для дальнейших исследований с целью получения препарата для лечения и профилактики АС.

Таким образом, поликомпонентные природные вещества на основе чеснока, амарантового масла и хитозана при экспериментально индуцированной дислипидемии, вызванной двумя холестериновыми нагрузками (атерогенными диетами), обладает выраженным гипохолестеринемическим и общим гиполлипидемическим действием. Комплекс веществ в снижает общий холестерин в крови, триацилглицериды и атерогенные липопротеины низкой плотности. Вместе тем, наш комплекс веществ способствует повышению концентрации в крови липопротеинов высокой плотности, которые обладают антиатерогенной активностью.

В дополнении к вышеописанному, испытуемый комплекс природных веществ на основе чеснока, амарантового масла и хитозан обладает эмульгирующими и адсорбционными способностями, которые дополняют благотворное влияние сочетанного использования компонентов комплекса на липидный профиль. Согласно полученным результатам, чеснок не только подавляет синтез ХС в печени на уровне ГМГ-КоА-редуктазы, но и подобно

выделяемым в просвет кишечника желчным кислотам, может эмульгировать липиды в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), способствуя тем самым их выводу из организма.

В рамках исследования были подтверждены адсорбирующие свойства испытуемых пищевых волокон, в частности хитозана, в отношении триглицеридов и жирных кислот, подобно тому, как это происходит в организме. Примечательно, что незначительно уступая в сорбционных свойствах пектину, хитозан при этом показал лучшие образцы липидного спектра среди энтеросорбентов. С одной стороны, данный аспект даёт нам право предполагать, что хитозан менее склонен адсорбировать на себе активный гиполипидемический компонент комплексного препарата - масла амаранта, состав которого образуют, как триглицериды, так и жирные кислоты. С другой стороны упомянутый факт позволяет рассматривать дополнительные механизмы действия хитозана, отличные от адсорбционного.

ВЫВОДЫ:

1. При сравнительном изучении гиполипидемических свойств порошка чеснока, амарантового, льняного и оливкового масел, а также хитозана, альгината и пектина было выявлено, что порошок чеснока статистически значимо лучше снижал ТГ (-23,6%, -22,8%), хитозан статистически значимо лучше снижал ОХС (-19,1%, -20,8%), а амарантовое масло статистически значимо лучше снижало ЛПНП (-14,4%, -15,0%) и повышало ЛПВП (+13,5%, +12,5%) при уровне значимости $p < 0,001$ по отношению к контролю.
2. При сравнительном изучении гиполипидемических свойств парных сочетаний порошка чеснока с амарантовым, льняным и оливковым маслами, а также сочетаний названных масел с пектином, альгинатами и хитозаном, были выявлены перспективные относительно гиполипидемического эффекта сочетания: порошок чеснока/ амарантовое масло ($KA=0,98 \pm 0,02$, $1,11 \pm 0,02$), хитозан/ амарантовое масло ($KA=1,01 \pm 0,03$, $1,19 \pm 0,03$), при уровне значимости $p < 0,001$ относительно контроля. Менее перспективными гиполипидемически были сочетания альгинат/ льняное масло ($KA=1,12 \pm 0,01$, $1,29 \pm 0,03$), альгинат/оливковое масло ($KA=1,13 \pm 0,02$, $1,32 \pm 0,02$) и пектин/ оливковом масле ($KA=1,15 \pm 0,02$, $1,31 \pm 0,02$), при уровне значимости $p < 0,001$ относительно контроля.
3. При изучении гиполипидемических свойств комплекса веществ на основе порошка чеснока, амарантового масла и хитозана было выявлено, что данное средство достоверно снижает уровни ОХС (-21,7%, -23,0%), ТГ (-20%, -20,9%), ЛПНП (-16,5%, -16,0%) и достоверно повышает уровень ЛПВП (+12,3%, +12,6%) при уровне значимости относительно контроля $p < 0,001$.
4. При изучении безопасности комплекса веществ на основе чеснока, амарантового масла и хитозана была выявлена его малая токсичность, а препарат отнесён к IV классу (мало опасные).

5. При изучении антиоксидантной активности комбинации (чеснок/амарантовое масло/хитозан) было выявлено, что данное сочетание обладает выраженным антиоксидантным действием. Эффект выражался в снижении показателя ДК ($5,11 \pm 0,11$, $5,20 \pm 0,17$), снижении показателя МДА ($3,43 \pm 0,03$, $3,00 \pm 0,17$), и повышении активности каталазы ($0,52 \pm 0,02$, $0,55 \pm 0,01$).

6. При сравнительном изучении эмульгирующих свойств порошка чеснока в амарантовом, льняном и оливковом маслах у чеснока были выявлены выраженные эмульгирующие свойства. Статистически значимые лучшие эмульгирующие свойства средство проявляло в системе амарантовое масло/ вода и льняное масло/ вода (количество жира в данной эмульсии составляет $98,39 \pm 0,67\%$ и $96,7 \pm 0,7\%$, соответственно от количества используемого масла).

7. При сравнительном изучении сорбционных свойств пектина, альгината и хитозана было выявлено, что сорбционные свойства хитозана превосходят подобные у альгинатов, и практически не уступают аналогичным у пектинов (данные свойства хитозана для ТГ составили $4,38 \pm 0,59$, а для ЖК $3,21 \pm 0,06$).

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследования позволяют рекомендовать:

1. Поликомпонентный состав на основе чеснока, амарантового масла и хитозана для проведения дальнейших доклинических и последующих клинических испытаний с целью возможного включения в комплексную программу профилактики и терапии лёгких форм гиперлипидемий;
2. Поликомпонентный состав (чеснок, амарантовое масло, хитозан) для дальнейшей разработки оптимальных лекарственных форм на его основе, и последующего изучения связанных с данным поликомпонентным составом фармакокинетических показателей.

Список сокращений

Термин	Определение
АД	Артериальное давление
АДФ	Аденозин-ди-фосфат
АЛК	α -линоленовая кислота
АЛТ	Аланинаминотрансфераза
АМ	Амарантовое масло
АОА	Антиокислительная активность
АОЗ	Антиоксидантная защита организма
АС	Атеросклероз
АСЗ	Антиоксидантная система защиты
АСТ	Аспаргатаминотрансфераза
АТФ	Аденозин-три-фосфат
ВНОК/ РКО	Всероссийское научное общество кардиологов/ Российское кардиологическое общество
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ГЛП	Гиперлипидемия
ГМГ КоА редуктаза	Гидрокси-метил-глутарил коэнзим А – редуказа
ГМК	Гладкомышечные клетки
ГХС	Гиперхолестеринемия
ДГЕ	Докозангексаеновая кислота
ДК	Диеновые конъюгаты
ДЛП	Дислипидемия
ДМСО	Диметилсульфоксид
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
ЖК	Жирные кислоты
ЖКТ	Желудочно-кишечный тракт
КА	Коэффициент атерогенности
КФК	Креатинфосфокиназа
ЛД ₅₀	Полулетальная доза
ЛК	Линолевая кислота
ЛМ	Льняное масло
ЛП	Липопротеины
ЛПНП	Липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	Липопротеины очень низкой плотности
ЛПВП	Липопротеины высокой плотности
ЛТ	Лейкотриены
МДА	Малоновый альдегид
МНЖК	Мононенасыщенные жирные кислоты
МХБ	Моноцитарный хемотактический белок
НЖК	Ненасыщенные жирные кислоты

НК	Никотиновая кислота
ОИМ	Острый инфаркт миокарда
ОМ	Оливковое масло
ОХС	Общий холестерин
ПВ	Пищевые волокна
ПГ	Простагландины
ПНЖК	Полиненасыщенные жирные кислоты
ПОЛ	Перекисное окисление липидов
ПЦ	Простоциклины
ПЧ	Порошок чеснока
СН	Сердечная недостаточность
СРБ	С-реактивный белок
ССЗ	Сердечно-сосудистые заболевания
ССС	Сердечно-сосудистая система
ТБК	Тиобарбитуровая кислота
ТГ	Триацилглицериды
ТК	Тромбоксаны
ФЛ	Фосфолипиды
ФР	Факторы риска
ХМ	Хиломикроны
ХС	Холестерин
ЭПЕ	Эйкозанпентаеновая кислота
ЭХС	Эстерифицированный холестерин
DADS	Диаллил дисульфид
EAS	Европейское общество атеросклероза
ESC	Европейское общество кардиологов
HbA1c	Гликированный гемоглобин плазмы
IL	Интерлейкин
NF-κB	Ядерный транскрипционный фактор
PPAR-γ система	Система ядерных рецепторов-гамма
TNF-α	Фактор некроза опухоли-альфа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андрианова И.В., Габбасов З.А., Ионова В.Г., Орехов А.Н.// Влияние чесночных таблеток Алликор на агрегацию тромбоцитов *in vitro* и *ex vivo* // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1997. — Т.124. — №7. — С.97-100.
2. Андрианова И.В., Ионова В.Г., Демина Е.Г. и др.// Использование алликора для нормализации систем фибринолиза и гемостаза у больных с хронической цереброваскулярной патологией // Клинич. медицина. — 2001. — Т.79. — №11. — С. 55-58.
3. Аникин, В.В. О влиянии чесночного препарата Алисата на состояние липидного обмена у больных стенокардией // В.В. Аникин // Актуальные вопросы фармакологии: сб. науч. тр., посвящ. 90-летию проф. М.М. Десницкой) / Тверская гос. мед. академия. — 1999. — С.92-93.
4. Ардатская М.Д. Метаболические эффекты пищевых волокон// Сучасна гастроентерологія. — 2010. — №3(53). — С. 79-91.
5. Аронов, Д. М. Некоторые аспекты патогенеза атеросклероза / Д. М. Аронов, В. П. Лупанов // Атеросклероз и дислипидемии. – 2011. – № 1. – С. 48-56.
6. Арутюнов Г.П. Лечение атеросклероза: актуальные вопросы стратегии и тактики // Клиническая фармакология и терапия.— 1999. Т.8, №1.—с.34-38.
7. Асеева Т.А., Блинова К.Ф., Яковлев Р.П. Лекарственные растения тибетской медицины. — Новосибирск, Наука. — 1989.
8. Бадалов Н. Г. и соавт. // Клинические рекомендации РАМН/, 2013
9. Банзаракшеев В. Г., Фармакотерапевтическая эффективность комплексного растительного средства при экспериментальных дислипидемиях: дис. на соиск. уч. степени кан. мед. наук. Улан - Удэ, 2004. — 153с.
10. Басченко Н.Ж. [и др.] // Изучение острой токсичности сборов для комплексного лечения язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной

- кишки и дисбактериоза //Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвящ. 100-летию со дня рождения проф. Березнеговской Л.Н. “Новые достижения. в создании лекарственных средств растительного происхождения” . — Томск, 2006. — С.287-288.
- 11.Белай И.М., Остапенко А.А. и др. Влияние 7-(2-гидрокси-3-изопропокси-пропил)-3-метил-8-(4-метилпиперидин-1-ил) - ксантина на показатели липидного обмена [Текст] / И. М. Белай [и др.] // Запорож. мед. журн : науч.-практ. журн. — 2011. — Т.13, №3. — С. 120-123.
 - 12.Бычков А.В., Быкова В.М., Кривошеина Л.И. // Новые достижения в исследовании хитина и хитозана: Матер. VII междуна. Конф. — С.-Петерб. — Репино, 2003. — М.: ВНИРО, 2003. — С.156-157.
 - 13.Василенко Ю. К.и соавт./ Гиполипидемическое действие веществ природного происхождения // Фармация. - 2013. - № 5. - С. 44-48
 - 14.Васильев А.П., Стрельцова Н.Н., Секисова М.А. и др./ О вероятном механизме гиперхолестеринемии и клиничкопрогностическом эффекте гиполипидемической терапии у больных ИБС // Рос. кардиолог, журн. — 2004. — №6(50). — С.85-91.
 - 15.Васканыян В.Л. Гиполипидемические свойства сапарала и олеаноловой кислоты / В.Л. Васканыян, Ю.К.Василенко, В.Д. Пономарев // Хим. фармац. журн. — 1983. — №2. — С. 49–52.
 16. Верткин А. Л. , Прохорович Е. А.// Эйконол для профилактики и лечения атеросклероза// Ж. Врач, 1991. — №9. — С.47-49.
 17. Вечканов Е.М. , Сорокина И.А. , Алилуев И.А. , Парибек И.М. , Лукаш А.И., Интенсивность протекания свободно-радикальных процессов и состояния антиоксидантных и прооксидантных систем плазмы крови RATTUS NORVEGICUS при коррекции электроимпульсным воздействием модельной острой гипоксии.// Фундаментальные исследования//. — 2012. — №8. — С.54-59.

18. Волкова Э.Г., Сохраняется ли важность немедикаментозных методов лечения у пациентов высокого сердечно-сосудистого риска// Рос. нац. конгр. "Человек и лекарство"//. — М., 2005. — С.9-11.
19. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. //Лаб. Дело // . — 1983. — №3. — С.33-35.
20. Гальцев Ю.И. Социально-гигиеническое исследование особенностей смертности населения трудоспособного возраста в крупном регионе Сибири : дис. на соиск. уч. степени кан. мед. наук. Новосибирск, 2013. — 147с.
21. Гулевская Т.С., Ложникова С.М., Сахарова А.В. и др. / Изменения сосудов головного мозга при экспериментальной гиперлипидемии /// Бюл. эксперим. биологии и медицины//. — 2000. — Т.129., №2. — С.234-240.
22. Гуревич В.С. Современные представления о патогенезе атеросклероза // Болезни сердца и сосудов. 2006. - Т. 1, № 4. - С. 4.
23. Гуревич В.С., Уразгильдеева С.А., Бутхашвили М.И., Васина Л.В. Эволюция представлений о про- и антиатерогенных свойствах липопротеинов. Атеросклероз и дислипидемии 2012г. №4 (9) - стр. 54-62
24. Гуськова Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований // Токсикологический вестник. 2010. - № 5. - с. 2-5.
25. Дзизинский А. А. // Атеросклероз : Этиология. Патогенез. Лечение /. — Иркутск : Изд-во Иркутского университета, 1997. — 280с.
26. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации / Всерос. науч. об-во кардиологов (ВНОК/ РКО). — М., 2004. — 36с.
27. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123). — Страсбург, 18 марта, 1986.

28. Ершов Александр Алексеевич, Влияние омега-3 полиненасыщенных жирных кислот на дислипидемию и гемостаз у больных ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом: дис. на соиск. уч. степ. кан. мед. наук, Москва, 2007. — 200с.
29. Житникова Л.М. «Новые» статины – новые возможности для врача и пациента. Российский медицинский журнал. — 2011. — №29. — С.1832-1835.
30. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Лапкин, Е.Б. Меньщикова/. — М.: Наука / Интерпериодика, 2001. — 343с.
31. Исаев В.А., Влияние непредельных жирных кислот w-3 класса на гемостаз сердечно-сосудистой системы//. Автореферат докторской диссертации//. — 1997. — 306с.
32. Карачаров А.Т. Коррекция гиперлипидемии у больных ИБС препаратами чеснока / А.Т. Карачаров, И.М. Храмченко // II-ая науч.-практ. конф. 574-го Воен. клинич. госпиталя "Современные технологии диагностики и лечения раненых и больных в поликлинике и стационаре" (20 мая 1999г., г. Москва) // . — М., 1999. — С.80-81.
33. Карпов Р.С., Современные проблемы атеросклероза: взгляд клинициста. Бюллетень сибирской медицины, 1, 2003, стр.13-29.
34. Климов А.Н. Иммунобиохимические механизмы развития атеросклероза. //Вестн. АМН СССР//. — 1974.— № 2. — С.29-36.
35. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. - СПб.: Питер пресс, 1995. —304с. — (Серия "Практическая медицина").
36. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. // Липопротеиды, дислипидемии и атеросклероз [Текст] // . — Л.: Медицина, 1984. — 166с.
37. Климов А.Н. Атеросклероз. Превентивная кардиология: Руководство / Под ред. Г. И. Косицкого//. — М.: Медицина, 1987. — С. 239–315. (27) (n31)

- 38.Климов А.Н., Рыженков В.Е. Методические рекомендации по экспериментальному изучению гипополидемических и антиатеросклеротических средств//. — М.: МЗ СССР, 1988.
- 39.Кобалава, Ж.Д. Спорные и нерешенные вопросы стратегии интенсивного ведения кардиологических пациентов с множественными факторами риска / Ж.Д. Кобалава // Рос. Нац. конгр. «Человек и лекарство 2005»//. — М., 2005. — С.4-7.
- 40.Коган А. Х., Кудрин А.Н. и др Свободнорадикальные перикисные механизмы патогенеза ишемии и ИМ и их фармакологическая регуляция. //Патофизиология//. — 1992. — №2. — С.5-15.
41. Копаладзе Р.Е. //Регламентация экспериментов на животных – этика, законодательство, альтернативы. / Р.Е. Колпаладзе //.— Успехи физиол. наук. — 1998. — Т. 29. — №4. — С. 74–92.
- 42.Коренская И.М., Сулин В.Ю., Сафонова Е.Ф., Постыка А.Н.// Сравнительный фармакологический анализ влияния амарантового и льняного масел на динамику липидного обмена в условиях холестериневой нагрузки.// Вестник Воронеж. гос. ун-та: серия химия, биология, фармация//.— 2006. — № 1. — С. 204-208.
- 43.Королюк М.А., Иванова Л.И., и др. Определения активности каталазы. // Лаб. дело//. — 1988. — №1. — С.16-19.
- 44.Кочеткова А.А. и др. Технология получения пектина с заданными функциональными свойствами. Международный агропромышленный журнал//. — 1992. — №6. — С.15-17.
- 45.Кудрин А.Н. и соавт., Фармакология. М., 1993. — 328с.
- 46.Куприна Е.Э., Осипова Е.В., Бачище Е.В., Разработка методики и оценка липидсвязывающей способности энтеросорбентов – пищевых волокон *in vitro*// Рыбная промышленность//. — 2004. — №3. — С.44-46.
- 47.Кухарчук, В.В. Актуальные вопросы лечения атеросклероза / В.В. Кухарчук // Терапевт, арх//. — 1996. — №12. — С.5-7.

- 48.Ланкин В.З., Тихазе А.К., Каминная В.И. и др. //Интенсификация *in vivo* свободнорадикального окисления липопротеидов низкой плотности в плазме крови больных ИБС при терапии ингибитором HMG-CoA-редуктазы правастатином и подавление липопероксидации убихиноном Q10 // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2000. — Т. 129. — №2. — С.176-179.
- 49.Лякишев А.А. Лечение гиперлипидемий // Сердце. — 2002. — Т.1. — №3. — С.113-118.
- 50.Маль Г.С. Роль и место различных методов длительной коррекции гиперлипидемий у больных ишемической болезнью сердца: автореф. дис. на соиск. степ. д-ра мед. наук / Г.С. Маль/. — КГМУ. — Курск, 2005. — 46с.
- 51.Мансурханова И.М., Приготовление некоторых лекарственных форм на эмульсионной основе: дис. канд. фармац. наук / И.М. Мансурханова/. — Ташк. фармац. ин-т. — Ташкент, 1967. —203с.
- 52.Мартынов А.И., Чельцов В.В. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в кардиологической практике: Метод. рекомендации. — М., 2007. — №2, 4. — 16с.
- 53.Метелица В.И./ Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств/. — изд. 2-е, — М.: БИНОМ, 2002. — 926с.
- 54.Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (в 2 частях)/Изд. Гриф и К , 2012 г., 944 с
- 55.Михин В.П. Влияние препарата чеснока алисата на содержание продуктов перекисного окисления липидов, активность ряда антиоксидантных ферментов и уровень липопротеидов в крови больных атеросклерозом / В.П. Михин, Н.И. Громнацкий // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1996. — Т.122. — №11. — С.502-504.

- 56.Моисеев С.В. Квай: нужен ли чеснок при атеросклерозе? / С.В. Моисеев // Клинич. фармакология и терапия. — 1997. — №6(4). — С.61- 62.
- 57.Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Павлова Л.А. Эмульгирующая и адсорбционная способность компонентов, как обоснование лекарственной формы на их основе, и механизмов их гиполипидемического действия//. — Здоровье и образование в XXI веке. — 2013. — №1-4. — Т.15. — С.390-395.
- 58.Национальные рекомендации по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2009. — №8(6). — 32с. Приложение:3.
- 59.Национальные рекомендации по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2007. — №6. — Т.6. — Приложение-3. — 80с.
- 60.Национальный научный доклад «Все о холестерине»/ под ред. акад. РАМН Л.А. Бокерия, акад. РАМН Р.Г. Оганова/. — НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. — М., 2010. —180с.
- 61.Нелер Я., Плута Я., Уланьски П. Новые достижения в исследовании хитина и хитозана: Матер. VII Междун. конф., С.-Петерб., Репино, 2003, М.: ВНИРО, 2003. — С.258-260.
- 62.Нестеров Ю.И. Атеросклероз - диагностика, лечение, профилактика. — М.: Медицина, 2007. — 254с.
- 63.Оганов Р.Г. Факторы риска атеросклероза и ишемической болезни сердца. Вопросы профилактики // Болезни сердца и сосудов: Рук-во для врачей. Под ред. Е.И. Чазова/. — М.: Медицина,1992. — Т.2. — С.155-177.
- 64.Оганов Р.Г. Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в России и некоторые влияющие на нее факторы // Кардиология. — 1994. — №4. — С.80-83.

- 65.Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я., Проблемы профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в России //Кардиология 2003 -№1. — С. 12-15.
- 66.Орехов А.Н. //Новые перспективы лечения атеросклероза: препараты чеснока//. Терапевтический журнал//. — 1998. — №8. — С. 75-78.
- 67.Орехов А.Н., Тертов В.В., Собенин И.А. и др. /Прямое антиатерогенное действие чеснока//. Бюл. эксперим. биологии и медицины//. — 1996. — №6. — С.695-697.
- 68.Офицеров Е.И. Амарант перспективное сырье использования в сельском хозяйстве и фармацевтической промышленности//. Химия и компьютерное моделирование Бутлеровские сообщения. — 2001. — Т.2. — №5. — С.1-4.
- 69.Панченко В.М., Лютова Л.В., Карабасова М.А., Ершов А.А. и соавт. Влияние тыквейнола на липидтранспортную систему и системы гемостаза, фибринолиз больных ишемической болезнью сердца//. Ж. Клиническая медицина//. — 2002. — №9. — С. 54-56.
- 70.Панченко В.М., Назлуханян С.О., Ершов А.А. и соавт. Влияние доканола и эйконола на атерогенную дислипидемию больных ИБС//. Тезисы доклада на межд. конгрессе «Человек и лекарство». — М., 1995.
- 71.Панченко В.М., Назлуханян С.О., Исаев В.А., Ершов А.А. Эйфитол и липидный обмен при различных клинических формах ИБС//. Ж. Врач//. — 1997. — №8. — С.18-19.
- 72.Перова Н.В., Метельская В.А. // Ожирение ведет к атеросклерозу [Текст] //Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. — 2004. — Т.7. — №1. — С.40-45.
- 73.Петров В.И., Смусева О.Н., Соловкина Ю.В.// Безопасность статинов//. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2012 . — N 4 . — С. 9-14.
- 74.Писарева Е.В., Власов М.Ю., Орлова Е.В. //Влияние аллогенного гидроксипатита на активность каталазы, уровень диеновых конъюгатов

- и малонового диальдегида у крыс.//Вестн. СамГУ. Естественнонаучн. сер.//. — 2012. — выпуск 9(100). — С. 217–226.
- 75.Покровская Е.В. Атеросклероз и иммунная система (по материалам семинара Европейского общества атеросклероза)//. Кардиология. — 2001. — №10. — С.69-73.
- 76.Разыкова Г.В. Фармакологическое изучение гипополидемических свойств гераноретинола, лаврового и лимонного эфирных масел: дис. на соиск. канд. степ. мед. наук. — Душанбе, 2012. — 136с.
- 77.Резник Н.Л., Третий газ. // Химия и жизнь // . — 2010. — №10. — С.40-46.
- 78.Рекомендации европейского общества кардиологов (ESC)/ европейского общества атеросклероза (EAS) по ведению пациентов с дислипидемиями. — 2011.
- 79.Рыженков В.Е. Особенности влияния насыщенных и ненасыщенных жирных кислот на обмен липидов, липопротеидов и развитие ишемической болезни сердца // . Вопр питания. — 2002. — №3. — С.40-45.
- 80.Рыженков В.Е., Ремизова О.В., Беляков Н.А. Применение энтеросорбентов для профилактики и лечения атеросклероза // В кн.: Энтеросорбция (Под ред. Н.А.Беякова). — Л. — Центр сорбционных технологий. — 1991. — С.179-224.
- 81.Рыженков, В.Е. Биологически активные вещества чеснока (*allium Sativum* L.) и их использование в питании человека/ В.Е. Рыженков, В.Г. Макаров//. Вопр. питания. — 2003. — Т.72. — №4. — С.42- 46.
- 82.Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности//. ГОСТ 12.1.007-76 [электронный ресурс] //.
- 83.Слезка, И.Е. клинико-биохимическое обоснование коррекции дислипидемий биологически активными веществами морских гидробионтов у детей школьного возраста [Текст.]: автореф. дис. на. соиск. степ. канд. мед. наук / И. Е. Слезка/. — Владивосток, 1997. — 22с.

- 84.Собенин И.А. Многофакторная профилактика атеросклероза и атеросклеротических заболеваний/ И.А. Собенин, А.Н. Орехов//. *Medicina-Altera*. — 1999. — №3. — С.7-16.
- 85.Собенин И.А. Принципы патогенетической терапии атеросклероза. Использование клеточных моделей: автореф. дис. д-ра мед. наук/ И.А. Собенин//. НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН. — М., 2006. — 48с.
86. Собенин И.А., Прянишников В.В., Рабинович Е.А., Орехов А.Н. Оценка эффективности Алликора для снижения риска развития ишемической болезни сердца при первичной профилактике.//*Тер. арх*//.— 2005. — №12. — С.9-14.
- 87.Собенин И.А., Сазонова М.А., Орехов А.Н. и др.// Полиморфизм 3256С/Т митохондриальной ДНК как маркер ишемической болезни сердца и атеросклероза : Сборник научн. трудов "Проблемы и перспективы современной науки" с материалами Четвертой Международной Телеконференции "Фундаментальные науки и практика". — Томск, 2011. — Т. 3. — №1. — С.108-110.
- 88.Собенин И.А., Филатова Л.В., Скалбе Т.А., Орехов А.Н. Применение алликора для профилактики атеросклеротических заболеваний. *Международный мед. журнал*. — № 3. — 2000. — С.25 -27.
- 89.Сусеков А.В., Зубарева М.Ю., Кухарчук В.В.// *Heart Protection Study-исследование защиты сердца (по материалам симпозиума)* [Текст]// *Клинич. фармакология и терапия*. — 2002. — №1. — С.71-74.
- 90.Темирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение//. *Лабораторное дело*. — 1981. — №4. — С.209-211.
- 91.Титов В.Н. Атеросклероз – патология полиеновых жирных кислот// *Клинич. лаборатор. диагностика*//. — 2001. — № 1. — С.3-8.

92. Титов В.Н. Физиологические основы транспорта в крови жирных кислот / В.Н. Титов // Кардиология. — 1998. — Т.38. — №1. — С.143-149.
93. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена – корреспондента РАМН, профессора Р.У., Хабриева – 2 – изд., перераб. и доп.. – М.: ОАО «Издательство “Медицина”», 2005. - 832с.:
94. Хейнерман Д. Целительные свойства чеснока. / Д. Хейнерман/. — СПб.: Питер, 1995. — 122с.
95. Хотимченко М.Ю. Гиполипидемическая активность низкоэтерифицированных пектинов при этаноловом поражении печени в эксперименте. // Биология моря//. — 2009. — Т.35. — №4. — С.302-305.
96. Хотимченко М.Ю. Сорбционные свойства и фармакологическая активность некрахмальных полисахаридов: дис. на соиск. уч. степ. к.м.н. — Владивосток. гос. мед. ун-т, Владивосток, 2011. — 327с.
97. Хотимченко М.Ю. Фармаконутрициология альгинатов. Владивосток: Дальнаука, 2009. — 180с.
98. Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и др. Фармакология некрахмальных полисахаридов.// Вестник ДВО РАН. — 2005. — № 1. — С.72-82.
99. Хотимченко Ю.С., Ковалев В.В., Савченко О.В., Зиганшина О.А. Физико-химические свойства, физиологическая активность и применение альгинатов-полисахаридов бурых водорослей.// Биология моря. — 2001. — Т.27. — №3. — С.151-162.
100. Хотимченко Ю.С., Кропотов А. В. //Энтеросорбенты для больных и здоровых// Медикофармацевтический вестник Приморья, 1998. — № 4. — С. 99-107.
101. Шальнова С.А., Оганов Р.Г., Деев А.Д. Оценка и управление риском сердечно-сосудистых заболеваний у населения России. Кардиоваск. тер. и проф. — 2004. — 4. — С.4-11.

102. Шухов В.С., Лазебник Л.Б., Шухова А.В. и др. //Терапия гиперлипидемий в амбулаторной практике // Леч. врач. — 2000. — №5-6. — С.4-11.
103. Adam O., Neuberger H.R., Böhm M., Laufs U. Prevention of atrial fibrillation with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A reductase inhibitors.// *Circulation*//, 2008, 118, 1285-93.
104. Aioi A, Shimizu T, Kuriyama K. Effect of Squalene on superoxide anion generation induced by a skin irritant, lauroylsarcosine.// *Int. J. Pharm.*//, 1995, 113, 159-164.
105. Aitken M. (for IMS Institute for Healthcare Informatics). //The Global Use of Medicines: Outlook Through 2015-2011, 26.
106. Alexandridis O., Pappas G., Elisaf M. Rhabdomyolysis due to combination therapy with cervistatin and gemfibrozil.//*Am. J. Med.*//, 2000, 109, 261-262.
107. Allain C.C., Poon L.S., Chan C.S.G., et al. //Enzymatic determination of total serum cholesterol.// *Clin. Chem.*//, 1974, 20, 470-475.
108. Alonso A., Ruiz-Gutierrez V., Martinez-Gonzalez M.A. //Monounsaturated fatty acids, olive oil and blood pressure: epidemiological, clinical and experimental evidence.// *Public Health Nutr.*//, 2006, 9, 251-257.
109. Alsheikh-Ali A.A., Maddukuri P.V., Han H., Karas R.H. //Effect of the magnitude of lipid lowering on risk of elevated liver enzymes, rhabdomyolysis, and cancer: insights from large randomized statin trials.// *J. Am. Coll. Cardiol.*//, 2007, 50, 409-18.
110. Amagase H., Petesch B.L., Matsuura H. et al. Intake of garlic and its bioactive components // *J. Nutr.*//, 2001, 131, 955-962.
111. Andrianova I.V. Effects of garlic on development of experimental atherosclerosis in rabbits/ I.V. Andrianova, A.N. Orekhov // In: 66th Congress of the European Atherosclerosis Society.//, Florence, Italy, 1996, P.101.
112. Armitage J. The safety of statins in clinical practice.// *Lancet* //, 2007, 370, 1781-1790.

113. Ashford N.A. et al. // Industrial Prospects For Chitin and Protein From Shellfish Wastes.// MIT Sea Grant Report./ MISG. 77-3: MIT Cambridge, MA, 1977.
114. Asiedu-Gyekye Isaac et al. //Absence of visible toxic effects accompanying the short-term administration of an aqueous extract of *Allium Sativa* Linn. in male Sprague-Dawley rats.// American Journal of Pharmacology and Toxicology.//, 2014, 9(1), 53-67.
115. Assmann G., Cullen P., Schulte H. //Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Muenster (PROCAM) study.// *Circulation*.//, 2002, 105(3), 310-315.
116. Augusti K.T., Mathew P.T. //Lipid lowering effect of allicin (diallyl disulfide-oxide) on long-term feeding to normal rats.// *Experientia*//, 1974, 30, 468–470.
117. Austin M.A., Breslow J.L., Hennekens C.H. et al. Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. //*JAMA*//, 1988, 260, 1917-1921.
118. Avogaro P., Bittolo Bon G., Cazzalato G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. //*Atherosclerosis*.//, 1988, 8, 79- 87.
119. Backes J.M., Howard P.A. Association of HMG-CoA reductase inhibitors with neuropathy. //*Ann. Pharmacother*.//, 2003, 37, 274-278.
120. Baigent C, Blackwell L, Emberson J et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010; 376: 1670–81.
121. Baigent C, Keech A, Kearney PM et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366 (9493): 1267–78.
122. Beck H, Wagner G. //Inhibition of cholesterol biosynthesis by allicin and ajoene in rat hepatocytes and Hep62 cells. //*Biochimica biophysica acta*.//, 1994, 1213, 57–62.

123. Becker R. //Preparations composition and nutrition of Amaranth Seed Oil // *Cereal Food (CFW)*., 1989, 34, 950-961.
124. Beltowski J., Wójcicka G. and Jamroz-Wishniewska A. //Adverse Effects of Statins - Mechanisms and Consequences.// *Current Drug Safety*., 2009, 4, 209-228.
125. Berger A, Gremaud G, Baumgartner M, et al. //Cholesterol lowering properties of amaranth gram and oil in hamsters // *Inl. J. Vitam. Nutr. Res.*., 2003, 73, 3947.
126. Berger A., Jones P., Abumweis S.S. //Plant sterols factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients // *Lipids in Health and Disease*., 2004, 3, 5.
127. Berggren A.M., Björck I.M.E., Nyman E.M.G.L., Eggum B.O. //Short-chain fatty-acid content and pH in cecum of rats given various sources of carbohydrates.// *J. Sci. Food Agric.*., 1993, 63(4), 397-406.
128. Bersano A, Ballabio E, Lanfranconi S, Mazzucco S., et al. //Statins and stroke.// *Curr. Med. Chem.*., 2008, 15, 2380-2392.
129. Beynen A.C., Buechler K.F., Van der Molen A.J., Geelen M.J.H. //The effects of lactate and acetate on fatty-acid and cholesterol biosynthesis by isolated rat hepatocyte.// *Int. J. Biochem.*., 1982, 14(3). 165-169.
130. Blundell J.E., Burley V.J. //Satiating, satiety and the action of fibre on food intake.// *Int. J. Obes.*., 1987, 11, 9-25.
131. Brownlee I.A., Allen A., Pearson J.P. et al. //Algininate as a source of dietary fiber.// *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*., 2005, 45(6), 497-510.
132. Bucolo G., David H. //Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes.// *Clin. Chem.*., 1973, 19, 476-482.
133. Budoff M.J., Ahmadi N., Gul K.M., Liu S.T., Flores F.R., et al. //Garlic extract supplemented with B vitamins, folic acid and L-arginine retards the progression of subclinical atherosclerosis: a randomized clinical trial.// *Preventive Medicine*., 2009, 49, 101-107.

134. Burstein M., Scholnick H.R., Morfin R. //Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions.// *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*//, 1980, 40, 583-595.
135. Calhoun D.A. //Aldosterone and Cardiovascular Disease Smoke and Fire.// *Circulation.*//, 2006, 114, 2572-2574.
136. Carter J. //Flax seed as a source of alpha linolenic acid.// *J. Am. Coll. Nutr.*//, 1993, 12, 551.
137. Chen W.-J.L., Anderson J.W., Jennings D. //Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol fed rats.// *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*//, 1984, 175, 2, 215-218.
138. Conforti F., Statti G., Loizzo M.R., Sacchetti G., Poll F., Menichini F. //In vitro antioxidant effect and inhibition of o-atnilase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds.// *Biol. Pharm. Bull.*//, 2005, 28(6), 1098-1102.
139. Connor W.E. //Importance of n-fatty acids in health and disease.// *Am. J. Clin. Nutr.*//, 2000, 7, 171-175.
140. Cunnane S.C., Ganguli S., Menard C., Liede A.C., et al. //High alpha-linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans.// *Br. J. Nutr.*//, 1993, 69, 443–453.
141. Das B., Yeger H., Baruchel H., Freedman M.H., et al. //In vitro cytoprotective activity of squalene on a bone marrow versus neuroblastoma model of cisplatin-induced toxicity implications in cancer chemotherapy.// *Eur. J. Cancer.*//, 2003, 39, 17, 2556-2565.
142. Dhandapani B., Ganesan R., Anandan R., Jeyakumar D., et al. //Synergistic effects of squalene and polyunsaturated fatty acid concentrate on lipid peroxidation and antioxidant status in isoprenaline-induced myocardial infarction in rats.// *African Journal of Biotechnology.*//, 2007, 6(8), 1021-1027.
143. DiMarsio P., Devasagayam T.P., Kaiser S., Sies H. //Carotenoids, tocopherols and thiols as biological singlet molecular oxygen quenchers.// *Biochem. Soc. Tran.*//, 1990, 6, 1054-1056.

144. Dongowski G. //Influence of pectin structure on the interaction with bile acids under in vitro conditions // *Z. Lebensm. Unters Forsch.*//, 1995, Bb. 201, 4, 390-398.
145. Dongowski G., Lorenz A., Anger H. //Degradation of pectins with different degrees of esterification by *Bacteroides thetaiotaomicron* isolated from human gut flora.// *Appl. Environ. Microbiol.*//, 2000, 66(4), 1321-1327.
146. Egen-Schwind C., Eckard R., Jekat F.W., Winterhoff H. // Pharmacokinetics of vinylidithiins, transformation products of allicin. // *Planta Med.*//, 1992, 58, 8-13.
147. Esterbauer H., Wag G. et al. //Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis.// *Br. Med. Bull.*//, 1993, 49, 566-576.
148. European Food Safety Authority (EFSA)// Scientific Opinion on the re-evaluation of Amaranth (E123) as a food additive// *EFSA Journal.*//, Parma, Italy, 2010, 8(7), 1649.
149. Evans E.; Miller D. //Bulking agents in the treatment of obesity.// *Nutr. Metab.*//, 1975, 18(4), 199-203.
150. Fabiani R, De Bartolomeo A., Rosignoli P., et al. //Cancer chemoprevention by hydroxytyrosol isolated from virgin olive oil through G1 cell cycle arrest and apoptosis.// *Eur. J. Cancer. Prev.*//, 2002, 11, 351-358.
151. Fabris F., Zanochi M., Bo M., et al. //Risk factors for atherosclerosis and aging.// *Int. Angiol.*//, 1994, 13, 52-58.
152. Federation of American Societies for Experimental Biology., 1987, DOI: 10.1096/fj.1530-6860.
153. Fernandez M.L., Lin E.C.K., Trejo A., McNamara D.J. //Prickly pear (*Opuntia* sp.) pectin reverses low-density-lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea-pigs // *J. Nutr.*//, 1992, 122(12), 2330-2340.
154. Fernandez M.L., Sun D.M., Tosca M., McNamara D.J. //Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein

- metabolism: a dose response study in guinea pigs // *Am. J. Clin. Nutr.*//, 1994, 59(4), 869-878.
155. Fernandez M.L., Trejo A., McNamara D.J. //Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low-density lipoprotein metabolism in cholesterol- fed guinea pigs // *J. Nutr.*//, 1990, 120(11), 1283-1290.
156. Ferrara L.A., Raimondi A.S., d'Episcopo L., et al. //Olive oil and reduced need for antihypertensive medications.// *Arch. Intern. Med.*//, 2000, 160, 837-842.
157. Fossati P., Prencipe L. //Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide.// *Clin. Chem.*//, 1982, 28, 2077-2080.
158. Fukada Y., Kimura K. and Ayaki Y. //Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats.// *Lipids.*//, 1991, 26, 395-399.
159. Gaist D., Jeppesen U., Andersen M., Garcia Rodriguez L.A. //Statins and risk of polyneuropathy: a case-control study.// *Neurology.*//, 2002, 58, 1333-1337.
160. Gallaher D.D., Gallaher C.M., Mahrt G.J., et al. //A glucomannan and chitosan fiber supplement decreases plasma cholesterol and increases cholesterol excretion in overweight normocholesterolemic humans // *J. Am. Coll. Nutr.*//, 2002, 21, 428-433.
161. Garcia-Diez F., Garcia-Mediavilla V. et al. // Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats.// *J. Nutr.*//, 1996, 126, 1766–1771.
162. Gebhardt R., Beck H. //Differential inhibitory effects of garlic-derived organosulfur compounds on cholesterol biosynthesis in primary rat hepatocyte culture.// *Lipids.*//, 1996, 31, 1269-1276.
163. Gerhardt R. //Multiple inhibitory effects of garlic extract on cholesterol biosynthesis in hepatocytes / R. Gerhardt // *lipids.*//, 1993, 28, 613-619.
164. Glicksman, M. //Utilization of seaweed hydrocolloids in the food industry. // *Hydrobiologia.*//, 1987, 151-152(1), 31-47.

165. Gonzalez M., Rivas C., Caride B. et al. //Effect of orange and apple pectin on cholesterol concentration in serum, liver and faeces // *J. Physiol. Biochem.*//, 1998. 54(2), 99-104.
166. Gorinstein S., Leontowicz H., Lojek A., et al. // Olive Oils Improve Lipid Metabolism and Increase Antioxidant. Potential in Rats Fed Diets Containing Cholesterol.// *J. Agric. Food Chem.*//, 2002, 50, 6102-6108.
167. Grove T.H. //Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium.// *Clin. Chem.*//, 1979, 25, 560-564.
168. Halvorsen B.L., Holte K., Myhrstad M.C., et al. //A systematic screening of total antioxidants in dietary plants // *J. Nutr.*//, 2002, 132, 461-471.
169. Hassan H.A. // Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on lipid profile in Rats.// *D.J.P.S.*//, Diyala, Iraq, 2012, 8(2), 83-88.
170. Havler M.E., Atherton M.R., Onsoyen E. //Alginate as a source of dietary fiber.// *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*//, 2005, 45(6), 497–510.
171. Henryk T., Ewa G., Malgorzala B., Przemyslaw L. //The effect of alcoxyglycerols, squalene and n 3 fatty acid on some innate immunity parameters m healthy people.// *Pol. Merkurusz. Lek.*//, 2005, 18(105), 303-306.
172. Insull W. //The problem of compliance to cholesterol altering therapy.// *J. Inter. Med.*//, 1997, 241, 317–325.
173. Isensee H. //Cardio-protective actions of garlic / H. Isensee, B. Rietz, R. Jacob // *Drug. Res.*//, 1993, 43, 94-98.
174. Ismail M.F., Gad M.Z., Hamdy M.A. //Study of the hypolipidemic properties of pectin, garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits // *Pharmacol. Res.*//, 1999, 39(2), 157-166.
175. Ito K., Tsuchiya Y. //The effect of algal polysaccharides on the depressing of plasma cholesterol levels in rats: Proceedings of the Seventh International Seaweed Symposium, Tokyo University Press, Tokyo, 1972.

176. Jang G., Wu L., Liang W., Wang R. //Direct stimulation of K(ATP) channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells.// *Mol. Pharmacol.*//, 2005, 68, 1757–1764.
177. Jimenez-Escrig A., Sanchez-Muniz F.J. //Dietary fiber from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties, and effects on cholesterol metabolism.// *Nutr. Res.*//, 2000, 20, 585.
178. Jing S., Yamaguchi T. //Removal of phosphate from dilute phosphate solution by an iron chitosan complex to be used as an oral sorbent.// *Bull. Chem. Soc. Jpn*//, 1992, 65, 1866-1870.
179. Johnston I.M., Johnston J.R. //Flaxseed Oil and the Power of Omega-3. // *Keats Pub.*//, New Canaan, 1990.
180. Kapourchali FR, Surendiran G, Chen L, Uitz E, Bahadori B, Moghadasian MH Animal models of atherosclerosis. *World J Clin Cases.* 2014 May 16;2(5):126-32.)
181. Kazemi M.B. et al. // Homocysteine level and coronary artery disease.// *Angiology.*//, 2006, 57(1), 9-14.
182. Kelly CR, Weisz G, Maehara A, Mintz GS, Mehran R, Lansky AJ, Parise H, de Bruyne B, Serruys PW, Stone GW. Relation of C-Reactive Protein Levels to Instability of Untreated Vulnerable Coronary Plaques (from the PROSPECT Study/ *Am. J. Cardiol.* 2014.
183. Kelly G.S. //Squalene and its potential clinical uses. // *Alternative Medicine Review.*//, 1999, 4(1), 29-36.
184. Kim S.H., Park K.S. Effects of Panax ginseng extract on lipid metabolism in humans // *Pharmacol. Res.* 2003. V. 48, № 5. P. 511–513.
185. Kimura Y., Watanabe K., Okuda H. //Effects of soluble sodium alginate on cholesterol excretion and glucose-tolerance in rats.// *J. Ethnopharmacol.*//, 1996, 54(1), 47-54.
186. Kiortsis D.N. et al. //Efficacy of combination of atorvastatin and micronised fenofibrate in the treatment of severe mixed hyperlipidemia.// *Eur. J. Clin. Pharmacol.*//, 2000, 56, 631-635.

187. Kiriyaama S., Okazaki Y., Yoshida A. //Hypocholesteremic effect of polysaccharides and polysaccharide foodstuffs in cholesterol fed rats.// *J. Nutr.*//1969, 97, 382.
188. Kishimoto Y., Wakabayashi S., Takeda H. //Hypocholesterolemic effect of dietary fiber: relation to intestinal fermentation and bile acid excretion. // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*//, 1995, 41(1), 151-161.
189. Knopp R.H., Superko H.R., Davidson M. et al. //Long-term blood cholesterol-lowering effects of a dietary fiber supplement. // *Am. J. Prev. Med.*//, 1999, 17, 18-23.
190. Knorr D. //Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development.// *Food Technol.*//,1984, 38(1), 85-97.
191. Kohno Y., Egawa Y., Itoh S. //Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. // *Biochem. Biophys. Acta.*//, 1995, 1257, 52-56.
192. Kothekar M.A. //Homocysteine in cardiovascular disease: a culprit or an innocent bystander? // *Indian J. Med. Sci.*//, 2007, 61(6), 361-71.
193. Kotti T.J., Ramirez D.M., Pfeiffer B.E. et al. //Brain cholesterol turn over required for geranylgeraniol production and learning in mice.// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*//, 2006, 103, 3869-3874.
194. Kritchevsky D. //In vitro binding properties of dietary fibre. // *Eur. J. Clin. Nutr.*//, 1995, 49(3), 113-115.
195. Kritchevsky D., Story J.A. // Fiber, hypercholesteremia, and atherosclerosis.// *Lipids.*//, 1978, 13(5), 366-369.
196. Kritchevsky D., Story J.A. // Influence of dietary fiber on cholesterol metabolism in experimental animals.// *CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition (G.A. Spiller, ed.)*//, CRC Press Inc, Boca Raton, FL, 1993, 163-178.
197. Kumar M.(N.V.R. //A review of chitin and chitosan applications.// *React. Funct. Polym.*//, 2000, 46, 1-27.

198. Kunying Zhang, Fang Yin, and Lin Lin, "Circulating Endothelial Cells and Chronic Kidney Disease," *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 364738, 2014, 7 pages
199. Labos C, Wang RH, Pilote L, Bogaty P, Brophy JM, Engert JC, Thanassoulis G. Traditional risk factors and a Genetic Risk Score are associated with age of first acute coronary syndrome. *Heart* heartjnl-2013.
200. Langhout D.J., Schutte J.B., Van Leeuwen P. et al. //Effect of dietary high- and low-methylated citrus pectin on activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks.// *Br. Poult. Sci.*//, 1999, 40(3), 340-347.
201. Lau Benjamin, H.S. //Suppression of LDL oxidation by garlic. //*J. Nutr.*//, 2001, 131(3S), 958-988.
202. Law M., Rudnicka A.R. //Statin safety: a systematic review.// *Am. J. Cardiol.*//, 2006, 97, 52-60.
203. Lawson L.D., Ransom D.K., Hughes B.G. //Inhibition of whole blood platelet aggregation by compounds in garlic clove extracts and commercial garlic products.// *Thromb Res.*//, 1992, 65(2), 141-156.
204. Levitskaia T.G., Thrall K.D. // Alginate Reduces the Absorption and Retention of Ingested Strontium in the Rat// 10th International Conference on the Health Effects of Incorporated Radionuclides./, USA, New Mexico, Santa Fe, 2009.
205. Liantonio A., Giannuzzi V., Cippone V. et al. //Fluvastatin and atorvastatin affect calcium homeostasis of rat skeletal muscle fibers in vivo and in vitro by impairing the sarcoplasmic reticulum/mitochondria Ca²⁺-release system.// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*//, 2007, 32, 626-634.
206. Link E., Parish S., Armitage J. et al. //SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy-a genomewide study.// *N. Engl. J. Med.*//, 2008, 359(8), 789-799.
207. Lo Y.L., Leoh T.H., Loh L.M., Tan C.E. //Statin therapy and small fibre neuropathy: a serial electrophysiological study.// *J. Neurol. Sci.*//, 2003, 208, 105-108.

208. Lowicka E., Beltowski J. //Hydrogen sulfide — the third gas of interest for pharmacologists. // *Pharmacol. Reports.* //, 2007, 59, 4–24.
209. Madani K.A. //Effects of trace components of dietary fat on cholesterol metabolism phytosterols, oxysterols, and squalene // *Nutr. Rev.* //, 2002, 60(11), 349-359.
210. Marleau S, Mellal K, Huynh DN, Ong H. Potential peptides in atherosclerosis therapy. *Front Horm Res.* 2014;43:93-106.
211. Marounek M., Volek Z., Synytsya A., Copikova J. //Effect of pectin and amidated pectin on cholesterol homeostasis and cecal metabolism in rats fed a high-cholesterol diet. // *Physiol. Res.* //, 2007, 56, 433-442.
212. Matheson H.B., Coon I.S., Story J.A. //Cholesterol 7- α -hydroxylase activity is increased by dietary modification with psyllium hydrocolloid, pectin, cholesterol and cholestyramine in rats. // *J. Nutr.* //, 1995, 125(3), 454-458.
213. Matheson H.B., Story J.A. //Dietary psyllium hydrocolloid and pectin increase bile-acid pool size and change bile-acid composition in rats // *J. Nutr.* //, 1994, 124(8), 1161-1165.
214. McKenney J.M. //Improving cholesterol control in managed care populations. // *Am. J. Manag Care.* //, 2000, 6(19 sup), 997-1007.
215. Meiattini F., Prencipe L., Bardelli F. et al. //The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone chromogenic system used in the enzymic determination of serum cholesterol. // *Clin. Chem.* //, 1978, 24, 2161-2165.
216. Mills EJ, Wu P, Chong G et al. Efficacy and safety of statin treatment for cardiovascular disease: a network meta-analysis of 170,255 patients from 76 randomized trials. *QJM* 2011; 104 (2): 109–24.
217. Miura T., Usami M., Tsuura Y. et al. //Hypoglycemic and hypolipidemic effect of chitosan in normal and neonatal streptozotocin induced diabetic mice. // *Biol. Pharm. Bull.* //, 1995, 18, 1623-1625.
218. Moghadasian M.H, McManus B.M., Godin D.V. et al. // Proatherogenic and atherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice possible mechanisms of action. // *Circulation.* //, 1999, 99, 1733-1739.

219. Mohamed M.S., Abdel-Kader M.M., Kassem S.S. // Effect of dietary garlic and onion on liver and tibial mineral concentrations in omega-3 fatty acids rich oil fed rats// *Agriculture & Biology Journal of North America*// — 2011. — Vol.2. — Issue.5. — p.745.
220. Moncada S., Higgs A. //The L-arginine-nitric oxide pathway. // *N. Engl. J. Med.*//, 1993, 329, 2002-2012.
221. Morcos N.C.// Modulation of lipid profile by fish oil and garlic combination// *J. Natl. Med. Assoc.*// — 1997. — 89(10). — 673-678.
222. Moundras C., Behr S.R., Demigne C. et al. //Fermentable polysaccharides that enhance fecal bile-acid excretion lower plasma-cholesterol and apoli- poprotein E-rich HDL in rats // *J. Nutr.*//, 1994, 124(11), 2179-2188.
223. Mustad V.A. //Beyond Cholesterol lowering: Deciphering the Benefits of Dietary Intervention on Cardiovascular Diseases. / V.A. Mustad, P.M. Kris-Etherton // *Current Atherosclerosis report*/, 2000, 2, 461-466.
224. Navarese E.P., Buffon A., Andreotti F. et al. Meta-analysis of impact of different types and doses of statins on new-onset diabetes mellitus *Am. J. Cardiol.* 2013, Apr 15; 111(8): 1123-30.
225. Needham M., Fabian V., Knezevic W. et al. //Progressive myopathy with up-regulation of MHC-I associated with statin therapy// *Neuromuscul Disord.*//, 2007, 17, 194- 200.
226. Neil A. //Garlic: its cardio-protective properties / A. Neil, C Silagy // *Curr. Opin. Lipidology.*//, 1994, 5, 6-10.
227. Newmark H.L. //Squalene, olive oil, and cancer risk Review and hypothesis // *Ann. NY. Acad. Sci.*//, 1999, 889, 193-203.
228. Newmark H.L. //Squalene, olive oil, and cancer risk: a review and hypothesis// *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.*//, 1997, 6, 1101-1103.
229. Nishide, E., Anzai, H., and Uchida, N. //Effects of alginates on the ingestion and excretion of cholesterol in the rat.// *J. Appl. Phycol.*//, 1993, 5, 207.
230. Nishina P.M., Freedland R.A. //The effects of dietary fiber feeding on cholesterol metabolism in rats. // *J. Nutr.*//, 1990, 120, 800-805.

- 231.Okazaki M. et al. // Isolation and identification of alginic acid from a calcareous red alga *Serraticardia maxima*.// *Bot.*//, 1982, 25, 123-131.
- 232.Orekhov A.N., Tertov V.V. //In vitro effect of garlic powder extract on lipid content in normal and atherosclerotic human aortic cells.// *Lipids.*//, 1997, 32(10), 1055-1060.
- 233.Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A. et al. //Trigger-like stimulation of cholesterol accumulation and DNA and extracellular matrix synthesis induced by atherogenic serum or low density lipoprotein in cultured cells.// *Circ. Res.*//, 1990, 66, 311-320.
- 234.Orekhov A.N., Tertov V.V., Sobenin I.A. et al. //Sialic acid content of human low density lipoproteins affects their interaction with cell receptors and intracellular lipid accumulation.// *J. Lipid. Res.*//, 1992, 33, 805- 817.
- 235.Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N., et al. //Modification of low density lipoprotein by desialylation causes lipid accumulation in cultured cells: discovery of desialyated lipoprotein with altered cellular metabolism in the blood of atherosclerotic patients.// *Biochem. Biophys. Res. Commun.*//, 1989, 11, 1209- 1211.
- 236.Orekhov A.N., Tertov V.V., Sobenin I.A., Pivovarova E.M. // Direct anti-atherosclerosis-related effects of garlic.// *Ann. Med.*//, 1995, 27, 63–65.
- 237.Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E. et al. //Olive- oil consumption and health: the possible role of antioxidants.// *Lancet Oncol.*//, 2000, 1, 107-112.
- 238.Paraskevas K.I., Tzovaras A.A., Briana D.D., Mikhailidis D.P. //Emerging indications for statins: a pluripotent family of agents with several potential applications.// *Curr. Pharm.*//, 2007, 13, 3622-3636.
- 239.Park ZH, Juska A, Dyakov D, Patel RV. Statin-associated incident diabetes: a literature review. *Consult Pharm.* 2014 May 1;29(5):317-34.
- 240.Perona J.S., Cabello-Moruno R., Ruiz-Gutierrez V. //The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function.// *J. Nutr. Biochem.*//, 2006, 17, 429-445.

241. Pierno S., De Luca A., Liantonio A, Conte C.D. //Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on excitation-contraction coupling of rat skeletal muscle.// *Eur. J. Pharmacol.*//, 1999, 364, 43-48.
242. Pierno S., De Luca A., Tricarico D. et al. //Potential risk of myopathy by HMG-CoA reductase inhibitors: a comparison of pravastatin and simvastatin effects on membrane electrical properties of rat skeletal muscle fibers.// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*//, 1995, 275, 1490-1496.
243. Pierno S., Didonna M.P., Cippone V. et al. //Effects of chronic treatment with statins and fenofibrate on rat skeletal muscle: a biochemical, histological and electrophysiological study.// *Br. J. Pharmacol.*//, 2006, 149, 909-919.
244. Platt D., Brosche T. et al.// Cholesterin-senkende Wirkung von Knoblauch?//*Deutsche Medizinische Wochenschrift.*//, 1992, 117, 962–963.
245. Popov I., Blumstein A., Lewin G. //Antioxidant effects of aqueous garlic extract. 1st communication: Direct detection using the photochemiluminescence.// *Arzneimittelforschung.*//, 1994, 44, 602-604.
246. Pushpendran C.K. et al. //Cholesterol-lowering effects of allicin in suckling rats.// *Indian journal of experimental biology.*//, 1980, 18, 858–861.
247. Qujeq D., Ataei G., Effects of dietary chitosan on serum lipid and lipoprotein concentrations in rats.// *Iranian Biomedical Journal.*//, 2000, 4(2/3), 69-73.
248. Rao C.V., Newmark H.L., Reddy B.S. //Chemopreventive effect of squalene on colon cancer //*Carcinogenesis.*//, 1998, 19(2), 287-290.
249. Razdan A., Pettersson D. // Hypolipidaemic, gastrointestinal and related responses of broiler chickens to chitosans of different viscosity.//*British Journal of Nutrition.*//, 1996, 76, 387-397.
250. Reiss A.B., Wirkowski E. //Role of HMG-CoA reductase inhibitors in neurological disorders: progress to date.//*Drugs.*//, 2007, 67, 2111-2120.
251. Remaley AT, Norata GD, Catapano AL. Novel concepts in HDL pharmacology. *Cardiovasc Res.* 2014.
252. Ren D., Noda H., Amano H., Nishino T. et al. //Study on the hypertensive and antihyperlipidemic effect of marine algae.// *Fisheries Sci.*//, 1994, 60, 83-88.

253. Richard C. Kraska. //GRAS Notification - ChitoClear® Shrimp-Derived Chitosan.//, 2012 – p.148.
254. Richter P., Schafer S.G. //The effect of squalene on the absorption of dietary cholesterol by the rat //*Res. Exp. Med.*//, 1982, 180, 189-191.
255. Romero C., Medina E., Vargas J. et al. //In vitro activity of olive oil polyphenols against Helicobacter pylori.// *J. Agric. Food Chem.*//, 2007, 55, 680-686.
256. Rosen R.T., Hiserodt R.D., Fukuda E.K. et al. //The determination of metabolites of garlic preparations in breath and human plasma // *Biofactors.*//, 2000, 13, 241-249.
257. Rosen R.T., Hiserodt R.D., Fukuda E.K. et al. //Determination of allicin, S-allylcysteine and volatile metabolites of garlic in breath, plasma or stimulated gastric fluids. //*J. Nutr.*//, 2001, 131, 968-971.
258. Roullet J.B., Xue H., Roullet C.M., et al. //Mevalonate availability affects human and rat resistance vessel function.// *J. Clin. Invest.*//, 1995, 96, 239-244.
259. Ruano G., Thompson P.D., Windemuth A. et al. //Physiogenomic analysis links serum creatine kinase activities during statin therapy to vascular smooth muscle homeostasis.// *Pharmacogenomics.*//, 2005, 6, 865-872.
260. Sainani O.S., Desai D.B., Natu M.N. et al. //Onion, garlic, and experimental atherosclerosis.// *Jpn. Heart. J.* //, 1979, 20, 351-357.
261. Saint-Leger D., Bague A., Cohen E., Chivot M. //Possible role for squalene in the pathogenesis of acne. *In vitro* study of squalene oxidation.// *Br. J. Dermatol.*//, 1986, 114, 535-542.
262. Salami M., Galli C., De Angelis L., Visioli F. //Formation of F2-isoprostanes in oxidized low density lipoprotein: inhibitory effect of hydroxytyrosol.// *Pharmacol. Res.*//, 1995, 31, 275-279.
263. Samson R.R. //Effects of dietary garlic and temporal drift on platelet aggregation (letter) / R.R. Samson // *Atherosclerosis.*//, 1982, 44, 119-120.

- 264.Sapronov N.S., Khnychenko L.K., Okunevich I.V., Gavrovskaya L.K.
Potential antiatherosclerotic drugs: novel N-substituted taurinamide derivatives
// *Adv. Exp. Med. Biol.* 2006. V. 583. P. 515–521.
- 265.Sasaki J., Iwashita M., Kono S. //Statins: beneficial or adverse for glucose
metabolism.// *J. Atheroscler. Thromb.*//, 2006, 13, 123-129.
- 266.Sattar N., Preiss D., Murray H.M., et al. Statins and risk of incident diabetes: a
collaborative meta-analysis of randomised statin trials. *Lancet* 2010;375:735-
742.
- 267.Schneeman B.O. //Dietary fiber and gastrointestinal function.// *Nutr. Rev.*//,
1987, 45, 129–132.
- 268.Schneeman B.O., Gallaher D. //Effects of dietary fiber on digestive enzyme
activity and bile acids in the small intestine.// *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*//, 1985,
180, 409-414.
- 269.Seal C.J., Mathers, J.C. //Comparative gastrointestinal and plasma cholesterol
responses of rats fed on cholesterol-free diets supplemented with guar gum and
sodium alginate.// *Br. J. Nutr.*//, 2001, 85, 317.
- 270.Seal C.J., Mathers, J.C. //Comparative gastrointestinal responses to guar gum
and a seaweed polysaccharide (sodium alginate) in rats.// *P. Nutr. Soc.*//, 1996,
55, 55A.
- 271.Seshadri S., Beiser A., Wilson P.W., Wolf P.A. //Plasma homocysteine as a
risk factor for dementia and Alzheimer's disease.// *N. Engl. J. Med.*//, 2002,
376, 476–483.
- 272.Shahidi F. et al. // Food applications of chitin and chitosans.// *Trends Food
Sci. Tech.*//, 1999, 10, 37-51.
- 273.Shields K.M. et al. //Chitosan for weight loss and cholesterol management.//
AJHP.//, 2003, 60(13), 1310-1316.
- 274.Shin D.H., Heo H.J., Lee Y. J. et al. //Amaranth squalene reduces serum and
liver lipid levels in rats fed a cholesterol diet //*Br. J. Biomed. Sci.*//, 2004,
61(1), 11-14.

- 275.Siegel G. et al.// Potassium channel activation, hyperpolarization, and vascular relaxation.// *Zeitschrift für Kardiologie*//,1991, 80, 9–24.
- 276.Simko F. //Statins: a perspective for left ventricular hypertroph treatment.// *Eur. J. Clin. Invest.*//, 2007, 37, 681-691.
- 277.Simpopoulos A.P. // Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. // *Am. J. Clin. Nutr.* //, 1993, 54, 438–463.
- 278.Sobenin L.A. //Monitoring of carotid atherosclerosis while lowering serum atherogenicity: double-blinded placebo-controlled randomized study / L.A. Sobenin, L.V. Filatova, A.N. Orekhov // *Atherosclerosis*//, 2001, 2(Sup2), 49.
- 279.Sobenin L.A., Zalepugin D.Y., Til'kunova N.A., Orekhov A.N. // Antiathe-rosclerotic and antiatherogenic effects of garlic extract principals // *Atherosclerosis*//, 2002, 3(2), 209.
- 280.Soran H., Durrington P. //Rosuvastatin: efficacy, safety and clinical effectiveness.// *Expert Opin. Pharmacother.*//, 2008, 9, 2145-2160.
281. Sosova M., Sova P. //Pharmaceutical importance of *Allium sativum* L. 1. Organic sulfur compounds and their transformation based on present knowledge.// *Ceska Slov. Farm.*//, 2001, 50, 12-20.
- 282.Stark A., Nyska A., Madar Z. //Metabolic and morphometric changes in small and large intestine in rats fed high-fiber diets.// *Toxicol. Pathol.*//, 1996, 24(2), 166-171.
- 283.Stary HC, Chandler AB, Glagov S et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Special report. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 840–56.
- 284.Strandberg T.E, Tilvis R.S et al. //Metabolic variables of cholesterol during squalene feeding in humans: Comparison with cholestyramine treatment.// *J. Lipid Res.*//, 1990, 31, 1637-1643.
- 285.Suzuki T., Nakai K., Yoshie Y. et al. //Effects of sodium alginates rich in guluronic and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol-fed rats. // *Nippon Suisan Gakk.*//, 1993b, 59, 545.

286. Tavintharan S., Sivakumar M., Lim S.C., Sum C.F. //Reduced mitochondrial coenzyme Q10 levels in HepG2 cells treated with high-dose simvastatin: a possible role in statin-induced hepatotoxicity?// *Toxicol. Appl. Pharmacol.*//, 2007, 223, 173-179.
287. Tilvis R.S., Miettinen T.A. //Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption.// *Am. J. Clin. Nutr.*//, 1986, 43, 92-97.
288. Toeller M., Buyken A.E., Heitkamp G. et al. //Fiber intake, serum cholesterol levels, and cardiovascular disease in European individuals with type 1 diabetes / EURODIAB IDDM complications study group.// *Diabetes Care.*//, 1999, 22(Sup.2), 21-28.
289. Topping D. //Hydroxypropylmethylcellulose, viscosity, and plasma- cholesterol control.// *Nutr. Rev.*//, 1994, 52(5), 176-178.
290. Toth P.P., Harper C.R., Jacobson T.A. //Clinical characterization and molecular mechanisms of statin myopathy.// *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.*//, 2008, 6, 955-969.
291. Trautwein E.A. et al. //Effect of different varieties of pectin and guar gum on plasma, hepatic and biliary lipids and cholesterol gallstone formation in hamsters fed on high-cholesterol diets.// *Br. J. Nutr.*//, 1998b, 79(5), 463-471.
292. Tsai A.C. et al. //Influence of certain fibers on serum and tissue cholesterol levels in rats.// *J. Nutr.*//, 1976, 106(1), 118-123.
293. Turner P.R., Tuomilehti J., Happonen P. et al. //Metabolic studies on the hypolipemic effect of guar gum.// *Atherosclerosis.*//, 1990, 81(2), 145-150.
294. Valla S. et al. // Genetics and biosynthesis of alginates. // *Carbohydr. Eur.*//, 1996, 14, 14-18.
295. Van Rensburg S.J., Daniels W.M., van Zyl J.M. //A comparative study of the effects of cholesterol, beta-sitosterol, beta-sitosterol glycoside, dehydroepiandrosterone sulphate and melatonin on m vitro lipid peroxidation.// *Melab. BrainDis.*//, 2000, 15, 257-265.

296. Vercauteren M., Remy E., Bauer F., Mulder P. et al. //Improvement of Peripheral Endothelial Dysfunction by Protein Tyrosine Phosphatase Inhibitors in Heart Failure.// *Circulation*., 2006, 114, 2498 – 2507.
297. Vergara-Jimenez M., Conde K. et al. //Hypolipidemic mechanisms of pectin and psyllium in guinea pigs fed high fatsucrose diets: alterations on hepatic cholesterol metabolism // *J. Lipid Res.*., 1998. 39(7), 1455-1465.
298. Visioli F., Poli A., Gall C. //Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil.// *Med. Res. Rev.*., 2002, 22, 65-75.
299. Vladutiu G.D. //Genetic predisposition to statin myopathy.// *Curr. Opin. Rheumatol.*., 2008, 20, 648-655.
300. Waldstein J. et al. //Biopolimer L-112, a chitosan with fat binding properties and potential as a weight reducing agent: a review of in vitro and vivo experiments.// *Chitosan per os*. (ed. R.A.A. Muzzarelli), Atec, Grottammare, 2000, 65–76.
301. Wang R. //Two's company, three's a crowd: can be the third endogenous gaseous transmitter?// *FASEB J.*., 2002, 16, 1792–1798.
302. Wang T., Hicks K.B., Moreau R. //Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol, and other phytosterol conjugates.// *J. Am. OilChem. Soc.*., 2002, 79, 1201-1206.
303. Warenycia M.W., Steele J.A. at al. //Hydrogen sulfide in combination with taurine or cysteic acid reversibly abolishes sodium currents in neuroblastoma cells.// *Neurotoxicology*., 1989, 10, 191–199.
304. Waterman E., Lockwood B. // Active components and clinical applications of olive oil.// *Altern. Med. Rev.*., 2007, 12(4), 331-342.
305. Weber F.L. et al. //Nitrogen in fecal bacterial, fiber, and soluble fractions of patients with cirrhosis: effects of lactulose and lactulose plus neomycin. // *J. Lab. Clin. Med.*., 1987, 110, 256-263.
306. Wei G., Ze-yu C., Yi-zhun Z. //Hydrogen sulfide and translational medicine. // *Acta. Pharmacol. Sinica.*., 2013, 34, 1284–1291.

307. Wong JP, Wijaya S, Ting KN, Wiart C, Mustafa K, Shipton F, Khoo TJ. Crude Ethanol Extract of *Pithecellobium ellipticum* as a Potential Lipid-Lowering Treatment for Hypercholesterolaemia. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2014.
308. Yamaguchi F. et al. //Relationship between molecular weights of pectin and hypocholesterolemic effects in rats.// *Biosci. Biotech. Biochem.*//, 1995, 59(11), 2130-2131.
309. Yang W., Deng Q., Huang Q. et al. //Flaxseed oil and α -lipoic acid combination reduces atherosclerosis risk factors in rats fed a high-fat diet. // *Lipids Health Dis.*//, 2012, 11, 148.
310. Yeh Yu-Yan, Yeh Shaw-Mei. //Homocysteine-Lowering Action Is Another Potential Cardiovascular Protective Factor of Aged Garlic Extract.// *Journal of nutrition*//, 2006, 136, 745-749.
311. Ylitalo R., Lehtinen S., Wuolijoki E. et al. //Cholesterol-lowering properties and safety of chitosan.// *Drug Res.*//, 2002, 52, 1-7.
312. Yoshie Y., Suzuki T., Shirai T., Hirano T. //Effect of sodium alginate on fat contents and digestive organs of rats fed with fat-free diet.// *Fish. Sci.*//, 1995, 61, 668-671.
313. Yousufzai S.Y.K.M. // 3-Hydroxy-3-Methylglutaric Acid and Experimental Atherosclerosis in Rats / Yousufzai S. Y. K., Siddiqi M.// *Experientia.*//, – 1976, 32(8), 1033–1034.
314. Zhao W., Wang R. //H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms.// *Am.J. Physiol.Heart.Circ.Physiol.*//, 2002, 283, 474-480.
315. Zhao W., Zhang J., Wang R. et al. //The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener.// *EMBO J.* //, 2001, 20, 6008–6016.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Таблица 1 к рисункам 1, 2, 3, 4, 5

Влияние отдельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс при витаминной модели гиперлипидемии

Витаминная модель гиперлипидемии						
Крысы N	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС (мг/дл) M±σ	ТГ (мг/дл) M±σ	ЛПВП (мг/дл) M±σ	ЛПНП (мг/дл) M±σ	КА M±σ
5	⁽¹⁾ Интактная	74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
5	⁽²⁾ Контроль	98,4±0,5	57,1±0,4	36,4±0,7	49,3±0,5	1,70±0,03
5	⁽³⁾ Препарат сравнения Алисат®	82,4±0,6* - 16,3%	44,2±1,4* - 22,6%	39,4±0,4* + 8,2%	43,7±0,5* - 11,4%	1,08±0,01* -36,5%
6	⁽⁴⁾ Препарат сравнения ПНЖК	83,4±0,4* - 15,2%	47,7±0,2*^ -16,5%	41,4±0,3*^ +13,7%	42,3±0,3*^ -14,2%	1,01±0,02*^ -40,6%
6	⁽⁵⁾ Чеснок 300мг/кг	82,0±0,6*# - 16,7%	43,6±0,4*# - 23,6%	39,9±0,3*# + 9,6%	42,5±0,4* - 13,8%	1,05±0,02* 38,2%
6	⁽⁶⁾ Амарантовое масло 5мл/кг	81,0±0,4*^# - 17,7%	49,6±0,5*^# - 13,1%	41,3±0,5*^ + 13,5%	42,2±0,8*^ - 14,4%	0,96±0,02*^ -43,5%
5	⁽⁷⁾ Льняное масло 5мл/кг	81,9±0,4*# - 16,8%	50,8±0,4*^# - 11,0%	40,7±0,2*^ + 11,8%	43,1±0,3* - 12,6%	1,01±0,01*^ -40,6%
6	⁽⁸⁾ Оливковое. масло 5мл/кг	83,2±0,6* - 15,4%	51,4±0,7*^# - 10,0%	40,9±0,6*^ + 12,4%	43,6±0,5*# - 11,6%	1,03±0,03* -39,4%
6	⁽⁹⁾ Хитозан 300мг/кг	79,7±0,5*^# - 19,0%	48,2±0,3*^ - 15,6%	37,4±0,5*^# + 2,7%	42,9±0,3* - 13,0%	1,13±0,03*# -33,5%
5	⁽¹⁰⁾ Альгинат 300мг/кг	80,4±0,5*^# - 18,3%	49,2±0,4*^# - 13,8%	36,7±0,7*^# + 0,8%	43,3±0,5* - 12,2%	1,19±0,05*^# -30,0%
6	⁽¹¹⁾ Пектин 300мг/кг	79,1±0,3*^# - 19,6%	48,0±0,4*^ - 15,9%	36,8±0,6*^# + 1,1%	42,7±1,1* - 13,4%	1,14±0,02*# -32,9%

*Примечание: критерий Крускала-Уоллеса: различия по отношению к контролю *(p<0,001), по отношению к препарату сравнения Алисат ^ (p<0,001), по отношению к препарату сравнения ПНЖК # (p<0,01). Процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.*

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Таблица 2 к рисункам 6, 7, 8, 9, 10

Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс при витаминной модели гиперлипидемии

Витаминная модель гиперлипидемии						
Крысы N	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС(мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП(мг/дл) M±σ	ЛПНП (мг/дл) M±σ	КА M±σ
5	Интактная ⁽¹⁾	74,1 ± 0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4	0,71±0,02*
5	Контроль ⁽²⁾	98,4±0,5	57,1±0,4	36,4±0,5	49,3±0,5	1,70±0,03
5	Препарат сравнения ⁽³⁾	82,4±0,6*	44,2±1,4*	39,4±0,4*	43,7±0,5	1,09±0,02*
6	Препарат сравнения ⁽⁴⁾	83,4±0,4*	47,7±0,2*^	41,4±0,3*	42,3±0,3	1,01±0,02*^
6	Чеснок/ Амарант ⁽⁵⁾	80,8±0,5*^# - 17,9%	46,4±0,5*^# - 18,7%	40,7±0,4*^# + 11,8%	42,6±0,5 - 13,6%	0,98±0,02*^ -42,4%
6	Чеснок/ ЛМ ⁽⁶⁾	81,5±0,6*# -17,2%	46,2±0,8*^# 19, 1%	41,0±0,4*# +1 2,6%	42,8±0,4 -13,2%	0,99±0,02*^ -41,7%
6	Чеснок/ ОМ ⁽⁷⁾	82,9±0,3* - 15,8%	48,9±0,4*^# - 14,4%	40,1±0,3* + 10,2%	43,2±0,5 - 12,4%	1,07±0,01*# -31,7%
6	Хитозан/ Амарант ⁽⁸⁾	79,1±0,4*^# - 19,6%	48,8±0,4*^# - 14,5%	39,3±0,5*^# + 8,0%	42,3±0,5 - 14,2%	1,01±0,03*^ -40,6%
6	Хитозан/ ЛМ ⁽⁹⁾	80,2±0,5*^# - 18,5%	65,8±0,5*^# + 15,2%	39,2±0,3*^# + 7,7%	42,6±0,4 - 13,6%	1,05±0,02* -38,2%
6	Хитозан/ ОМ ⁽¹⁰⁾	82,1±0,7*# - 16,6%	66,1±0,7*^# + 15,8%	38,7± 0,3*# + 6,3%	43,4±0,4 - 12,0%	1,12±0,03*# -34,1%
5	Альгинат/ Амарант ⁽¹¹⁾	81,2±0,3*^# - 17,5%	65,2±0,4*^# + 14,2%	38,4±0,4*^# + 5,5%	42,5±0,4 - 13,8%	1,11±0,02*# -34,7%
6	Альгинат/ ЛМ ⁽¹²⁾	82,0±0,2*# - 17,0%	65,7±0,4*^# + 15,1%	38,7±0,2*# + 6,3%	43,3±0,5 - 12,2%	1,12±0,01*# -34,1%
5	Альгинат/ ОМ ⁽¹³⁾	82,0±0,3*# - 16,7%	66,3±0,5*^# +16,1%	38,6± 0,5*# + 6,0%	43,8±0,4 - 11,2%	1,13±0,02*# -33,5%
6	Пектин/ Амарант ⁽¹⁴⁾	79,5±0,4*^# - 19,2%	64,4±0,4*^# + 12,8%	39,1±0,3*^# + 7,4%	42,8±0,3 - 13,2%	1,04±0,01*^ -38,8%
6	Пектин/ ЛМ ⁽¹⁵⁾	80,7±0,4*^# - 18,0%	65,1±0,3*^# + 14,0%	38,9±0,2*^# + 6,9%	43,0±0,2 - 12,8%	1,07±0,01*^# -31,7%
6	Пектин/ ОМ ⁽¹⁶⁾	82,3±0,4*# - 16,4%	66,2± 0,3*^# + 15,9%	38,3±0,4*# + 6,9%	43,0±0,6 - 12,8%	1,15±0,02*# -32,4%

Примечание: критерий Крускал-Уоллес: различия по отношению к контролю * ($p < 0,001$), по отношению к группе сравнения 3 ^ ($p < 0,01$), 4 # ($p < 0,01$). Процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Таблица 3 к рисункам 11, 12, 13, 14, 15
Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на липидный профиль у крыс при витаминной модели гиперлипидемии

Витаминная модель гиперлипидемии						
Крысы N	Компонент	Показатели липидного профиля				
5	Интактная ⁽¹⁾	ОХС(мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП(мг/дл) M±σ	ЛПНП(мг/дл) M±σ	КА M±σ
		74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
5	Контроль ⁽²⁾	98,4±0,5	57,1±0,4	36,4±0,5	49,3±0,5	1,71±0,04
5	Препарат сравнения ⁽³⁾	82,4±0,6*# ' ° - 16,3%	44,2±1,4*# ' ° - 22,6%	39,4±0,4*# ' ° + 8,4%	43,7±0,59*# ' ° - 11,4%	1,09±0,02*# ' ° -36,3%
6	Препарат сравнения ⁽⁴⁾	83,4±0,4*^ ' ° -15,2%	47,7±0,2*^ ' ° -16,5%	41,4±0,3*^ ' ° +13,7%	42,3±0,3*^ ' ° -14,2%	1,01±0,02*^ ' ° -40,9%
6	Препарат сравнения ⁽⁵⁾	67,8±0,6*^# ' ° -31,1%	47,7±1,1*^# ' ° -16,5%	40,3±0,5*^ ' ° +10,7%	29,7±0,4*^# ' ° -39,8%	0,68±0,03*^# -60,2%
6	Чеснок/ Амарант/ Хитозан ⁽⁶⁾	77,1±0,2*^# ' ° - 21,7%	45,7±0,3*^# ' ° - 20%	40,9±0,5*^# ' ° + 12,3%	41,1±0,3*^# ' ° - 16,5%	0,89±0,03*^# ' ° -48,0%

Примечание: критерий Крускал-Уоллес:

* – достоверность по отношению к контролю ($p < 0,001$);

^ – достоверность по отношению к препарату сравнения 3 ($p < 0,05$);

– достоверность по отношению к препарату сравнения 4 ($p < 0,05$);

° – достоверность по отношению к препарату сравнения 5 ($p < 0,05$);

' – достоверность по отношению к интактной группе ($p < 0,001$);

процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Таблица 4 к рисункам 16, 17, 18, 19, 20, 21

Антиоксидантная емкость нового комплекса (M±m), N=6

Витаминная диета			
Группы Животных	МДА, мкМ/мл мин	ДК, ед. ОП/мл.	Каталаза, мКат/мл
Интактная ⁽¹⁾	3,03±0,02*	5,9±0,1*	0,61±0,02*
Контрольная ⁽²⁾ (ГЛП + Н20)	5,01±0,13	6,8±0,1	0,31±0,03
Пробукол ⁽³⁾	3,47±0,39*	4,9±0,2*^	0,38±0,02*^
	-30,7%	-27,9%	+22,6%
Опытная ⁽⁴⁾ (ГЛП+ компл.)	3,43±0,03*	5,11±0,11*^	0,52±0,02*^#
	-31,5%	-28,4%	+36,7%
Твиновая диета			
Группы Животных	МДА, мкМ/мл мин	ДК, ед. ОП/мл.	Каталаза, мКат/мл
Интактная ⁽¹⁾	3,29± 0,02*	5,89±0,11*	0,60±0,02*
Контрольная ⁽²⁾ (ГЛП + Н20)	5,88±0,14	7,06±0,21	0,27±0,02
Пробукол ⁽³⁾	3,88±0,17*	3,92±0,23*	0,33±0,03*
	-34%	-44,5%	+22,2%
Опытная ⁽⁴⁾ (ГЛП+ компл.)	3,00±0,17*^#	5,20±0,17*^#	0,55±0,01*^#
	-33,5%	-27,3%	+37,0%

Примечание: критерий Крускал-Уоллес:

* – достоверность по отношению к контролю ($p < 0,001$);

^ – достоверность по отношению к препарату сравнения 3 ($p < 0,05$);

– достоверность по отношению к интактной группе ($p < 0,001$);

процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.