

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Воронежский государственный университет»  
Минобрнауки России

*На правах рукописи*

**Музалевская Екатерина Николаевна**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ  
МАСЛА СЕМЯН АМАРАНТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ОСЛОЖНЕНИЙ,  
ВЫЗЫВАЕМЫХ ИЗОНИАЗИДОМ**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:  
д.м.н., профессор  
Николаевский Владимир Анатольевич

**Воронеж – 2015**

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	13
1.1. Проблема безопасности фармакотерапии туберкулеза и структура осложнений противотуберкулезной терапии, вызываемых изониазидом .....	13
1.2. Лекарственно-индуцированные поражения печени, вызываемые изониазидом .....	18
1.3. Современные подходы к коррекции осложнений фармакотерапии туберкулеза.....	21
1.4. Состав, фармакологические свойства и перспективы использования масла семян амаранта в медицине .....	28
Заключение.....	40
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	41
2.1. Объект исследования .....	42
2.2. Сведения о препаратах сравнения и реактивах, используемых в экспериментальных исследованиях .....	44
2.3. Методы исследования пероральной острой токсичности .....	46
2.4. Методы исследования фармакологической активности.....	47
2.4.1. Антитоксическое действие .....	47
2.4.2. Мембранопротекторное действие .....	47
2.4.3. Гепатопротекторное действие .....	50
2.4.4. Влияние на функциональную активность сердца.....	50
2.4.5. Влияние на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции	51
2.4.6. Биомикроскопическая оценка микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки крыс .....	55
2.5. Лабораторные методы исследования.....	58
2.6. Патологоанатомические, гистологические и гистохимические методы исследования .....	59
2.7. Методы статистической обработки данных .....	61

<b>ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕССОВОГО МАСЛА СЕМЯН АМАРАНТА .....</b>	<b>62</b>
3.1. Изучение пероральной острой токсичности прессового масла семян амаранта.....	62
3.2. Исследование антитоксической активности прессового масла семян амаранта в тесте «гексеналовый сон».....	63
3.3. Первичная оценка гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта на фоне токсического повреждения печени, вызываемого тетрахлорметаном.....	65
3.4. Изучение влияния прессового масла семян амаранта на проницаемость мембран эритроцитов на модели кислотного гемолиза.....	71
Заключение.....	76
<b>ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕССОВОГО МАСЛА СЕМЯН АМАРАНТА НА МОДЕЛИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ.....</b>	<b>77</b>
4.1. Влияние прессового масла семян амаранта на клиническое состояние животных при интоксикации тетрахлорметаном.....	78
4.2. Влияние прессового масла семян амаранта на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции животных при интоксикации тетрахлорметаном.....	81
4.3. Исследование гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта в динамике острой интоксикации, индуцированной тетрахлорметаном .....	89
4.4. Изменение состояния микроциркуляторного русла брыжейки крыс при профилактике и лечении поражения печени, индуцированного тетрахлорметаном.....	111
Заключение.....	129
<b>ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕССОВОГО МАСЛА СЕМЯН АМАРАНТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ОСЛОЖНЕНИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗОНИАЗИДОМ.....</b>	<b>131</b>

5.1. Влияние прессового масла семян амаранта на клиническое состояние животных при интоксикации изониазидом.....	132
5.2. Влияние прессового масла семян амаранта на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции животных при интоксикации изониазидом .....	137
5.3. Влияние прессового масла семян амаранта на биохимические маркеры функций печени при интоксикации изониазидом .....	143
5.4. Результаты патологоанатомического исследования.....	152
5.5. Результаты гистологических и гистохимических исследований срезов печени .....	154
5.6. Влияние прессового масла семян амаранта на состояние микроциркуляторного русла брыжейки крыс при интоксикации изониазидом .... .....	162
Заключение.....	175
<b>ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>	<b>178</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>188</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....</b>	<b>189</b>
<b>ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	<b>190</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>191</b>
Приложения.....	213

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

В качестве одного из возможных источников биологически активных веществ можно рассматривать широко культивируемые в Центрально-Черноземном регионе растения семейства амарантовых – Amaranthaceae. Возобновляемые ресурсы и доступная сырьевая база в сочетании с высокой биологической активностью и низкой токсичностью создает обоснованные предпосылки для проведения исследований по изучению возможности применения масла семян амаранта для коррекции осложнений противотуберкулезной химиотерапии.

Несмотря на то, что реализация Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с социально значимыми заболеваниями (2007-2011 гг.)» позволила снизить заболеваемость и смертность от туберкулеза, в настоящее время эти показатели остаются на высоком уровне [85]. Заболеваемость активным туберкулезом за 2014 год составила 54 случая с впервые установленным диагнозом на 100 тысяч человек, смертность – 9,8 умерших на 100 тысяч человек [169].

Одним из основных компонентов в составе комплексного лечения больных туберкулезом является химиотерапия [80]. Однако по данным «Аналитического обзора основных статистических показателей по туберкулезу в РФ» (Москва, 2013 г.) она признана эффективной только у 53,5% впервые выявленных больных и у 43,9% – с рецидивом заболевания. Среди причин низких показателей эффективности лечения больных туберкулезом, наряду с лекарственной устойчивостью, следует выделить высокую частоту развития побочных эффектов, ограничивающих проведение полноценной химиотерапии [16, 43, 56, 78].

Нежелательные побочные реакции при химиотерапии больных туберкулезом, как правило, имеют системный характер, ухудшают качество жизни и способны привести к инвалидизации [80, 83, 90, 145]. Сведения об их

распространенности противоречивы и по данным разных авторов составляют от 13-17% до 62-65% [43, 80].

До настоящего времени одним из основных препаратов остается изониазид, который используется как в качестве монотерапии при проведении первичной и вторичной химиопрофилактики контактных по туберкулезу инфицированных лиц, так и в составе комбинированных схем химиотерапии туберкулеза. Наряду с высокой туберкулостатической активностью изониазид обладает и высокой специфической органотропной токсичностью [55, 78].

Для коррекции осложнений химиотерапии в противотуберкулезных учреждениях применяются гепатопротекторные средства растительного происхождения (производные силибинина – Карсил), препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды (Эссенциале Н, Фосфоглив), урсодезоксихолевая кислота (Урсосан), препараты непрямого детоксицирующего действия [145]. Активно ведется поиск новых средств и альтернативных подходов для коррекции осложнений химиотерапии. Так, например, перспективными метаболическими средствами коррекции гепатотоксичности, индуцированной противотуберкулезными препаратами, представляются препараты пиридоксин-L-2-пирроидон-5-карбоксилата [59] и таурина [69, 132, 185].

### **Степень научной разработанности проблемы**

В семенах амаранта содержится жирное масло, широкий спектр фармакологической активности которого обусловлен содержанием в нём множества различных биологически активных веществ и, прежде всего, фосфолипидов, фитостеринов, каротиноидов, токоферолов и сквалена.

Сотрудниками ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» разработана оригинальная технология получения масла из семян амаранта методом холодного проходного прессования [77], позволяющая сохранить биологически активные вещества в неизменном виде и значительно снизить стоимость производства масла. Унифицированная методика процесса разделения и анализа фосфолипидов [107, 135], предложенная Сафоновой Е.Ф. с соавт. (2004) впервые позволила установить количественный и качественный

состав фосфолипидного комплекса масла семян амаранта, выделив долю эссенциальных фосфолипидов (в среднем 75% от массы фосфолипидного комплекса). Проведено полное фармакогностическое изучение семян амаранта как источника жирного масла и предложен проект фармакопейной статьи предприятия «Амаранта семена» [58]. Под руководством Дзюбы В.Ф. (2007 г.) проведены технологические исследования по разработке состава мази с маслом семян амаранта для лечения ожоговых и раневых поверхностей [33, 34].

Имеются данные о применении масла семян амаранта в комплексной терапии у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, атеросклеротическими поражениями сосудов нижних конечностей, сахарным диабетом 1 и 2 типа, ишемической болезнью сердца [17, 36, 40, 96, 123, 176]. Применение масла семян амаранта для коррекции осложнений химиотерапии во фтизиатрии практически не изучено. Учитывая, что по частоте возникновения и тяжести последствий лечения при химиотерапии изониазидом доминируют полинейропатии, лекарственно-индуцированные поражения печени, побочные реакции со стороны сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта [97, 163], патогенетически обоснованным является изучение применения для коррекции осложнений химиотерапии масла семян амаранта, обладающего антиоксидантным, гиполипидемическим, противоязвенным, гастро-, гепато- и кардиопротекторным действием [126, 127, 207].

Выполнение и защита диссертационной работы входит в перспективный план НИР фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» на 2015-2019 гг. (протокол № 1500-10 от 18.12.2014).

**Цель исследования:**

Обоснование возможности применения для профилактики и лечения осложнений, индуцированных изониазидом, прессового масла семян амаранта на основании изучения его фармакологических свойств.

**Задачи исследования:**

1. Исследовать у прессового масла семян амаранта антитоксические свойства в тесте «гексеналовый сон», гепатопротекторное и мембранопротекторное действие при интоксикации, вызванной тетрахлорметаном.

2. Изучить эффективность применения прессового масла семян амаранта для профилактики и снижения выраженности патогенетических изменений со стороны центральной нервной системы, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы при интоксикации изониазидом, в сравнении с эссенциальными фосфолипидами.

3. Оценить состояние микроциркуляторного русла брюжейки крыс, при профилактике и лечении прессовым маслом семян амаранта интоксикации, вызванной изониазидом.

4. Изучить острую токсичность прессового масла семян амаранта.

**Научная новизна исследования**

Прессовое масло семян амаранта относится к IV классу токсичности.

На модели острого токсического повреждения печени, индуцированного тетрахлорметаном, впервые доказано (Патент РФ № 2526172) наличие гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта. На модели кислотного гемолиза впервые доказана способность прессового масла семян амаранта снижать проницаемость мембран эритроцитов на фоне острого токсического повреждения печени (замедляет скорость кислотного гемолиза более чем на 50%), что свидетельствует о мембранопротекторном действии.

Установлено, что введение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью животным с интоксикацией тетрахлорметаном и изониазидом сопровождается улучшением общего клинического состояния, предупреждает их гибель (в 100% наблюдений), уменьшает выраженность нарушений функциональной активности сердца и процессов пищеварения. Кроме того, при токсическом повреждении печени введение прессового масла семян амаранта уменьшает степень выраженности

синдрома цитолиза и холестаза, тормозит процессы липопероксидации, нормализует липидный обмен. Эффективность прессового масла семян амаранта сопоставима с действием эссенциальных фосфолипидов, включенных в стандарт медицинской помощи больным туберкулезом.

На основании полученных результатов впервые предложен способ профилактики и лечения прессовым маслом семян амаранта осложнений, индуцированных изониазидом (Заявка на выдачу патента РФ № 2015134660 «Способ профилактики осложнений, индуцированных изониазидом», Заявка на выдачу патента РФ № 2015134657 «Способ коррекции гепатотоксических реакций, индуцированных изониазидом»).

Предложен способ мониторинга микрососудов в проходящем свете (Патент РФ № 2555136, Патент РФ № 145519, Патент РФ № 152550), который впервые позволил наблюдать динамику изменения состояния микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки крыс при интоксикации тетрахлорметаном и изониазидом и экспериментально обосновать возможность коррекции выявленных нарушений прессовым маслом семян амаранта (Заявка на выдачу патента РФ № 2015134658 «Средство для улучшения микроциркуляторных процессов в организме и способ его использования»).

### **Научно-практическая значимость**

Впервые экспериментально обоснована целесообразность применения прессового масла семян амаранта с целью коррекции осложнений, индуцированных изониазидом. Впервые доказано, что прессовое масло семян амаранта способствует нормализации состояния микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки крыс при интоксикации тетрахлорметаном и изониазидом. В определенной степени полученные знания об особенностях изменения состояния микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки подопытных животных в норме и при патологии расширяют представление о патогенезе повреждающего действия тетрахлорметана и изониазида и возможности скрининговых исследований потенциальных гепатопротекторов.

Высокая эффективность прессового масла семян амаранта, связанная с воздействием на основные звенья патогенеза интоксикации изониазидом, позволяет рекомендовать его для проведения дальнейших исследований с целью коррекции осложнений химиотерапии во фтизиатрии.

Научные положения, полученные в результате диссертационного исследования, явились основанием для внесения изменений в информацию, содержащуюся в листке-вкладыше и для расширения показаний к применению масла семян амаранта (акт о внедрении от 14.09.2015), а так же внедрены в учебный процесс кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России (акт о внедрении от 01.10.2015); кафедр фармакологии (акты о внедрении от 29.09.2015) и патологической физиологии (акт о внедрении от 25.09.2015) ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко».

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Прессовое масло семян амаранта проявляет антитоксические свойства в тесте «гексеналовый сон», при интоксикации тетрахлорметаном оказывает гепатопротекторное и мембранопротекторное действие, не уступая по эффективности препарату эссенциальных фосфолипидов.
2. Введение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью в дозе 600 мг/кг значительно снижает летальность и способствует устранению основных патогенетических изменений при интоксикации изониазидом.
3. При лекарственно-индуцированном поражении печени изониазидом прессовое масло семян амаранта в дозе 600 мг/кг оказывает выраженное гепатопротекторное действие, сопоставимое по эффективности с препаратом эссенциальных фосфолипидов.
4. При интоксикации изониазидом прессовое масло семян амаранта в дозе 600 мг/кг уменьшает выраженность нарушений микроциркуляторных процессов.

5. Прессовое масло семян амаранта относится к малотоксичным соединениям (IV класс токсичности).

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно проведен анализ литературных данных по изучаемой проблеме, все экспериментальные исследования выполнены автором лично. Лабораторные, гистологические и гистохимические исследования проведены при непосредственном участии автора. Автором самостоятельно проведена математическая обработка данных, анализ результатов исследования, написание рукописи диссертации и автореферата, совместно с соавторами проведена подготовка всех основных публикаций и заявок на получение патентов Российской Федерации по тематике исследования.

### **Апробация результатов исследования**

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на ежегодных научных сессиях ФГБОУ ВО ВГУ (2012-2015 гг.); международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине», Санкт-Петербург, 2013; научно-технической конференции молодых ученых и специалистов Воронежской области в сфере промышленности и высоких технологий, Воронеж, 2014; а так же представлены на международных, всероссийских и региональных конференциях в Москве, Санкт-Петербурге, Воронеже, Владикавказе, Регенсбурге (Германия). Апробация проведена на межкафедральном заседании фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (протокол № 1500-01 от 30.06.2015).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 20 работ, в том числе 7 в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки РФ для публикации результатов кандидатских и докторских диссертаций, 3 патента РФ на изобретение.

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Диссертация соответствует паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, одним из основных направлений которой является поиск и разработка новых эффективных лекарственных средств для профилактики и лечения различных заболеваний, включая поиск новых биологически активных фармакологических веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, что полностью соответствует цели и задачам диссертационного исследования, включающего экспериментальное изучение фармакологических свойств прессового масла семян амаранта на экспериментальных моделях токсического повреждения печени тетрахлометаном и изониазидом. Основными методами являются эксперименты на животных и *in vitro*, что в полной мере соответствует используемым в диссертационном исследовании моделям.

### **Объем и структура научного исследования**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложений. Диссертация изложена на 212 страницах, иллюстрирована 32 таблицами, 22 рисунками. Библиографический указатель включает 212 источников, в том числе 37 публикаций зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### **1.1. Проблема безопасности фармакотерапии туберкулеза и структура осложнений противотуберкулезной терапии, вызываемых изониазидом**

Благодаря реализации Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с социально значимыми заболеваниями (2007-2011 гг.)» [117] численность больных впервые выявленным туберкулезом к 2014 году снизилась на 13,8% по сравнению с данными за 2013 год, опустившись до 54 случаев заболеваемости на 100 тысяч населения. Показатель смертности от туберкулеза, достигнув наивысшего уровня в 2005 г (22,6 на 100 тысяч населения), снизился в 2,3 раза и составил в 2014 году 9,8 на 100 тысяч человек, что на 11,6% ниже показателя 2013 года [32, 169]. Однако, эпидемическая ситуация по туберкулезу усугубляется нарастающей угрозой распространения лекарственно-устойчивых форм микобактерий туберкулеза [87, 209]. Рядом авторов отмечено, что наиболее частые случаи приобретенной множественной лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза регистрируются у больных с рецидивами заболевания, неэффективным лечением, а также перерывами и отсутствием приверженности пациентов к лечению [56, 85, 159].

Одним из основных компонентов в составе комплексного лечения больных туберкулезом является химиотерапия [80]. Вместе с тем, при использовании режимов, включающих только препараты первого ряда, частота нежелательных побочных реакций колеблется от 8% до 61%, а при применении резервных препаратов эти показатели достигают 92% [42]. При этом при развитии лекарственно-индуцированных поражений желудочно-кишечного тракта, печени, почек страдает фармакокинетика противотуберкулезных препаратов (ПП), снижается антимикобактериальный эффект, замедляются репаративные процессы [1, 42, 50, 79]. Поэтому осложнения химиотерапии зачастую не только диктуют необходимость изменения её режима, но и во многих случаях приводят к необходимости отмены эффективных

противотуберкулезных препаратов, снижению мотивации больных к лечению и показателей качества жизни [80, 83, 145].

Лечение больных туберкулезом в Российской Федерации проводится согласно Приказу МЗ РФ № 109 от 21 марта 2003 г., где определены режимы химиотерапии для всех групп больных. Для лечения больных впервые выявленным туберкулезом используют I, III, Пб и IV стандартные режимы химиотерапии. При I и III режимах применяют изониазид, рифампицин, пиразинамид и этамбутол или стрептомицин, при Пб режиме – изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол, фторхинолон и/или протионамид, канамицин/амикацин/капреомицин, при IV режиме – пиразинамид, этамбутол, протионамид, фторхинолон, канамицин/амикацин/капреомицин [119].

Одним из основных препаратов в составе комбинированных схем химиотерапии больных туберкулезом является препарат первого ряда выбора – изониазид, который обладает наиболее высокой бактериостатической активностью в отношении микобактерий туберкулеза [152] и наряду с комбинированной химиотерапией используется в качестве монотерапии при проведении первичной и вторичной химиопрофилактики контактных по туберкулезу инфицированных лиц [80].

Свойства и механизм действия препарата изучены достаточно хорошо. Изониазид – это пролекарство, активируемое гемопротеином, каталазой-пероксидазой KatG. Активен против ряда организмов рода *Mycobacterium*, проявляет бактерицидное действие по отношению к быстросебяющим микобактериям туберкулёза и бактериостатическое на микобактерии, находящиеся в фазе медленного роста [85, 110, 139].

Наряду с высокой туберкулостатической активностью изониазид обладает и высокой специфической органотропной токсичностью [161]. Частота осложнений, вызываемых изониазидом, по различным данным, колеблется от 1% до 55% [85]. По частоте возникновения и тяжести последствий в спектре осложнений химиотерапии изониазидом доминируют полинейропатии и лекарственно-индуцированные поражения печени и реже

побочные реакции со стороны сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта [80, 97, 162].

Нарушения со стороны нервной системы в структуре нежелательных побочных реакций, индуцированных изониазидом, занимают 12-24%; при этом токсическому воздействию подвержена как центральная, так и периферическая и вегетативная нервная система [42, 43, 113, 143]. Среди впервые выявленных больных с туберкулезом органов дыхания, получавших в стационаре стандартные режимы химиотерапии, по данным Лысова А.В. и соавт. (2006) нейротоксические реакции, требующие отмены изониазида, со стороны центральной нервной системы развились у 13,3% пациентов, со стороны периферической нервной системы – у 11,5% пациентов [91]. При поражении центральной нервной системы появляются чувство тревоги, страха, бессонница, снижение памяти, судороги, в тяжелых случаях психозы. При поражении преимущественно периферической нервной системы наблюдаются боли в мышцах, парестезии; при прогрессировании могут иметь место судороги, парезы и параличи с атрофией мышц [80, 113, 145]. Полиневриты встречаются чаще у «медленных» ацетиляторов, что связано с замедлением перехода пиридоксина в его активную форму пиридоксальфосфат под действием изониазида [49, 78, 137].

Наряду с этим у больных с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания и инфильтративным туберкулезом легких длительный прием ПТП сопровождается нарастанием преобладания тонуса симпатической части вегетативной нервной системы над тонусом ее парасимпатической части и общим напряжением структур вегетативной нервной системы, что усугубляет процессы нарушения адаптации и реактивности организма [82, 84]. Выраженное стимулирующее влияние катехоламинов на миокард приводит к увеличению частоты сердечных сокращений, повышению энергетических затрат и потребности миокарда в кислороде. Сочетание этих факторов ведет к гипоксии, развитию дистрофических изменений и, как следствие этого, формированию дисметаболической токсической кардиомиопатии [2].

Кардиотоксические реакции возникают не более чем у 15% пациентов и проявляются в виде соматоформной дисфункции вегетативной нервной системы, прогрессирования ИБС, стенокардии и артериальной гипертензии, тахикардии и миокардиодистрофии, регистрируемых на ЭКГ [81, 113]. Так, в проспективном исследовании (2003-2007 гг.) у детей и подростков с впервые выявленным туберкулезом, получавших стандартные режимы химиотерапии, в 37,9% случаев лечения были выявлены гепатотоксические реакции, сопровождающиеся метаболическими изменениями на ЭКГ, а в 11,4% – миокардиодистрофии. При этом при развитии миокардиодистрофии отмена изониазида не приводила к купированию симптомов осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы [162]. В литературе имеются данные о развитии брадикардии и удлинения интервала Q–T у больных с тяжело протекающим полиорганным туберкулезным инфицированием на фоне применения в течение одного года изониазида [153]. В эксперименте на крысах показано снижение силовых и скоростных показателей, нарушение диастолической функции миокарда изолированного изволюмически сокращающегося сердца на фоне длительного энтерального введения изониазида [46].

В работах ряда авторов отмечено развитие панкреатита, индуцированного изониазидом [52, 189, 197, 200].

Снижая резистентность легочных капилляров, изониазид может инициировать кровохарканье или легочное кровотечение [113]. У больных туберкулезом легких с наследственным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы эритроцитов изониазид провоцирует гемолитический криз [80].

ПТП угнетают рост сапрофитной микрофлоры, способствуя размножению условно-патогенных штаммов микроорганизмов, вследствие чего нарушается синтез витаминов группы В, усугубляются проявления иммунопатологии, увеличивается нагрузка на детоксицирующую систему организма. Факторы агрессии и продукты метаболизма патогенной

микрофлоры повреждают слизистую оболочку кишечника и нарушают его моторику, снижая тем самым биодоступность препаратов [41, 60, 149].

В исследованиях В.Ю. Мишина было показано, что в процессе проведения комбинированной химиотерапии у больных туберкулезом легких в лимфоцитах и макрофагах происходит снижение активности энергетических ферментов и инактивация эндогенного цитохрома С, являющегося основным переносчиком электронов в дыхательной цепи мембраны митохондрий и стимулятором тканевого дыхания [80].

Несмотря на все вышеперечисленное, основной причиной отмены препаратов, изменения схемы лечения и смертности являются лекарственно-индуцированные поражения печени (ЛИПП) [41].

Изониазид, по данным ряда авторов, вызывает острый гепатоцеллюлярный некроз у 20% больных в течение 3-х первых месяцев лечения, а трехкратное повышение активности индикаторных ферментов регистрируется у 20% больных с возможным развитием фульминантной печеночной недостаточности [9, 113]. Выздоровление наступает спонтанно, спустя 3-4 недели после отмены препарата, однако описаны и случаи развития распространенного массивного некроза печени. При этом по литературным данным поражения печени, индуцированные изониазидом, наиболее часто заканчиваются исходом в цирроз печени [113]. Риск развития ЛИПП увеличивается при сочетанном приеме рифампицина и изониазида [50, 113, 139]. Также, имеются данные о том, что поражения печени, индуцированные изониазидом, вносят свой вклад и в отдаленные последствия противотуберкулезной химиотерапии. Так, в ретроспективном когортном исследовании монотерапия изониазидом в течение года и более приводила к достоверному повышению смертности от цирроза печени в течение 23 лет после своего завершения [41].

Таким образом, очевидно, что одним из факторов повышения эффективности лечения туберкулеза является снижение частоты возникновения нежелательных побочных реакций на ПТП, в первую очередь ЛИПП, путем

качественной профилактики либо уменьшения выраженности последствий за счет ранней диагностики и своевременного купирования осложнений. Обе эти задачи предусматривают направленное влияние на критические звенья патогенеза осложнений фармакотерапии туберкулеза.

## **1.2. Лекарственно-индуцированные поражения печени, вызываемые изониазидом**

Увеличение числа микобактерий туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью вынуждает использовать полихимиотерапию, т.е. комбинации из 4-6 препаратов, в том числе резервного ряда, что создаёт высокую медикаментозную нагрузку на печень [7, 194].

ПТП входят в число наиболее гепатотоксичных, наряду с цитостатиками, антибактериальными и нестероидными противовоспалительными средствами, антиретровирусными, антифунгальными, антигипертензивными, психотропными лекарственными средствами, а также фитопрепаратами [116].

Лекарственно-индуцированные поражения печени (ЛИПП) – это морфологические и функциональные изменения печеночной ткани, вызванные прямым или опосредованным воздействием лекарственных средств или их метаболитов. Использование термина «лекарственное поражение печени» в МКБ-10 не предусмотрено, поэтому состояния, идентифицированные как «лекарственная идиосинкразическая болезнь печени» и «лекарственная токсическая болезнь печени» кодируются под грифом K71 – «токсические поражения печени» с уточнением по клинико-морфологическим формам заболевания [212].

Изониазид дезактивируется в организме путём ацетилирования ферментом N-ацетилтрансферазой и гидролиза. При этом его метаболизм является примером нарушения последовательности основных фаз биотрансформации ксенобиотиков: гидразидный радикал изониазида образует N-ацетилконъюгат (ацетилизониазид), являющийся субстратом для I фазы (амидный гидролиз до изоникотиновой кислоты) [113].

Изониазид является одним из наиболее распространенных ингибиторов изоформ CYP450 и риск развития гепатотоксичности при его применении определяется генным полиморфизмом изофермента CYP2E1 и значительно возрастает при комбинированном назначении лекарственных препаратов [49, 70].

Образующийся в результате ацетилирования изониазида моноацетилгидразин является гепатотоксичным соединением. При этом эффективность терапии и развитие побочных эффектов во многом обусловлены генетической неоднородностью по скорости ацетилирования. Биохимическая активность N-ацетилирования у «быстрых» ацетиляторов более чем в 2-4 раза интенсивнее, чем у «медленных», в результате чего период полувыведения изониазида у «медленных» ацетиляторов составляет 3 часа против 1,5 часа у «быстрых», что приводит к низкой эффективности терапии у «быстрых» ацетиляторов и идиосинкразии, и к развитию побочных эффектов у «медленных». При этом следует отметить, что определения фенотипа ацетилирования не входит в Стандарт медицинской помощи больных туберкулезом [121].

Диагноз ЛИПП, как правило, является диагнозом исключения, ключевым моментом, в установлении которого является подробный фармакологический анамнез, учитывая прием гепатотоксических препаратов или явления лекарственной непереносимости в прошлом [21, 25].

При ЛИПП в патологический процесс могут вовлекаться кроме гепатоцитов другие клетки печени (холангиоциты, звездчатые клетки Ито, эндотелиальные клетки), чем объясняется формирование большого разнообразия клинико-морфологических вариантов: некроз, жировая дистрофия, нарушение функции печеночных клеток при отсутствии структурных нарушений, холестаза, прогрессирующий фиброз печени с исходом в цирроз. Возможно развитие ЛИПП в виде бессимптомных форм, проявляющихся приростом основных биохимических показателей цитолиза

гепатоцитов, внутрипеченочного холестаза, а также нарушением детоксицирующей и синтетической функции [31].

Основными критериями верификации ЛИПП, согласно Guidelines in the Recognition and Prevention of Hepatotoxicity in Clinical Practic (2001), являются:

1. Временной интервал между приемом препарата и развитием гепатотоксичной реакции: возможный – от 5 до 90 дней; сомнительный – 90 дней и более.

2. Исключение альтернативной причины поражения печени путем тщательного обследования, включая биопсию печени.

3. Течение реакции после отмены препарата: возможное ЛИПП – снижение уровня печеночных ферментов на 50% от исходного в течение 8 дней; определенное ЛИПП – снижение уровня печеночных ферментов на 50% в течение 30 дней – для гепатоцеллюлярного и 180 дней – для холестатического поражения печени.

4. Положительный ответ на повторное введение препарата – повышение уровня ферментов в 2 и более раза.

Согласно критериям Совета международных научных медицинских организаций (Council for International Organizations of Medical Sciences, CIOMS) выделяют следующие типы ЛИПП [212]:

- гепатоцеллюлярное: АЛТ (> 2 норм); ЩФ (норма); АЛТ/ЩФ (> 5 норм)
- холестатическое: АЛТ (норма); ЩФ (> 2 норм); АЛТ/ЩФ (< 2 норм)
- смешанное: АЛТ (> 2 норм); ЩФ (> 2 норм); АЛТ/ЩФ (2–5 норм).

Биопсия печени не входит в перечень обязательных диагностических процедур для установления ЛИПП. Диагноз ЛИПП может быть установлен и без проведения этого исследования, тем более что признаки острого гепатита являются прямым противопоказанием к проведению пункционной биопсии. В случаях хронического течения заболевания биопсия печени позволяет провести дифференциальный диагноз с другими диффузными заболеваниями печени, имеющими характерные морфологические проявления.

Таким образом, ЛИПП представляют собой достаточно сложную в диагностическом плане и трудную для лечения задачу и требуют не только использования всех имеющихся в настоящее время диагностических и терапевтических возможностей, но и дальнейшего поиска и разработки новых эффективных способов лечения и методов профилактики.

### **1.3. Современные подходы к коррекции осложнений фармакотерапии туберкулеза**

При выявлении нежелательных побочных реакций на ПТП врачебная тактика должна определяться возможностью сохранения схем и режимов химиотерапии, соответствующих лекарственной чувствительности микобактерий. По мнению В.Ю. Мишина, доля устранимых побочных реакций на ПТП, то есть тех, которые поддаются устранению без отмены препаратов, составляет 14-33% [80].

В ряде случаев предупредить развитие осложнений химиотерапии удастся путем снижения доз применяемых препаратов, изменения метода или способа введения ПТП [7, 55, 59, 80]. Описано положительное действие физиотерапевтических методов лечения (внутривенное лазерное облучение крови, магнитолазерное облучение области проекции печени) [7].

Стандартами лечения больных туберкулезом предусмотрено проведение лечебного и энтерального питания [51, 120], применение кисломолочных продуктов и пробиотиков [7, 60]. Кроме того, для коррекции метаболических нарушений, вызванных ПТП, в некоторых исследованиях показана эффективность назначения препаратов, являющихся естественными метаболитами и обладающими мембраностабилизирующей активностью (цитохром С, веторон, цыгапан, глицин, лимонтар) [80]. Так, например, применение глицина и лимонтара у 50 больных с высоким риском развития нейротоксических реакций при проведении интенсивной химиотерапии туберкулеза позволило предотвратить развитие побочных эффектов на изониазид у 96% больных [6]. По данным других авторов, применение при

химиотерапии у больных туберкулезом легких комплексного препарата веротон, состоящего из бета-каротина с добавлением витаминов С и Е и обладающего антиоксидантным, антигипоксантным и иммуномодулирующим действием позволило снизить в 3 раза частоту неустраняемых побочных реакций [80].

Применение кортексина у 22 больных с развившимися на фоне химиотерапии впервые выявленного туберкулеза легких центральными нейротоксическими реакциями и периферическими полинейропатиями средней степени тяжести позволило продолжить назначенный режим химиотерапии без отмены изониазида [102].

Так же продолжить назначенный режим химиотерапии у 30 больных с впервые выявленным и с рецидивом инфильтративного туберкулеза легких в фазе распада с бактериовыделением позволило назначение наряду со стандартными схемами противотуберкулезной терапии мексидола [103, 105].

Для дезинтоксикации больным туберкулезом в течение 3-6 недель назначают курс приёма высоких доз витаминов (прежде всего группы В) [121]. При ЛИПП и нарушениях со стороны ЖКТ чаще используют тиамин, рибофлавин, пиридоксин, цианокобаламин, а также фолиевую кислоту, никотинамид, пантотенат кальция [80, 121]. При развитии нейротоксических реакций возможно увеличение дозы пиридоксина до максимальной суточной дозы (200 мг) [130]. Витамин Е по литературным данным предупреждает нарушение под действием ПТП желчеобразования [7].

Показана эффективность детоксикации и профилактики нежелательных побочных реакций ПТП с использованием энтеросорбентов [14, 18, 55, 157, 173].

Для лечения клинически выраженных побочных реакций на ПТП известно применение плазмафереза, эффективность которого, по мнению отдельных авторов, составляет более 80% [7].

Положительный эффект оказывает назначение желчегонных средств (печёночный сбор – бессмертник, кукурузные рыльца, аллохол, фламин), так

как восполнение недостатка желчи вследствие стимуляции её секреции способствует быстрой эвакуации токсических веществ. Для лечения заболеваний ЖКТ рекомендованы панкреатические энзимы, при нарушениях двигательной функции – стимуляторы моторики желудочно-кишечного тракта [80, 121].

При проявлениях аллергических и токсико-аллергических реакций используют антигистаминные препараты. При выраженных аллергических реакциях, а также при выраженной печёчно-клеточной недостаточности – преднизолон [7, 80, 125].

Включение в комплексную терапию 49 пациентов с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания анксиолитика афобазола способствовало нормализации функции вегетативной нервной системы, уменьшению выраженности психических нарушений, улучшению переносимости больными химиотерапии [104].

Для коррекции осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы показано назначение спазмо- и коронаролитических средств, а также препаратов, улучшающих гемодинамику в малом круге кровообращения, периферическую микроциркуляцию, метаболические процессы в миокарде и повышающие его толерантность к гипоксическим состояниям [80, 83].

Особое место в фармакологической коррекции осложнений ПТП занимают гепатопротекторы. Как показывают экспериментальные и клинические исследования, назначение некоторых препаратов из данной группы зачастую способствует направленному действию на критические звенья патогенеза ЛИПП, способствуя тем самым сохранению назначенного режима химиотерапии и улучшению показателей качества жизни больных туберкулезом.

Термин «гепатопротекторы» не является исчерпывающе описывающим группу препаратов, входящих в нее, поэтому целесообразнее говорить о «гепатотропных» средствах, что позволяет объединять в рамках одной фармакотерапевтической группы различные препараты, обладающие тем или

иным влиянием на печень [24, 109]. В настоящее время при развитии ЛИПП у больных туберкулезом используют преимущественно препараты, содержащие: флавоноиды расторопши (салимарин), адеметионин, урсодезоксихолевую кислоту и эссенциальные фосфолипиды [38, 144].

Так, на модели поражения печени, вызванного комбинацией изониазида, рифампицина и пиразинамида, показана способность салимарина предупреждать токсическое повреждение печени за счет сохранения пула восстановленного глутатиона и поддержания работы глутатион-зависимых ферментов [184, 212].

Салимарин (смесь изомеров силибинина, силикрестина, силидианина), обладает противовоспалительным действием, обусловленным блокадой TNF- $\alpha$ -зависимой активации ядерного фактора NF $\kappa$ B, модулирующего синтез многих провоспалительных медиаторов и каспаз, и кальций-зависимой активации фосфолипаз; антиоксидантным эффектом, обусловленным фенольной структурой флавоноидов; энерготропным действием за счет активации путей окисления, шунтирующих митохондриальный ферментный комплекс [145]. Кроме того, под влиянием силибинина увеличивается содержание ядерной и цитоплазматической РНК в гепатоцитах, следствием чего является увеличение синтеза белка и ускорение регенерации гепатоцитов.

К недостаткам можно отнести низкую биодоступность силибинина при пероральном применении [64]. С осторожностью необходимо назначать салимарин больным с холестазом, так как возможно нарушение эвакуации желчи [7].

В экспериментальных и клинических исследованиях показана эффективность препаратов преимущественно непрямого детоксицирующего действия – энергосберегающих антигипоксантов, разработанных на основе янтарной кислоты. К их числу относятся инфузионный раствор янтарной кислоты реамберин и оригинальный отечественный многокомпонентный инфузионный раствор ремаксол, в состав которого входят метионин, никотинамид, рибоксин, а также соли калия, магния и натрия [45]. Так, в

экспериментальном исследовании при повреждении печени ПТП показана способность сукцинатсодержащих препаратов снижать выраженность синдрома цитолиза и холестаза, нормализовать нарушения липидного обмена, повышать синтез эндогенного S-аденозил-L-метионина, а также стимулировать процессы репаративной регенерации после частичной резекции печени. Применение сукцинатсодержащих препаратов в комплексной терапии больных туберкулезом органов дыхания способствовало ликвидации диспепсического и астеновегетативного синдромов, восстановлению антиоксидантного потенциала клеток и снижению уровня индикаторных ферментов цитолиза и холестаза [145].

Клинические исследования гепатопротекторного действия урсодезоксихолевой кислоты (УДХК) при лекарственно-индуцированных поражениях печени, вызванных применением ПТП (изониазид, рифампицин, пиразинамид), продемонстрировали антихолестатическое действие и улучшение показателей печеночных трансаминаз [7, 15]. Анализируя данные последних исследований о нарастании уровня апоптоза лимфоцитов периферической крови при ЛИПП у больных туберкулезом, нельзя не учитывать и антиапоптозный эффект УДХК [7]. Однако при сочетанном применении УДХК и ПТП следует принимать во внимание вероятное участие УДХК в индукции CYP3A4 [198].

Перспективными метаболическими средствами коррекции гепатотоксичности, индуцированной ПТП, представляются препараты с включением таурина, обладающего антиоксидантным действием, положительно влияющего на течение экспериментального туберкулеза и оказывающего гепатопротекторное действие при воздействии изониазида [186].

При экспериментальном повреждении печени изониазидом и рифампицином показано антиоксидантное и гиполипидемическое действие  $\alpha$ -липоевой кислоты, являющейся коферментом и участвующей в окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты и  $\alpha$ -кетокислот [202].

Несмотря на положительный опыт применения в эксперименте и клинической практике, среди препаратов гепатопротекторного действия в Стандарт медицинской помощи больным туберкулезом, в настоящее время входят только препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды [121].

В эксперименте на фоне индуцированного изониазидом поражения печени показана способность эссенциальных фосфолипидов уменьшать проявления цитолиза и холестаза, снижать концентрацию TNF- $\alpha$  сыворотки крови, улучшать сопряженность окислительного фосфорилирования [154, 155].

В клинической практике применение эссенциальных фосфолипидов в течение 2-6 мес. у больных туберкулезом органов дыхания позволило провести полноценный курс химиотерапии без перерывов и изменения схемы лечения [164].

Гепатопротекторное действие эссенциальных фосфолипидов достигается путем непосредственного встраивания молекул фосфолипидов в структуру поврежденных печеночных клеток, замещения дефектов и восстановления барьерной функции липидного бислоя мембран. Основные механизмы действия эссенциальных фосфолипидов [138, 174]:

1. мембранопротективный: нормализация текучести клеточных мембран и репарация гепатоцитов за счёт восстановления фосфолипидного бислоя путем встраивания молекул фосфолипидов в поврежденные клеточные мембраны гепатоцитов; защита клеточных органелл (митохондрий, микросомальных ферментов) от повреждения приводит к усилению детоксицирующей функции гепатоцитов;

2. антиоксидантный: уменьшение окислительного стресса за счет предотвращения окисления липидов в печени;

3. антифибротический: препятствуют развитию фиброза, а также способствуют его регрессии путем подавления активности коллагеназы и трансформации звездчатых клеток в коллагенпродуцирующие;

4. противовоспалительный: уменьшение синтеза провоспалительных цитокинов.

Однако следует помнить, что повреждение мембраны гепатоцита, как правило, представляет собой конечное звено повреждения печени. В связи с чем, лишь восстанавливая целостность мембранных структур путем введения избытка фосфолипидов, не устранив при этом основную патогенетическую причину разрушения гепатоцитов, сложно достичь полноценного гепатопротекторного эффекта [89]. Кроме того, применение при активных формах гепатита препаратов эссенциальных фосфолипидов требует осторожности, так как в ряде случаев может способствовать усилению холестаза и активности процесса [89, 150]. Вариабельность реакции на введение в организм эссенциальных фосфолипидов предполагает связь с индивидуальной непереносимостью [3]. Согласно данным литературы, побочные эффекты препаратов эссенциальных фосфолипидов (диспептические расстройства, диарея, аллергические реакции, развитие жировой дистрофии печени), развивающиеся преимущественно при длительном применении, чаще возникают для препаратов, в состав которых входят витамины [24, 142].

Принимая во внимание частоту развития кардиотоксических реакций на фоне химиотерапии больных туберкулезом, следует учитывать риск сопутствующего прогрессирования имеющихся сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе ИБС. Так, в клинических исследованиях (Г.А. Батищева, Ю.Н. Чернов, 1996) было показано, что введение эссенциальных фосфолипидов в комплексную терапию ишемической болезни сердца может у ряда больных повышать активность перекисных процессов, углублять недостаточность антиоксидантной системы, что коррелирует с функциональными показателями сердечно-сосудистой системы [3]. Указанные эффекты связаны с тем, что входящие в состав эссенциальных фосфолипидов полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая, линоленовая, олеиновая) представляют собой субстраты для синтеза эйкозаноидов, и могут влиять на активность перекисных процессов. При этом возможно как снижение уровня продуктов липопероксидации, так и индукция перекисного окисления липидов [3, 165].

Таким образом, анализ литературных данных показал, что системный характер нежелательных побочных реакций, развивающихся при химиотерапии больных туберкулезом, как правило, диктует необходимость одновременного и длительного применения нескольких препаратов, что увеличивает нагрузку на основной орган детоксикации – печень. Это обуславливает необходимость поиска новых средств, обладающих широким спектром фармакологической активности и оказывающих направленное влияние на критические звенья патогенеза осложнений фармакотерапии туберкулеза.

#### **1.4. Состав, фармакологические свойства и перспективы использования масла семян амаранта в медицине**

В качестве одного из возможных источников биологически активных веществ для разработки новых лекарственных препаратов можно рассматривать широко культивируемые в Центрально-Черноземном регионе растения семейства амарантовых – *Amaranthaceae*. Интерес к амаранту возрос благодаря накоплению в семенах высококачественного белка и сквалена [92]. Содержание белка достигает 13-19%, что превышает его содержание в таких традиционных злаковых культурах, как пшеница, рожь, кукуруза и рис [58]. В России введение в культуру амаранта связано с именем Н.И. Вавилова, который в 30-е годы двадцатого века, изучая флору Южной Америки, заинтересовался этим растением и активно начал пропагандировать и внедрять его в России. Однако, трагические события, оборвавшие жизнь великого ученого-биолога, затормозили движение по внедрению амаранта в России [168].

Сегодня амарант включает около 75 видов [20]. В условиях глобальных изменений климата на земном шаре использование амаранта становится актуальным благодаря его уникальной способности адаптироваться к различным условиям окружающей среды [108]. В России активно ведутся работы по изучению и внедрению амаранта в хлебопекарскую, кондитерскую и химико-фармацевтическую промышленность, в производство продуктов диетического, лечебно-профилактического и детского питания [96]. При этом

наибольший интерес привлекают семена амаранта, из которых извлекают жирное масло. Большинство авторов связывают фармакологические эффекты масла семян амаранта с высоким содержанием в его составе липофильных соединений: эссенциальных фосфолипидов, ненасыщенных жирных кислот, токоферола и сквалена.

По составу жирных кислот масло семян амаранта относится к группе линолевой кислоты (содержится до 50% от суммы жирных кислот). Содержание наиболее биологически активной омега-3-линоленовой кислоты достигает 1% [58, 94, 135].

Содержание в масле семян амаранта фосфолипидов достигает 10%, при этом преобладающим компонентом является фосфатидилхолин (лецитин). Содержание эссенциальных фосфолипидов (фосфатидилхолин, фосфатидилинозит, фосфатидилэтанолламин) в фосфолипидном комплексе масла семян амаранта составляет в среднем 75 % от массы фосфолипидного комплекса амаранта [44, 58].

Содержание в масле семян амаранта токоферолов (при получении по современным технологиям) может достигать 1%, что свидетельствует о его высокой стойкости к окислению, возможно связанной с тем, что их преобладающая часть представлена  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферолами. При этом токоферолы в масле семян амаранта содержатся в виде наиболее биологически активной триенольной форме. Являясь природными жирорастворимыми антиоксидантами, токоферолы (и особенно токотриенолы) препятствуют свободно радикальным реакциям, нормализуют липидный обмен, снижают уровень холестерина в крови. Антиоксидантные свойства токоферолов используют для снижения токсичности термически обработанных пищевых масел и для увеличения сроков их хранения [121, 180].

Не менее важная роль отводится сквалену, благодаря сочетанию у него таких биологических эффектов, как антиоксидантный, гиполипидемический и антитоксический [127]. Традиционный источник получения сквалена – жир печени акул [146, 205, 210], что совершенно очевидно нельзя считать

оптимальным с позиций экономической, экологической и технологической целесообразности. Возможен синтез сквалена по реакции Виттига из 1,4-дибромбутана и транс-геранилацетона с последующим выделением транс-изомера через аддукт с тиомочевинной [96]. В современных условиях в промышленных масштабах возможно получение сквалена с применением биотехнологии путем ферментации с использованием непатогенных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [205]. Из альтернативных источников получения сквалена следует отметить растительные масла. Впервые сквален был обнаружен в оливковом масле (0,4%-0,7%). С относительно высокой долей сквален содержится в масле зародышей пшеницы – 0,1%, масле из рисовых отрубей – 0,3%, в пальмовом масле – 0,8%. Кроме того, сквален содержится в соевом масле (9,9 мг/100 г), масле виноградных косточек (14,1 мг/100 г), масле, полученном из фундука (27,9 мг/100 г), арахисовом масле (27,4 мг/100 г), кукурузном масле (27,4 мг/100 г) [146, 205].

В масле семян амаранта содержание сквалена достигает 8%, благодаря чему многие авторы считают его наиболее приемлемым источником получения сквалена в Российской Федерации.

Сквален является природным ненасыщенным углеводородом и принадлежит к обширной группе изопреноидов, которые включают  $\beta$ -каротин, убихинон, токоферол [190]. Сквален является одним из наиболее сильных «тушителей» синглетного кислорода среди всех липидов себума [66, 190, 195], защищая тем самым поверхность кожи от перекисного окисления липидов в результате воздействия УФ-излучения, озона и других источников ионизирующего излучения. Сквален защищает от самоокисления линолевою, линоленовую, докозагексаеновую и эйкозапентаеновую кислоты. Активность сквалена как антиоксиданта сравнима с эталонным антиоксидантом 3,5-ди-трет-бутил-4-гидрокситолуолом [190].

При этом следует отметить, что в эксперименте липофильный экстракт семян амаранта проявляет более выраженную антиоксидантную активность по сравнению с чистым скваленом в той же концентрации, что может быть связано

с дополнительным присутствием в экстракте токотриенолов и других биологически активных веществ, обладающих антиоксидантной активностью [207, 210]. Кроме того, по литературным данным витамин А, содержащийся в масле семян амаранта, в сочетании со скваленом лучше проникает в глубокие слои кожи и обеспечивает её регенерацию [36].

Сквален известен, в первую очередь, в качестве промежуточного продукта в синтезе холестерина, поэтому его роль в липидном обмене нередко расценивается негативно. Однако экспериментальные данные свидетельствуют о том, что только 10% сквалена используется в синтезе холестерина. В экспериментальном исследовании было показано, что замена триглицеридов пищи на сквален приводит к уменьшению у крыс абсорбции ХС до 50% [201]. В настоящее время известно, что сквален по механизму отрицательной обратной связи ингибирует 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазу [190], тем самым снижая синтез мевалоната и нарушая образование фарнезила. Это приводит к снижению биосинтеза эндогенного холестерина, что обосновывает возможность использования сквалена для профилактики развития сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, сквален потенцирует действие гиполипидемических препаратов [127, 190].

По мнению ряда авторов, антиканцерогенное действие сквалена связано со снижением биосинтеза предшественника холестерина – фарнезила. Ежедневное потребление сквалена может ингибировать синтез изопреноидов в опухолевых клетках, снижая их рост и развитие [196]. Доказано, что внутрибрюшинное введение сквалена способствует снижению летальности лабораторных животных, имеющих саркому [211].

Целесообразность использования масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью при атеросклерозе, гипертонической болезни и других сердечно-сосудистых заболеваниях обусловлена наличием в составе масла семян амаранта производных сквалена – фитостеринов (содержание достигает 2%). Как и сквален, фитостерины обладают способностью снижать уровень холестерина [178, 199]. Наибольшей

физиологической активностью обладают  $\beta$ -ситостерол, кампестерол и стигмастерол. Нормализация концентрации холестерина ЛПНП и ЛПВП приводит к повышению текучести крови, а в комплексе с ПНЖК  $\omega$ -3 – восстанавливает способность эритроцитов к физиологической деформации и существенно улучшает кровоснабжение тканей и органов.

Таким образом, содержание различных биологически активных веществ обуславливает широкий спектр фармакологической активности масла семян амаранта.

При изучении токсикологических свойств установлено, что масло семян амаранта не вызывает аллергических и анафилактических реакций. По данным биохимических, патогистологических и гистохимических исследований установлено, что однократное и длительное применение масла семян амаранта в терапевтических дозах не оказывает отрицательного влияния на жизненно важные органы и системы здоровых лабораторных животных. По результатам общеклинических исследований – не влияет на частоту сердечных сокращений и дыхательных движений, поведенческие реакции и локомоторную активность, не вызывает негативных изменений морфологических показателей периферической крови. Вместе с тем, на фоне длительного перорального введения в течение 90 дней высоких доз масла семян амаранта (5 мл/кг-10 мл/кг) отмечена вероятность развития функционального изменения состояния печени, что характеризовалось явлениями ограниченного цитолиза и холестаза. Однако, как отмечают авторы, данные дозы в 10-20 раз превышают предполагаемую терапевтическую дозу [58], что дает основания отнести масло семян амаранта к малотоксичным соединениям (IV класс токсичности). Другими авторами в экспериментальном исследовании на здоровых лабораторных животных было показано, что включение в течение 14 дней в рацион животных масла семян амаранта сопровождалось незначительным увеличением количества лимфоцитов в крови, что, по мнению авторов можно объяснить за счет усиления лимфоцитарного звена иммунитета [134].

В экспериментальном исследовании было показано, что введение в рацион хомяков в течение 4-х недель масла семян амаранта (5% от рациона) снижало по сравнению с контролем показатели общего холестерина и ЛПНП на 15 % и 22 % соответственно, ЛПОНП на 21-50 % и способствовало повышению фекальной экскреции отдельных нейтральных стеролов и урсодезоксихолевой кислоты. При этом было выявлено увеличение скорости синтеза общего холестерина, что, по мнению авторов, носило компенсаторный характер, связанный со снижением содержания эфиров холестерина в печени необходимых для образования ЛПОНП [108, 177, 181].

В литературе имеются данные о положительном опыте применения масла семян амаранта в комплексной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы. Так, например, включение в антиатерогенную диету в течение трех недель масла семян амаранта у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и гиперлипопротеидемией в сочетании с ожирением обеспечивало дозозависимый гиполипидемический эффект. Применение масла семян амаранта с суточной дозой сквалена 100 мг, 200 мг, 400 мг и 600 мг способствовало достоверному снижению в сыворотке крови общего холестерина на 14-20%, триглицеридов и ЛПОНП на 13-36%, коэффициента атерогенности на 18-32%. На фоне применения масла семян амаранта с суточной дозой сквалена 600 мг отмечено увеличение ЛПВП в сыворотке крови и максимальное увеличение на 16% в мембранах эритроцитов олеиновой кислоты, а также повышение концентрации антиатерогенных омега-3 длинноцепочечных кислот: докозапентаеновой на 9% и докозагексаеновой на 25% при снижении уровня ненасыщенных жирных кислот. На фоне диетотерапии с включением масла семян амаранта с суточной дозой сквалена 600 мг так же отмечено достоверное снижение уровня САД на 21% и ДАД на 19,1% при уменьшении в группе контроля САД на 17,1% и ДАД – на 15,3% [17, 123, 176]. При этом, как отмечает в своей работе К.В. Гонор, при приеме масла семян амаранта отмечается улучшение качества жизни больных ИБС и гиперлипопротеидемией, выражающейся в достоверном увеличении

показателей по шкалам SF-36, характеризующим физическое функционирование – на 28-105%, эмоциональное функционирование – на 26-57% [12, 26].

Показана возможность использования масла семян амаранта для лечения атеросклеротических поражений сосудов нижних конечностей в до- и послеоперационном периоде. При применении масла семян амаранта у больных с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей в сочетании со стандартным консервативным лечением происходило умеренное снижение уровня холестерина в крови, уменьшение артериального давления и увеличение содержания гемоглобина в крови в отличие от контрольной группы пациентов. У пациентов с атеросклеротическим поражением сосудов нижних конечностей, принимавших масло семян амаранта, в послеоперационном периоде отмечалась нормализация биохимических показателей крови (содержание общего белка, альбуминов, глобулинов, холестерина) и более быстрое заживление ран (первичным натяжением), по сравнению с пациентами, не принимавшими масло семян амаранта. Данный результат способствовал сокращению периода пребывания больных в стационаре [101].

Экспериментальные данные о влиянии масла семян амаранта на активность тканевого тромбопластина свидетельствуют о целесообразности его применения для профилактики тромбообразования у больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и состоянием гиперкоагуляции [65].

Кардиопротекторный эффект масла семян амаранта, показанный в экспериментальном исследовании, выполненном на самцах белых крыс на модели изопреналин-индуцированного инфаркта миокарда, по мнению авторов так же напрямую связан с гиполипидемическими, антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами. В том числе, наличие в составе масла семян амаранта антиоксиданта сквалена в комплексе с витамином Е способствует защите кардиомиоцитов от повреждения, которое происходит при накоплении холестериновых бляшек на стенках артерий [108].

Антиоксидантная активность масла семян амаранта доказана в исследованиях *in vitro* [186]. В эксперименте показана способность масла семян амаранта улучшать энергетическую функцию митохондрий печени крыс в условиях адреналин-индуцированного стресса [175].

В экспериментальном исследовании продемонстрировано влияние масла семян амаранта на антиоксидантную активность в печени и крови у мышей с лимфомой NK/Ly. Установлено повышение активности супероксиддисмутазы, каталазы и снижение глутатионпероксидазы при одновременном повышении уровня гидропероксидов и снижении накопления продуктов, связывающихся с тиобарбитуровой кислотой. При этом, как отмечают авторы, более высокая прооксидантная активность зафиксирована в клетках лимфомы NK/Ly, чем в клетках печени, что, по мнению авторов, способствует поддержанию кислородного гомеостаза и морфофункционального состояния тканей, ограничивая пролиферацию опухолевых клеток [94].

Наличие антиоксидантного действия вызвало повышенный интерес к изучению гепатопротекторной активности масла семян амаранта. Так, на модели повреждения печени тетрахлорметаном ( $\text{CCl}_4$ , четыреххлористый углерод), инициирующим окисление свободнорадикального типа за счет превращения в организме в радикал  $\text{CCl}_3\cdot$ , было показано, что профилактическое введение крысам в желудок масла семян амаранта в дозе 0,5 мл/кг в течение 6 суток сопровождалось достоверным снижением генерации супероксиданиона в гомогенате печени на 36% по сравнению с животными, получавшими только тетрахлорметан. При этом по сравнению с группой контроля, отмечено снижение уровня диеновых конъюгатов на 24,5%, кетодиенов – на 32%, малонового диальдегида – на 34,7%, что свидетельствует о том, что введение в желудок масла семян амаранта с целью профилактики  $\text{CCl}_4$ -индуцированного токсического гепатита способствует снижению образования активных форм кислорода и ограничению перекисного окисления липидов, предотвращая образование наиболее токсичных и стабильных продуктов пероксидации [126]. Другими авторами на этой же модели

повреждения печени было показано выраженное снижение синдрома холестаза при профилактическом введении масла семян амаранта, что, по мнению авторов, так же может быть связано с наличием антиоксидантных свойств [133].

Включение в диетотерапию больных ИБС и гиперлипотеидемией масла семян амаранта с суточной дозой сквалена от 100 мг до 600 мг способствовало достоверному снижению содержания продуктов пероксидного окисления липидов в плазме крови: диеновых коньюгатов на 17-29%, малонового диальдегида – на 21-46%. В свою очередь нарастание уровня ферментов антиоксидантной защиты было пропорционально концентрации сквалена, включая повышение активности глутатионредуктазы в эритроцитах на 12-47, каталазы – на 8-37% [123]. Наиболее выраженный эффект на состояние ПОЛ-АОЗ оказывало включение в диету масла семян амаранта с содержанием сквалена от 200 до 400 мг. Менее выраженная динамика наблюдалась у пациентов с включением в диету масла с содержанием сквалена в дозе 600 мг, что, очевидно, связано с относительно высоким содержанием в рационе полиненасыщенных жирных кислот.

Именно с восстановлением ранее нарушенных функций и процессов ПОЛ-АОЗ, а также повышением адаптационного потенциала связывают ученые Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого улучшение общего клинического состояния и переносимости к физической нагрузке при применении масла семян амаранта в сочетании с традиционным консервативным лечением у больных стабильной стенокардией напряжения [40]. При этом, как отмечают авторы, применение масла семян амаранта позволяет значительно снизить количество приемов и дозы антиангинальных препаратов.

Некоторые авторы высказывают предположение о том, что благодаря высокому содержанию ПНЖК, применение масла семян амаранта в сочетании с традиционным консервативным лечением пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, в патогенезе которой важное значение

имеет окислительный стресс, обусловленный как *Helicobacter pylori*, так и снижением интенсивности аэробного метаболизма, способствует активации аэробного метаболизма и восстановлению баланса прооксиданты/оксиданты, необходимого для повышения адаптационных возможностей организма [36, 108].

Особого внимания заслуживают клинические исследования по изучению применения масла семян амаранта в эндокринологии. Так, у больных сахарным диабетом 1 типа показана способность масла семян амаранта выраженно уменьшать признаки окислительного стресса и улучшать вариабельность сердечного ритма [57]. Включение масла семян амаранта с суточной дозой сквалена 600 мг в диетотерапию больных сахарным диабетом 2 типа вызывало достоверное снижение в крови уровня триглицеридов и общего холестерина на фоне уменьшения ЛПНП и ЛПОНП. Использование в терапии смеси масла семян амаранта (суточная доза сквалена 300 мг) и масла подсолнечного (сквален не содержится) способствовало нормализации углеводного профиля и повышению эффективности антигипертензивной терапии, а также уменьшению вторичной иммунной недостаточности за счет их влияния на уровень IgA, IgM и улучшения показателей фагоцитарного звена иммунитета [75, 76, 183].

Выраженный дозозависимый иммуномодулирующий и противовоспалительный эффект, проявляющийся достоверным снижением уровня IL-1 $\beta$  на 29-45% и повышением уровня IL-4 на 19-57%, так же был отмечен при введении масла семян амаранта в диетотерапию у больных ИБС и дислипидемией [11, 121].

Учитывая имеющиеся данные о иммуотропной активности масла семян амаранта и входящего в его состав сквалена, российскими учеными для коррекции иммунодефицитных состояний предложено и запатентовано иммуностимулирующее средство, содержащее масло семян амаранта [100].

Украинскими учеными показана эффективность применения масла семян амаранта при лечении больных синдромом диабетической стопы [38]. Пероральное применение масла семян способствовало снижению уровня

глюкозы в крови и улучшению коронарного и периферического кровообращения [98]. Наряду с этим, применение озонированного масла семян амаранта для перевязок активизирует биохимические и биофизические реакции организма, уменьшает воспалительные явления, стимулирует образование грануляций и эпителизацию ран, уменьшает количество случаев ампутаций конечностей [19, 98].

Отдельный интерес представляют исследования эффективности применения масла семян амаранта в спортивной медицине. Так, например, введение масла семян амаранта в рацион спортсменов сопровождалось достоверным повышением поглощения продуктов окислительной деструкции, увеличением активности каталазы и супероксиддисмутазы и улучшением параметров аэробного метаболизма и адаптивного потенциала у спортсменов [95, 206].

Представляют интерес экспериментальные исследования воронежских ученых, выполненные под руководством доцента Дзюбы В.Ф. (2007 г.) по разработке суппозиторий на основе масла семян амаранта для возможного использования в лечении геморроя и простатита [33, 34].

Доказано противовоспалительное и ранозаживляющее действие масла семян амаранта, а также его бактерицидная активность *in vitro* в отношении музейных штаммов синегнойной и кишечной палочек. Нанесение масла семян амаранта на ожоговую и раневую поверхности стимулирует процессы очищения и регенерации тканей [58]. При исследовании эффективности масла семян амаранта при заболеваниях полости рта (хронический рецидивирующий афтозный стоматит, травмы слизистой оболочки полости рта, десквамативный глоссит), кожных заболеваниях (экзема и трофические язвы голени) и послеоперационных долго незаживающих ранах, наряду с высокой регенераторной активностью авторы отмечают быстрое наступление анальгезирующего эффекта [122, 158]. По мнению Заремба Е.Х. и др., перспективным является применение масла семян амаранта для лечения поражений кожи при системных аутоиммунных заболеваниях [39].

Согласно данным Макеева А.М. с соавт., применение масла семян амаранта после сеанса лучевой терапии путем периодического смазывания зоны облучения способствует снижению кожных лучевых реакций и вероятности развития радиационного ожога [124].

По данным других авторов, использование масла семян амаранта в условиях влияния малых доз ионизирующей радиации и интоксикации фторидами приводит к повышению активности ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты и нормализации процессов перекисного окисления липидов [53].

Противоопухолевые свойства масла семян амаранта, по литературным данным, выражены достаточно умеренно. Однако, полученные экспериментальные данные, свидетельствующие о наличии устойчивой тенденции к угнетению опухолевого роста, а также тот факт, что ни в одной из исследованных доз по всем сериям испытаний масло семян амаранта не ускорило развитие опухолей, позволяет обоснованно ставить вопрос о целесообразности продолжения исследований в данной области [124].

Российскими учеными предложены и запатентованы содержащие масло семян амаранта средства для фармакотерапии обморожений, атеросклеротических поражений сосудов нижних конечностей, обладающие гиполипидемическим действием, адаптогенной и иммуномодулирующей активностью [86, 100, 101]. Однако лекарственные средства, содержащие масло семян амаранта в настоящее время в РФ не зарегистрированы.

В Воронежской области организовано производство пресового нерафинированного масла из зародышей и оболочек семян амаранта (далее – пресовое масло семян амаранта) [106]. Несмотря на то, что отжим семян в холодных прессах приводит к меньшему выходу масел, эти масла содержат меньше сопутствующих веществ [96]. Возобновляемые ресурсы и доступная сырьевая база в сочетании с высокой биологической активностью и низкой токсичностью пресового масла семян амаранта создает обоснованные

предпосылки для проведения дальнейших исследований его использования в медицине.

### **Заключение**

Проведенный анализ данных литературы показывает, что, несмотря на наличие широкого спектра биологической активности, в настоящее время в РФ отсутствуют зарегистрированные лекарственные средства, содержащие масло семян амаранта. Тем не менее, результаты клинических исследований, свидетельствующие о положительном опыте применения масла семян амаранта в комплексной терапии различных заболеваний, позволяют констатировать перспективность его применения в медицине.

Одним из преимуществ использования масла семян амаранта являются возобновляемые ресурсы и доступная сырьевая база. Тот факт, что входящие в его состав липофильные соединения, такие как эссенциальные фосфолипиды, токоферолы в редкой триенольной форме, каротиноиды, ненасыщенные жирные кислоты и сквален являются природными антиоксидантами, позволяет прогнозировать повышение по сравнению с эффектом применения монокомпонентов антиоксидантной активности и обуславливать выраженное мембранопротекторное и гепатопротекторное действие.

Высокая биологическая активность наряду с низкой токсичностью послужили предпосылками к изучению возможности применения масла семян амаранта для коррекции осложнений противотуберкулезной химиотерапии, которые, как известно, носят системный характер, являются одной из причин неэффективного лечения и как следствие – хронизации туберкулезного процесса и инвалидизации больных, что приводит к значительным экономическим потерям.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнено исследование жирного масла, выделенного прессованием из зародышей и оболочек семян амаранта по изучению фармакологических свойств и обоснованию возможности его применения для профилактики и лечения осложнений, индуцированных изониазидом.

Эксперименты и эвтаназия животных выполнены при соблюдении норм и правил по гуманному обращению с лабораторными животными с учетом требований статьи 11-й Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и правил лабораторной практики (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики») [47, 129]. При выполнении исследований учитывали рекомендации, изложенные в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств под редакцией А.Н. Миронова (2012) [131]. Эксперименты одобрены этическим комитетом по экспертизе биомедицинских исследований в ФГБОУ ВО «ВГУ» (протокол № 42-01 от 23.09.2015).

В работе использовали 829 особей: 40 белых аутбредных половозрелых мышей обоего пола в возрасте 2,5 мес. с массой тела 18-25 г; 789 белых аутбредных половозрелых крыс самцов в возрасте 3 мес. с массой тела 180-220 г (759 особей) и в возрасте 6 мес. с массой тела 300-400 г (30 особей), полученных из вивария ГБОУ ВПО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России. Животные содержались в виварии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ в условиях, соответствующих действующим Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) в пластиковых клетках при естественном световом режиме. Питание животных осуществлялось стандартным,

сертифицированным комбикормом в соответствии с действующими нормами при свободном доступе к воде и пище [29].

Для экспериментов отбирали животных, прошедших карантин в течение 14 дней. Клиническую оценку состояния здоровья животных проводили путем ежедневного наблюдения за пищевой и питьевой активностью, осмотра кожных покровов и слизистых. При оценке лабораторных и анатомо-физиологических показателей ориентировались на параметры видово-возрастной нормы [115].

При проведении всех исследований соблюдали принцип парных аналогов в подборе животных по полу, возрасту и массе тела (разница по массе тела не превышала  $\pm 10\%$ ) [29].

### **2.1. Объект исследования**

Объектом исследования являлось масло из зародышей и оболочек семян амаранта нерафинированное, получаемое методом холодного проходного прессования [106] (далее – прессовое масло семян амаранта) и выпускаемое промышленным путем фирмой-производителем – ООО «Русская Олива» (Россия) под коммерческим названием «Масло из семян амаранта», ТУ 9141-005-77872064-2011 в качестве добавки к пище.

Прессовое масло семян амаранта, используемое при проведении исследований, соответствует ТР [147, 148]. Общая характеристика, органолептические показатели и состав приведены по данным производителя в таблицах 2.1-2.3.

Оценка качества прессового масла семян амаранта, полученного от производителя, проведена на кафедре фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ по следующим показателям: определение кислотного числа, определение йодного числа, определение числа омыления, определение перекисного числа, определение наличия минеральных примесей [28], определение подлинности и количественного содержания фосфолипидов [107] и  $\alpha$ -токоферола [27].

Таблица 2.1

## Органолептические показатели прессового масла семян амаранта

Наименование	Характеристика показателя
Прозрачность	Прозрачное без осадка
Запах и вкус	Свойственные маслу амаранта, без постороннего запаха, привкуса и горечи
Цвет	От светло-желтого до зеленоватого

Таблица 2.2

## Состав липидной фракции прессового масла семян амаранта

Показатель	Содержание компонента
Триглицериды, г/100 г	78±3,0
Фосфолипиды, г/100 г	8,0±0,1
Сквален, г/100 г	5,9±0,4
Фитостерины, %	2±0,02
Токоферолы, мг/100 г	690±0,005
Каротиноиды, мг/100 г	0,5±0,04
Энергетическая ценность, ккал/кДж	711/87

Таблица 2.3

## Жирнокислотный состав прессового масла семян амаранта

Условное обозначение кислоты	Тривиальное наименование жирной кислоты	Массовая доля жирной кислоты (% от суммы жирных кислот)
C <sub>14:0</sub>	Миристиновая	0,14±0,02
C <sub>15:0</sub>	Пентадекановые	0,15±0,015
C <sub>16:0</sub>	Пальмитиновая	19,19±1,12
C <sub>16:1</sub>	Пальмитолеиновая	0,13±0,02
C <sub>17:0</sub>	Маргариновые	1,05±0,15
C <sub>18:0</sub>	Стеариновая	3,38±0,12
C <sub>18:1</sub>	Олеиновая	22,64±1,47
C <sub>18:2</sub>	Линолевая	49,89±2,02
C <sub>20:0</sub>	Арахидоновая	0,16±0,01
C <sub>20:1</sub>	Эйкозеновые	1,04±0,01
C <sub>22:0</sub>	Докозановая (бегеновая)	0,32±0,01
C <sub>24:0</sub>	Тетракозановая	0,05±0,01
C <sub>22:1</sub>	Доказеновые	0,07±0,01
C <sub>24:1</sub>	Нервоновая	0,43±0,01

Растительные масла для восполнения микронутриентов применяют внутрь, в связи с чем при проведении исследований прессовое масло семян амаранта температурой 20° С вводили животным в желудок с помощью атравматического металлического зонда.

Расчет доз прессового масла семян амаранта проводили индивидуально для каждого животного в мг/кг массы тела с учетом удельной плотности масла, равной 0,936 г/см<sup>3</sup>. Оптимальная терапевтическая доза определена исходя из литературных данных [58, 126] и результатов скрининговых исследований гепатопротекторной активности.

Согласно методическим рекомендациям по изучению гепатопротективной активности препаратов фосфолипидов [131], в качестве препарата сравнения был выбран гепатопротектор, содержащий эссенциальные фосфолипиды соевых бобов, включенные в Стандарт медицинской помощи больным туберкулезом [121] (далее – ЭФЛ) – лекарственный препарат «Эссенциале Н» (производства Санофи-Авентис С.А., Испания, № регистрационного удостоверения: П №016326/01; форма выпуска – раствор для внутривенного введения; 50 мг/мл, в ампулах темного стекла). Фармако-терапевтическая группа: гепатопротекторное средство; доказательства эффективности при токсических поражениях печени и стеатозе печени получены на основе рандомизированных контролируемых исследованиях (уровень доказательности «В») [156].

## **2.2. Сведения о препаратах сравнения и реактивах, используемых в исследованиях**

1. 1,5-диметил-5-(циклогексен-1-ил)-барбитурат натрия (порошок Гексенал, производства «Рижский ХФЗ», Латвия) – для проведения теста «гексеналовый сон»;
2. Альфа-Хлоралоза, 97% (производства Acros Organics, USA) – для внутрибрюшинного наркоза при биомикроскопии;
3. Гепарин натрия – лекарственный препарат (производства ООО «Омела», Россия, № регистрационного удостоверения: П N015248/01; форма выпуска – раствор для инъекций, 5000 ЕД/мл в ампулах);
4. Гидразид изоникотиновой кислоты (субстанция производства Alfa Aesar, United Kingdom) – моделирование лекарственно-индуцированного поражения печени;

5. Кальция хлорид, раствор для инъекций 10% (производства ОАО «Дальхимфарм», Россия, № регистрационного удостоверения: ЛС-000510) – для приготовления раствора кальций-формол по Бейкеру, используемого для фиксации липидов при гистохимических исследованиях;
6. Кислота соляная реактивная химически чистая (производства ОАО «Каустик», Россия, ГОСТ 3118-77) – моделирование кислотного гемолиза эритроцитов;
7. Масло кукурузных зародышей нерафинированное, недезодорированное (производства ООО "ВостокСибТорг", Россия) – выбрано как препарат сравнения при биомикроскопии;
8. Натрия хлорид, раствор для инъекций 0,9% (производства ОАО «Фарма-синтез», Россия, № регистрационного удостоверения: ЛП-001960) – для введения животным и орошения операционного поля при биомикроскопии;
9. Натрия цитрат, раствор 38% (производства НПО «Ренам», Россия, ТУ 9398-027-05595541-2009) – для стабилизации крови;
10. Трихлорметан стабилизированный 0,6-1% масс. этанола (хлороформ, производства ЗАО «Вектон», Россия, ТУ 2631-066-44493179-01) – для эвтаназии и ингаляционного наркоза;
11. Уретан, 97% (производства Acros Organics, USA) – для внутрибрюшинного наркоза при биомикроскопии;
12. Формалин, 10,0% водный раствор (ТУ 38,30314-89) – для фиксации образцов органов при гистологических исследованиях;
13. Четыреххлористый углерод (син. тетрахлорметан), химически чистый, (производства ООО «Компонент-Реактив», Россия, ТУ 2631-027-44493179-98) – моделирование токсического повреждения печени;
14. Этанол (спирт этиловый), раствор для наружного применения и приготовления лекарственных форм (производства ОАО ПХФК «Медхимпром», Россия) – для целей дезинфекции операционного поля и рук экспериментатора.

### 2.3. Методы исследования пероральной острой токсичности

Исследование токсичности проведено с учетом рекомендаций, изложенных в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств под редакцией А.Н. Миронова (2012) [131] и ГОСТ 32644-2014 (2015) [29] на 20 белых аутбредных половозрелых крысах самцах в возрасте 3 мес. со средней массой тела  $185,6 \pm 6,9$  г, 40 белых аутбредных мышах самцах и самках в возрасте 2,5 мес. со средней массой тела 18-22 г при внутрижелудочном способе введения.

Прессовое масло семян амаранта вводили животным однократно в желудок с помощью атравматичного металлического зонда (с учетом объема зонда). Во всех экспериментах животным контрольных групп вводили воду дистиллированную в эквивалентных объемах.

Исследование острой токсичности прессового масла семян амаранта на мышах выполнено в следующих дозах: 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 10 000 мг/кг. Все животные были разделены на 4 группы (по 10 голов в каждой, поровну самцов и самок).

Исследование острой токсичности прессового масла семян амаранта на крысах выполнено в дозе 30 000 мг/кг. Данная доза по объему является максимально допустимой при введении в желудок крысам с данной массой тела [129, 131]. Животные были разделены на 2 группы по 10 голов в каждой.

Продолжительность наблюдения за животными при изучении острой токсичности составляла 14 суток, в 1-е сутки животные находились под непрерывным наблюдением. Фиксировали летальность, общее состояние животных (состояние шерстного и кожного покровов, двигательную активность), а также наличие и характер судорог, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, нервно-мышечную возбудимость [29, 131]. По окончании экспериментов проводили патологоанатомическое исследование и определение массы внутренних органов.

## **2.4. Методы исследования фармакологической активности**

### **2.4.1. Антитоксическое действие**

Оценка антитоксической активности выполнена с учетом рекомендаций, изложенных в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств под редакцией А.Н. Миронова (2012) [131] на модели гексеналовой пробы на 15 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой  $220,5 \pm 5,0$  г.

Для индукции сна использовали 1,5-диметил-5-(циклогексен-1-ил)-барбитурат натрия (коммерческое название – Гексенал). Гексенал вводили в виде свежеприготовленного 4,0% водного раствора однократно внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг [22]. Дозы в пересчете на миллилитры раствора рассчитывали индивидуально для каждого животного исходя из массы тела. Сразу после введения гексенала каждое животное помещали на мягкую теплую ткань в отдельную емкость, позволяющую легко осуществлять визуальное наблюдение.

Наступление засыпания регистрировали по принятию животным бокового положения и смыканию век. Пробуждение определяли после самостоятельного переворачивания из бокового положения, открытию глаз и возобновлению активных движений [22, 171].

При помощи секундомера индивидуально для каждого животного в группе регистрировали продолжительность сна, которую определяли как разницу между временем засыпания и временем пробуждения и выражали в минутах.

### **2.4.2. Мембранопротекторное действие**

Изучение влияния на структурно-функциональные свойства и проницаемость биологических мембран выполнено на модели кислотного гемолиза на фоне токсического поражения печени тетрахлорметаном. Использовали модифицированный метод регистрации химических (кислотных) эритрограмм по Терскову И.А., Гительзону И.И. (1957) [118]. Влияние изучаемого фармакологического вещества, выступающего в качестве

модификатора структурно-функциональных свойств белково-липидных комплексов плазматических мембран, оценивали по изменению химической резистентности эритроцитарных клеток к индукторам кислотного гемолиза на 3-х компонентной модельной системе, включающей: «модификатор» – масло семян амаранта; «мембрану» – суспензия мембран эритроцитов крыс; «деструктор» – компонент, вызывающий кислотный гемолиз эритроцитов.

Влияние масла семян амаранта на изменение резистентности клеточных мембран проводили с использованием методики автоматической регистрации кислотных эритрограмм, основанной на фотометрической регистрации процесса гемолиза во времени, разработанной на кафедре биофизики и биотехнологии Воронежского государственного университета [118].

Объектом исследования служили эритроциты крови 30 белых аутбредных крыс самцов массой  $209,2 \pm 8,4$  г. Забор крови осуществляли методом резекции дистальной части хвоста наркотизированных с помощью хлороформа животных, в каждой серии опытов манипуляцию осуществляли в одно и то же время суток. Кровь самотеком набирали в пробирку со стабилизатором (0,1 мл гепарина (5000 ЕД в 1 мл) из расчёта на 1-1,5 мл крови). С целью получения суспензии эритроцитов кровь, стабилизированную гепарином, центрифугировали на центрифуге лабораторной (модель ШХ2.779.040 ПС, Россия) в течение 15 мин. при скорости 3000 об./мин, трехкратное промежуточное отмывание от стабилизатора и плазмы осуществляли раствором хлорида натрия 0,9%. Для этого к осадку, содержащему эритроциты, добавляли 0,9% раствор NaCl, осторожно перемешивали и снова центрифугировали при тех же условиях.

Гемолиз эритроцитов проводили в термостатируемых кюветах с наружным диаметром 20 мм × 40 мм × 10 мм и рабочим объемом 5,0 мл. Измерение величин светорассеяния проводили при светофильтре (№5) с максимумом пропускания в области 490 нм (при длине волны  $\lambda=490$  нм), т.к. при данной длине волны регистрируется не выход в среду гемоглобина, а именно светорассеяние образцов, интенсивность которого прямо

пропорциональна объему, поверхности эритроцита и количеству эритроцитарных клеток в среде инкубирования.

Фотометрическую регистрацию динамики процесса индуцированного гемолиза эритроцитов осуществляли при помощи спектрофотометра (модель ПЭ5400ВИ, Санкт-Петербург, Россия).

Индукцирование кислотного гемолиза осуществляли путем добавления в рабочую кювету к 5 мл суспензии эритроцитов (в изоосмотическом 0,9% растворе NaCl) 100 мкл 0,1 Н раствора соляной кислоты. Выбор данного вещества в качестве кислотного гемолитика обусловлен стабильностью раствора при хранении и присутствием обоих ионов ( $H^+$  и  $Cl^-$ ) в плазме крови.

Гемолиз эритроцитов фиксировали непосредственно после добавления гемолитика (0,1 М HCl) к эритроцитарной взвеси (0,9% NaCl). Показатели структурного состояния мембран эритроцитов при гемолизе оценивали по расчетным параметрам в соответствии с методикой [118].

Рассчитывали константу максимальной скорости гемолиза ( $K_{max}$ , отн.ед.) – параметр, характеризующий долю эритроцитов, одновременно вступивших в стадию гемолиза, определяли по формуле (1):

$$K_{max} \operatorname{tg} \alpha, \quad (1)$$

где  $K_{max}$ , (отн. ед.) – константа максимальной скорости гемолиза;  $\operatorname{tg} \alpha$  – тангенс угла  $\alpha$ ;  $\alpha$  – угол наклона линейной части кривой к оси абсцисс, определяли графически.

Определяли относительное количество сфероцитов ( $G_{sf}$ , %) – показатель, отражающий количество эритроцитов (в основном низкостойкой популяции), вовлекаемых в начальную стадию процесса гемолиза – стадию сфероцитоза.

Определяли время латентного периода гемолиза ( $t_{лат}$ , сек) – период времени после добавления гемолитического агента и до начала регистрации фазы гемолиза.

Графическим способом вычисляли  $G_{50}$  – время наступления 50% гемолиза (период времени от начала стадии гемолиза до разрушения 50% эритроцитов).

В каждой из серий опытов исследования проводили в параллельных пробах, одна из которых являлась контрольной (эритроциты + гемолитик), а вторая опытной (эритроциты + раствор изучаемого «препарата» + гемолитик).

### **2.4.3. Гепатопротекторное действие**

#### ***2.4.3.1. Токсическое повреждение печени, вызываемое тетрахлорметаном***

Исследования проводили на белых аутбредных крысах самцах массой 200-220 г. Для создания модели острой интоксикации животным контрольной и опытных групп после пищевой депривации вводили тетрахлорметан (ТХМ,  $\text{CCl}_4$ , четыреххлористый углерод) в виде 50% масляного раствора на оливковом масле: однократно подкожно из расчета 4 мл/кг; однократно внутрибрюшинно в дозе 0,4 мл/кг; однократно внутривентрикулярно при помощи металлического атравматического зонда в дозе 4 мл/кг [54, 131].

#### ***2.4.3.2. Лекарственно-индуцированное поражение печени, вызываемое изониазидом***

Исследования проводили на белых аутбредных крысах самцах массой 200-220 г. Для создания модели острой интоксикации животным внутривентрикулярно с помощью металлического атравматического зонда вводили изониазид в виде свежеприготовленной суспензии на 1% крахмальной слизи в дозе 542 мг/кг массы тела один раз в сутки в течение 6 суток в утренние часы до основного кормления [131].

### **2.4.4. Влияние на функциональную активность сердца**

Оценку изменения функциональной активности сердца проводили по данным электрокардиограмм. Запись электрокардиограмм у ненаркотизированных зафиксированных животных выполняли на одноканальном электрокардиографе ЭК1Т-04 АКЦИОН (Россия) после 5-7 мин., необходимых для успокоения животных, при усилении 20 мV и скорости

движения ленты 50 мм/сек во втором стандартном отведении. Electroдами служили тонкие стальные иглы, вводимые под кожу верхних и нижних конечностей. Определяли длительность интервалов P, PQ, QRS и QT.

#### **2.4.5. Влияние на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции**

Для оценки изменения двигательной активности и эмоционального статуса животных использовали тесты «открытое поле» и «эвристические решения».

##### ***Тест «открытое поле»***

Использовали стандартную модель поля для крыс, изготовленную из фанеры, представляющую собой манеж размерами 80×80 см, длина ножек основания 15 см. Поверхность манежа разделена на 16 темных и светлых квадратов размерами 20×20 см, чередующихся в шахматном порядке. В центре каждого квадрата располагается отверстие размером 3,8 см – «норка». Каждое животное помещали в один из крайних угловых квадратов манежа, голова животного при этом изначально была обращена кнаружи манежа. Горизонтальная двигательная активность (ГДА) – показатель локомоторной активности – определяли по количеству переходов животных по квадратам. Вертикальную двигательную активность (ВДА) – показатель ориентировочной реакции – определяли как «стойки», т.е. число подъемов на задние лапы. Количество фекальных болюсов (анксиогенная дефекация) использовали для характеристики вегетативных последствий эмоциональной реакции страха. Норковый рефлекс – показатель спонтанной исследовательской деятельности, определяли по количеству заглядываний в отверстия («норки») Количество актов груминга использовали для характеристики эмоционального статуса. Длительность наблюдения в «открытом поле» составляла 5 мин., время учитывали при помощи секундомера [170].

### *Тест «эвристические решения»*

Использовали экспериментальную модель поиска животными решения задачи по спасению из эмоционально-физической экстремальной ситуации, предложенную Ю.Н. Черновым с соавт. (1989) [166] в модификации (Патент РФ № 2506649), далее – тест «Эвристические решения».

Предложенный способ является технически простым, низкочувствительным, имеет высокий уровень воспроизводимости, пригоден для изучения влияния различных факторов (в т.ч. лекарственных и нелекарственных веществ) на скорость решения задачи по спасению из экстремальной ситуации, что позволяет определить воздействие различных факторов на двигательную функцию и общий психический статус. Тест пригоден для оценки влияния на высшую нервную деятельность и способность к формированию цельного поведенческого акта с фиксацией конечной цели действий, что обеспечивает возможность выявления влияния на когнитивные процессы.

Апробация пригодности предлагаемого способа (399 белых крыс самцов массой тела 210-230 г) проведена путем изучения поведенческих реакций здоровых животных и на фоне введения лекарственных веществ, проявляющих психотропную активность (хлорпромазин, натрия оксибутират, морфин, феназепам, пирацетам, фенамин, кофеин, стрихнин).

Моделированию эмоционально-физической стрессовой ситуации достигали помещением животных в стеклянный цилиндр (диаметр 24 см, высота 42 см), заполненный до уровня 15,0 см от дна (что исключает возможность контакта конечностей животного с дном цилиндра и избегания таким образом стрессовой ситуации по необходимости плавания в холодной воде) отстоянной водой температурой 11° С, над поверхностью которой были размещены предлагаемые средства спасения – рейка и веревка. Рейка одним концом упиралась в дно цилиндра под углом 60°, а противоположным фиксировалась на его краю к выходной площадке. Выходная площадка прикрыта смонтированным на ней навесом, что имитирует «нору». Веревка одним концом привязывалась к центру крестовины из реек, помещенной сверху

на цилиндр, другой конец веревки свободно свисал над поверхностью воды, заполняющей цилиндр. Перед помещением каждого животного в цилиндр температура воды контролировалась при помощи термометра. Для поддержания постоянной температуры воды стеклянный цилиндр помещали в лоток с камерой для хладоэлемента.

Подопытное животное помещали в цилиндр с водой и осуществляли наблюдение, регистрируя с помощью секундомера время решения и выполнения задачи покинуть цилиндр. Общее время наблюдения за каждым животным составляло 120 сек. Если по прошествии 120 секунд животное не выполняло задачу по спасению (т.е. не выбрало средство спасения и продолжает плавать, либо начинает тонуть) или не выбралось на площадку, расположенную над цилиндром с водой, животное извлекали из цилиндра и учитывали данный результат как невыполнение задачи. Количество животных, не выполнивших задачу, вычитали из общего количества животных в группе, получая количество животных, успешно выполнивших задачу.

Критериями оценки эмоционально-поведенческих и двигательных реакций крыс являлись:

- время нахождения решения задачи (ВНР, сек.) – время от момента погружения в воду до момента выбора средства спасения (рейка или веревка). Характеризует эмоциональный статус и функции высшей нервной деятельности испытуемого животного;

- время выполнения решения задачи (ВВР, сек.) – время от момента выбора средства спасения до выхода на площадку, расположенную над цилиндром с водой. Характеризует преимущественно двигательный статус, в том числе мышечный тонус;

- вероятность решения животными задачи (ВРЗ, %) – количество животных, успешно выполнивших задачу по отношению к общему количеству животных в группе, вычисляют по формуле (2):

$$ВРЗ = \frac{n \times 100\%}{N} \quad (2)$$

где  $BPЗ$  – вероятность решения задачи в процентах,  $n$  – количество животных в группе, успешно выполнивших задачу,  $N$  – общее количество животных в группе, подвергнутых эксперименту.

По результатам исследования согласно методике, рассчитывали индексы, характеризующие влияние на ЦНС: 1 – индекс психоэмоционального воздействия (ИПД); 2 – индекс моторно-двигательного воздействия (ИДД).

Индекс психоэмоционального воздействия (ИПД) рассчитывали по формуле (3):

$$ИПД = \frac{\frac{ВНР_{o1} + ВНР_{o2}}{BPЗ_{o1} + BPЗ_{o2}}}{\frac{ВНР_{к1} + ВНР_{к2}}{BPЗ_{к1} + BPЗ_{к2}}}, \quad (3)$$

где  $ВНР_{o1}$  – время нахождения решения задачи при предварительном тестировании в опытной группе;  $ВНР_{o2}$  – время нахождения решения задачи при повторном тестировании в опытной группе;  $BPЗ_{o1}$  – вероятность решения задачи в процентах при первом предварительном тестировании в опытной группе;  $BPЗ_{o2}$  – вероятность решения задачи в процентах при повторном тестировании в опытной группе;  $ВНР_{к1}$  – время нахождения решения задачи при предварительном тестировании в контрольной группе;  $ВНР_{к2}$  – время нахождения решения задачи при повторном тестировании в контрольной группе;  $BPЗ_{к1}$  – вероятность решения задачи в процентах при предварительном тестировании в контрольной группе;  $BPЗ_{к2}$  – вероятность решения задачи в процентах при повторном тестировании в контрольной группе.

Индекс моторно-двигательного воздействия (ИДД) рассчитывали по формуле (4):

$$ИДД = \frac{\frac{ВВР_{o1} + ВВР_{o2}}{BPЗ_{o1} + BPЗ_{o2}}}{\frac{ВВР_{к1} + ВВР_{к2}}{BPЗ_{к1} + BPЗ_{к2}}}, \quad (4)$$

где  $ВВР_{o1}$  – время выполнения решения задачи при предварительном тестировании в опытной группе;  $ВВР_{o2}$  – время выполнения решения задачи

при повторном тестировании в опытной группе;  $ВРЗ_{o1}$  – вероятность решения задачи в процентах при предварительном тестировании в опытной группе;  $ВРЗ_{o2}$  – вероятность решения задачи в процентах при повторном тестировании в опытной группе;  $ВВР_{к1}$  – время выполнения решения задачи при предварительном тестировании в контрольной группе;  $ВВР_{к2}$  – время выполнения решения задачи при повторном тестировании в контрольной группе;  $ВРЗ_{к1}$  – вероятность решения задачи в процентах при первичном тестировании в контрольной группе;  $ВРЗ_{к2}$  – вероятность решения задачи в процентах при повторном тестировании в контрольной группе.

Согласно методике, если  $ИПД < 1,0$  – изучаемое вещество характеризуется наличием психостимулирующего эффекта и свидетельствует о вероятности наличия общестимулирующей, тонизирующей, адаптогенной, ноотропной активности изучаемого вещества,  $ИПД > 1,0$  – изучаемое вещество характеризуется наличием психоседативного эффекта и свидетельствует о вероятности наличия седативной, нейролептической, транквилизирующей, депримирующей активности изучаемого вещества,  $ИДД < 1,0$  – изучаемое вещество характеризуется способностью повышать двигательную активность и свидетельствует о вероятности наличия общестимулирующего, актопротекторного эффектов изучаемого вещества,  $ИДД > 1,0$  – изучаемое вещество характеризуется способностью снижать двигательную активность и свидетельствует о вероятности наличия психоседативного, миорелаксирующего, атаксического эффектов изучаемого вещества.

#### **2.4.6. Биомикроскопическая оценка микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки крыс**

Объектом исследования служила брыжейка тонкой кишки белых аутбредных крыс. Исследование выполнено на наркотизированных животных, предварительно находившихся на пищевой депривации.

Анестезия осуществлялась внутрибрюшинным введением свежеприготовленного раствора альфа-хлоралозы (40 мг/кг) и уретана (6 мг/кг)

[167]. Перед проведением исследования с целью исключения загрязнения в области брюшной полости, а также нижней трети живота с правой стороны туловища удалялся шерстяной покров. Наступление состояния глубокого наркоза оценивали по отсутствию роговичного и зрачкового рефлексов и болевой реакции при наложении зажима на основание хвоста [22]. После наступления состояния глубокого наркоза лабораторное животное помещали на подвижный термостатируемый ( $t=37-37,5^{\circ}\text{C}$ ) препарационный столик (Патент РФ № 152550) в положении на спине с раскинутыми в стороны передними и задними лапами. В зависимости от высоты передней брюшной стенки подбирался стеклянный световод (Патент РФ №145519).

Биомикроскопия сосудов брыжейки тонкой кишки крыс проводилась в проходящем свете по известной методике, предложенной А.М. Чернухом с соавт. (1975) [167] в модификации (Патент РФ № 2555136). Предложенный способ мониторинга микрососудов в брюшной полости реализуется следующим образом: выполняется срединная лапаротомия, кровотечение из мелких сосудов кожи и передней стенки брюшины останавливается с помощью термокоагуляции. Края раны фиксируются с использованием лигатур, а справа на уровне нижней трети живота выполняется небольшой парамедиальный разрез, через который вводится верхний открытый торец съемного стеклянного полого световода в брюшную полость, нижний торец которого выводится через отверстие в пластине препарационного столика за его пределы и фиксируется с помощью ограничителя световода. Брыжейка с кишечной петлей располагается на верхнем торце световода. Операционное поле закрывается тампонами, смоченными физиологическим раствором ( $t=37-37,5^{\circ}\text{C}$ ), по мере необходимости производится орошение исследуемого участка изотоническим раствором. Столик, с таким образом подготовленным животным, перемещается до соосного совмещения световода и объектива микроскопа с выходом пучка проходящего света от конденсора.

С помощью цифровой видеокамеры для микроскопа Levenhuk 8 Mpixels, монтируемой на окуляр и соединенной с персональным компьютером при

увеличении в 40 раз и 80 раз (окуляр ув.×10; объектив ув.×4 или ув.×8) производилась запись результатов исследований на различных стадиях с последующей обработкой полученных данных с использованием компьютерной программы TopView, предназначенной для сохранения, просмотра и обработки видеозаписей.

После проведения срединной лапаротомии предварительно определяли наличие кровоизлияний в «окошках» брыжейки (участок между двумя крупными кровеносными сосудами) [167] и проводили измерения их площади с использованием палеток с масштабной-координатной сеткой [99].

При биомикроскопии в проходящем свете регистрировали нарушения в микрососудах [62, 167]: внутрисосудистые (реологические расстройства) и сосудистые (изменения проницаемости стенок микрососудов, диapedез форменных элементов крови, микрокровоизлияния).

Для полуколичественной характеристики состояния микроциркуляторного русла производили оценку кровотока по балльной шкале [140]: 1 балл – более чем 50% сосудов выключено из кровотока за счет стаза/тромбоза; 2 балла – более чем в 80% сосудов кровотоки замедлены вплоть до остановки, эритроциты располагаются в виде «монетного столбика»; 3 балла – более чем в 50% сосудов замедленный кровоток, можно проследить движение отдельных форменных элементов крови; 4 балла – более чем в 80% микрососудов кровотоки нормальные, т.е. при движении эритроциты образуют гомогенную массу.

Определяли средние значения диаметра (мкм) всех сосудов исследуемого сегмента брыжейки по следующим функциональным группам: 1) артериолы; 2) метартериолы; 3) прекапилляры; 4) капилляры; 5) посткапиллярные венулы; 6) венулы. Среднее значение диаметра сосудов каждого функционального подразделения определяли при выборке, насчитывающей от 20 до 40 сосудов в каждой [62, 167].

Определяли среднее количество капилляров на площади исследуемого сегмента в  $1 \text{ мм}^2$ , средний диаметр и длину капилляров (мкм), рассчитывали

площадь поверхности капилляров как поверхность цилиндра с заданным сечением по формуле (5) и занимаемую капиллярами площадь на исследуемом сегменте по формуле (6), отношение функционирующих и выключенных из кровотока за счет стаза капилляров (%) [62]:

$$S_k = \pi \times D \times L \quad (5)$$

где  $S_k$  – площадь поверхности капилляров,  $\text{мм}^2$ ;  $D$  – средний диаметр капилляров,  $\mu\text{м}$ ;  $L$  – средняя длина капилляров,  $\mu\text{м}$ ;

$$S_c = S_k \times N_k \quad (6)$$

где  $S_c$  – площадь, занимаемую капиллярами на исследуемом сегменте,  $\text{мм}^2$ ;

$N_k$  – среднее количество капилляров на исследуемом сегменте, шт.

## 2.5. Лабораторные методы исследования

Забор крови у наркотизированных с помощью хлороформа животных проводили: для лабораторных исследований – методом резекции дистальной части хвоста, для биохимических исследований – из бедренной артерии животных.

**Методы оценки гематологических и биохимических показателей:** определение скорости оседания эритроцитов проводили по общепринятой методике методом Панченко [111].

Биохимическое исследование сыворотки крови выполнено на биохимическом анализаторе открытого типа Furuno 270: активность АЛАТ и АсАТ в сыворотке крови (Е/л) определяли кинетическим методом (УФ-тест в соответствии с методом IFCC) с использованием диагностических наборов «Fluitest GPT»; активность щелочной фосфатазы (Е/л) и концентрацию общего билирубина ( $\mu\text{моль/л}$ ) фотометрическим методом с использованием диагностических наборов «ДиаС»; содержание общего холестерина ( $\text{ммоль/л}$ ) ферментативным колориметрическим методом с использованием диагностических наборов «Fluitest CHOL», концентрацию общих гексоз [71].

**Методы оценки активности процессов свободно-радикального окисления:** количественное определение SH-групп ( $\text{мг}^0\%$ ) в цельной крови

спектрофотометрическим методом в модификации Л.А. Романчук и Х.М. Рубиной [128], количество (нмоль/л) в сыворотке крови вторичных продуктов липопероксидации (малоновый диальдегид, далее – ТБК-активные продукты) определяли спектрофотометрически по реакции с 2-тиобабитуровой кислотой в кислой среде [141].

**Методы оценки свертывающей системы крови:** определение протромбинового времени осуществляли с использованием диагностического набора «Диагем-П». При помощи секундомера измеряли время от момента добавления к плазме тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

Все исследования были выполнены в день забора крови. Интерпретацию результатов лабораторных исследований осуществляли согласно общеизвестным принципам и рекомендациям [48].

## **2.6. Патологоанатомические, гистологические и гистохимические методы исследования**

Изучение и забор внутренних органов проводили после эвтаназии, которую осуществляли путем передозировки хлороформного наркоза. Процедуру патологоанатомического исследования осуществляли согласно общеизвестным методам [68, 72]. Осуществляли препарирование и изъятие внутренних органов для визуального осмотра, определения патологоанатомических изменений, взвешивания или забора образцов для гистологических и гистохимических исследований. Взвешивание внутренних органов проводили на аналитических весах, в течение первых 5 мин. после умерщвления, индивидуально для каждого животного. Парные органы (почки, надпочечники) взвешивали по 2 одновременно, в результатах указывали их общую массу. После измерения абсолютной массы внутренних органов проводили перерасчет относительной массы (г/кг массы тела) по формуле (7):

$$M_{\text{орг.отн.}} = (m \times 1000) / M \quad (7)$$

где  $M_{\text{орг.отн.}}$  – относительная масса органа (г/кг массы тела),  $m$  – абсолютная масса органа, выраженная в граммах,  $M$  – масса тела животного в граммах.

Желудок рассекали по малой кривизне, освобождали от содержимого. Визуально оценивали наличие язвенных дефектов и эрозий на слизистой оболочке желудка.

Для гистологических исследований фрагменты печени фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, после чего по общепринятой методике [72] заливали в парафин, из парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 5-6 мкм. Окраску препаратов для изучения общей морфологической структуры проводили гематоксилином с эозином [72, 74].

Для гистохимических исследований фрагменты печени фиксировали в 10% растворе формалина с добавлением кальция хлорида (кальций-формол по Бейкеру) после чего по общепринятой методике [68] на замораживающем микротоме готовили серийные срезы толщиной 5-6 мкм. Окраску препаратов для выявления липидов проводили красителем Oil Red O. Для полуколичественной оценки содержания липидов использовали пятибалльную шкалу [131]: 1 балл – минимальная степень ожирения (гепатоциты с жировыми включениями находятся только на периферии дольки в области триады); 2 балла – слабая степень (гепатоциты, содержащие липиды, занимают примерно 1/4-1/3 длины печеночных балок в перипортальной зоне); 3 балла – умеренная степень (гепатоциты, содержащие липиды, занимают 1/3-1/4 длины печеночных балок по периферии дольки); 4 балла – высокая степень (гепатоциты с жировыми каплями занимают 1/2-2/3 длины печеночных балок); 5 баллов – максимальная степень (стеатоз распространяется на всю печеночную дольку).

Все исследования выполнены в день забора внутренних органов. Анализ гистологических и гистохимических препаратов проводили при помощи микроскопа светового биологического Levenhuk (Россия). Съемку осуществляли с помощью цифровой видеокамеры для микроскопа Levenhuk 8

Mpixels, монтируемой на окуляр и соединенной с персональным компьютером при увеличении в 100 и 400 раз (окуляр ув.×10; объектив ув.×10 или ув.×40).

Морфометрическое изучение полученных снимков гистологических срезов проводили с использованием компьютерной программы TopView, предназначенной для сохранения, просмотра и обработки видеозаписей. Проводили определение линейных размеров клеток и ядер гепатоцитов (мкм), рассчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение (%). В каждой группе животных измерения проводили не менее чем на 500 клетках.

Рассчитывали апоптический индекс по формуле (8) и процент некроза гепатоцитов, как соотношение площади, занимаемой гепатоцитами с признаками некроза к общей исследуемой площади паренхимы печени:

$$AI = N_a / N \quad (8)$$

где AI – индекс апоптоза,  $N_a$  – число апоптических клеток, N – общее число клеток.

## 2.7. Методы статистической обработки данных

Статистическую обработку полученных данных проводили методами описательной статистики с использованием табличного процессора Microsoft Office Excel 2010. Для количественных показателей вычисляли выборочное среднее, стандартное отклонение и ошибку среднего. Различия между анализируемыми показателями считали статистически достоверными при уровне значимости 0,05; 0,01. При нормальном распределении количественных показателей для их сравнения использовали t-критерий Стьюдента. Сравнение количественных параметров при их распределении, не удовлетворяющем критериям нормальности, проводилось с помощью методов классической непараметрической статистики [4, 30, 112]. Для оценки достоверности различий при попарном сравнении независимых данных использовали тест Ньюмена-Кейлса, поправку Бонферрони. Статистическая обработка экспериментальных данных выполнена с использованием пакета статистических программ STATISTICA 8.0.

## ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕССОВОГО МАСЛА СЕМЯН АМАРАНТА

### 3.1. Изучение пероральной острой токсичности прессового масла семян амаранта

В результате исследования острой пероральной токсичности установлено, что однократное внутрижелудочное введение прессового масла семян амаранта в дозах 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 10 000 мг/кг мышам и 30 000 мг/кг крысам не вызывает летального исхода в 1-е сутки и в течение последующих 14 суток наблюдения. Не обнаружено влияния на внешний вид животных, шерстяные покровы являлись гладкими, блестящими, окраска видимых слизистых оболочек бледно-розового цвета. Не выявлено достоверных отличий по массе тела животных опытных групп через 7 и 14 суток по сравнению с животными контрольной группы (табл. 3.1). Поведение животных не имело никаких видимых отличий от животных контрольной группы. Не зафиксировано судорог, снижения или повышения двигательной активности, беспокойства, нервно-мышечной возбудимости, изменения реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители. Количество фекальных болюсов, суточное количество мочи, аппетит, потребление воды и корма не отличалось от показателей контрольной группы.

Таблица 3.1

Влияние прессового масла семян амаранта на массу тела животных при однократном внутрижелудочном введении

Группа животных	Пол животных	Масса тела, г		
		Исходно	7-е сутки	14-е сутки
мышам в дозе 10 000 мг/кг				
Контрольная	♂	21,5±0,73	22,3±0,54	23,2±0,6
АМ	♂	21,7±0,80	22,6±0,63	23,6±0,50
Контрольная	♀	19,5±0,61	20,3±0,63	21,4±0,50
АМ	♀	19,6±0,72	20,5±0,18	21,6±0,20
крысам в дозе 30 000 мг/кг				
Контрольная	♂	190,5±5,80	195,0±6,10	205,0±6,30
АМ	♂	180,7±6,10	193,0±7,40	203,0±2,00

Примечание: АМ – масло семян амаранта

При патологоанатомическом исследовании признаков патологических изменений внутренних органов не выявлено, отличия массы внутренних органов животных контрольной и опытной групп не являются статистически значимыми (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Масса внутренних органов животных при однократном внутрижелудочном введении прессового масла семян (14-е сутки исследования)

Группа животных	Относительная масса органов, г/кг массы тела				
	Печень	Почки	Сердце	Селезенка	Надпочечники
мышам в дозе 10 000 мг/кг					
Контрольная	5,8±0,20	1,3±0,40	0,5±0,02	0,45±0,03	0,04±0,001
АМ	6,0±0,02	1,3±0,04	0,5±0,02	0,5±0,02	0,04±0,002
крысам в дозе 30 000 мг/кг					
Контрольная	31,70±0,20	5,81±0,04	4,81±0,02	4,64±0,02	0,16±0,002
АМ	32,10±0,18	5,94±0,04	5,24±0,02	4,71±0,02	0,16±0,002

Примечание: АМ – масло семян амаранта

Исходя из полученных данных, максимально переносимой дозой (МПД) следует считать дозу 30 000 мг/кг массы тела животного, что соответствует объему 32 мл/кг.

Таким образом, прессовое масло семян амаранта при однократном внутрижелудочном введении является безопасным и может быть отнесено к IV классу токсичных веществ по классификации степени токсичности химических веществ в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 [5].

### **3.2. Исследование антитоксической активности прессового масла семян амаранта в тесте «гексеналовый сон»**

Оценка антитоксической функции печени выполнена на модели гексеналовой пробы, которая позволяет по продолжительности сна оценить скорость метаболизма гексенала под влиянием цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной системы гепатоцитов.

Исследование проводили на 15 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой 220,5±5,0 г, которые были разделены случайным образом на 3 группы по 5 в каждой. Животным первой (опытной) группы вводили прессовое масло семян амаранта в дозе 600 мг/кг (содержание фосфолипидов 50 мг/кг)

подкожно. Животным второй (опытной) группы вводили препарат сравнения, в качестве которого был выбран гепатопротектор, содержащий эссенциальные фосфолипиды (далее – ЭФЛ) – Эссенциале Н в виде официального раствора в дозе 80 мг/кг подкожно. Животные третьей (контрольной) группы получали воду дистиллированную перорально в эквивалентном объеме. Исследуемые вещества вводили однократно за 24 часа до введения гексенала.

Гексенал вводили в виде свежеприготовленного 4,0% водного раствора однократно внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг. Дозы в пересчете на миллилитры раствора рассчитывали индивидуально для каждого животного исходя из массы тела.

Критерий эффективности – длительность сна, которую определяли как разницу между временем засыпания и временем пробуждения. Препарат считали обладающим антитоксической активностью в случае, если он обеспечивал снижение длительности сна по сравнению с контрольной группой животных.

Установлено, что средняя длительность гексеналового сна у животных контрольной группы составила  $56,6 \pm 12,6$  мин. Введение ЭФЛ обеспечивало снижение по сравнению с контрольной группой длительности сна на 45,6% ( $p < 0,05$ ) и среднее время сна у животных опытной группы составило  $30,8 \pm 6,6$  мин. Под влиянием введения прессового масла семян амаранта выявлено снижение по сравнению с контрольной группой длительности гексеналового сна на 32,0% (длительность сна составила  $38,5 \pm 5,0$  мин).

Таким образом, с использованием классической модели было выявлено наличие у прессового масла семян амаранта в дозе 600 мг/кг способности укорачивать длительность гексеналового сна.

### **3.3. Первичная оценка гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта на фоне токсического повреждения печени, вызываемого тетрахлорметаном**

Скрининг гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта выполнен на классической модели токсического повреждения печени, индуцированного введением ТХМ, на 30 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой  $207,6 \pm 11,1$  г, которые были разделены случайным образом на 6 групп по 5 в каждой – интактная, контрольная, 3 опытные группы, различающиеся дозами прессового масла семян амаранта и 1 группа препарата сравнения.

ТХМ животным контрольной и опытных групп вводили однократно подкожно в виде 50% масляного раствора в дозе 4 мл/кг после пищевой депривации. Интактом служили здоровые животные. Контрольной группе вводили только ТХМ. Животным опытных групп за 1 час до введения ТХМ вводили в желудок прессовое масло семян амаранта в следующих дозах: 300 мг/кг, 600 мг/кг, 1200 мг/кг. Препарат сравнения – Эссенциале Н (ЭФЛ) вводили в желудок в виде официального раствора в дозе 80 мг/кг за 1 час до введения ТХМ.

Через 1 сутки после интоксикации осуществляли эвтаназию животных путем передозировки хлороформного наркоза, производили забор крови из бедренной артерии и патологоанатомическую оценку состояния печени.

Критериями гепатопротекторной активности являлись биохимические показатели цитолиза и холестаза: аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспаратаминотрансфераза (АсАТ), а также концентрация общих гексоз, показатели свободнорадикального окисления (ТБК-активные продукты и свободные SH-группы), морфологические исследования печени.

Установлено, что при данной модели токсического повреждения печени гибель животных не наблюдалась, при этом в контрольной группе через 1 сутки после введения ТХМ выявлено повышение по отношению к показателям интактной группы активности маркеров цитолиза – АлАТ и АсАТ

соответственно на 83,5% и 139,1% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о нарушении функционального состояния печени. Наблюдалось повышение на 19,5% ( $p < 0,05$ ) концентрации общих гексоз, что характеризует развитие воспалительной реакции. Уменьшение свободных SH-групп на 9,4% ( $p < 0,05$ ) на фоне увеличения концентрации ТБК-активных продуктов на 25,0% ( $p < 0,05$ ) свидетельствует об активации ПОЛ.

На фоне однократного введения животным опытной группы ЭФЛ установлено снижение относительно показателей контрольной группы активности АлАТ и АсАТ на 47,8% и 30,2% ( $p < 0,05$ ) соответственно (табл. 3.3). Концентрация общих гексоз и ТБК-активных продуктов была достоверно ниже показателей контрольной группы соответственно на 22,5% ( $p < 0,05$ ) и 13,1% ( $p < 0,01$ ).

Анализ результатов биохимического исследования сыворотки крови животных опытных групп, получавших прессовое масло семян амаранта за 1 час до введения ТХМ, показал, что на фоне однократного введения прессового масла семян амаранта в дозе 300 мг/кг отмечена тенденция к уменьшению активности АлАТ на 19,4% и концентрации ТБК-активных продуктов на 16,0% относительно контроля. Концентрация общих гексоз ниже показателя контроля на 11,8% ( $p < 0,01$ ).

Таблица 3.3

Влияние введения прессового масла семян амаранта на биохимические показатели сыворотки крови при токсическом повреждении печени тетрахлорметаном

Группа животных	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л
Интактная	43,8±6,6	30,7±7,6
Контроль	80,4±5,2*	73,4±7,5*
ЭФЛ	42,0±5,9+	51,24±15,2*+
АМ 300 мг/кг	64,8±3,2*	75,2±6,0*
АМ 600 мг/кг	44,4±4,8+	61,7±4,1*
АМ 1200 мг/кг	25,2±6,6*+	52,92±4,9*+

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

При введении прессового масла семян амаранта в дозе 600 мг/кг активность АлАТ соответствовала показателю интактных животных (табл. 3.3), кроме того, наблюдалось уменьшение относительно контроля концентрации общих гексоз и нормализация концентрации свободных SH-групп ( $p < 0,05$ ). Отмечено уменьшение относительно показателя интактной группы и контроля в сыворотке крови концентрации ТБК-активных продуктов на 25,0% и на 40,0% ( $p < 0,05$ ). На фоне применения прессового масла семян амаранта в дозе 1200 мг/кг отмечено уменьшение относительно контроля активности АлАТ и АсАТ соответственно на 68,6% и 27,9% ( $p < 0,05$ ). Кроме того, зафиксирована нормализация показателей общих гексоз и свободных SH-групп и уменьшение относительно интактной группы и контроля концентрации ТБК-активных продуктов соответственно на 30,0% ( $p < 0,05$ ) и 44,0% ( $p < 0,01$ ) (табл. 3.4).

Таблица 3.4

Влияние введения прессового масла семян амаранта на уровень общих гексоз, свободных SH-групп и ТБК-активных продуктов при токсическом повреждении печени тетрахлорметаном

Группа	Общие гексозы, г/л	Свободные SH-группы, мг%	ТБК-активные продукты, мкл/л
Интактная	1,49±0,16	134,72±4,61	2,0±0,6
Контроль	1,78±0,05*	122,15±1,73*	2,5±0,04*
ЭФЛ	1,38±0,03*+	134,21±5,33+	2,0±0,01+
АМ 300 мг/кг	1,57±0,18++	130,10±8,8+	2,1±0,02
АМ 600 мг/кг	1,34±0,34**++	134,79±5,74+	1,5±0,02*++
АМ 1200 мг/кг	1,44±0,17+	136,61±3,16+	1,4±0,02*++

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

При оценке структурной организации печени крыс установлено, что функциональная активность печени здоровых животных интактной группы в пределах физиологической нормы, архитектоника и структура печеночных долек без видимых изменений, изменения со стороны междольковой соединительной ткани отсутствовали, балочная структура печеночных долек

находилась в пределах нормы. Гепатоциты средних размеров с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой (рис. 3.2А). Дистрофические и некротические изменения отсутствовали, наблюдалась незначительная лимфоидная инфильтрация портальных трактов. Синусоиды в дольках не расширены, центральные вены полнокровны.

При микроскопическом исследовании гистологических срезов печени крыс контрольной группы наблюдалась потеря балочной структуры печеночных долек, разрыхление стенок венозных сосудов и сильное просветление цитоплазмы вокруг центральных вен, интима сосудов грубеет. Кроме того, вокруг центральных вен наблюдались явления кариолизиса и кариопикноза гепатоцитов, некробиотические участки. Индекс апоптоза составил  $0,36 \pm 0,0$  против  $0,08 \pm 0,01$  в интактной группе животных (рис. 3.2Б). Кариометрия выявила уменьшение относительно показателей интактных животных диаметра ядра гепатоцитов и ядерно-цитоплазматического отношения соответственно на 26,6% и 28,5% (табл. 3.5). В целом, характер установленных нарушений согласуется с данными биохимического исследования (повышение активности маркеров цитолиза – АлАТ и АсАТ), что свидетельствует о развитии острого токсического повреждения печени.

На гистологических срезах печени животных, получавших ЭФЛ, отмечено сохранение на периферии вакуолизированных гепатоцитов (рис. 3.2В). Архитектоника печеночных долек в пределах нормы, структура печеночных долек без видимых изменений. Выявлено незначительное разрыхление междольковой соединительной ткани. Балочная структура дольки выражена слабо. Зарегистрировано наличие баллонной дистрофии и следы некротических изменений, для которых характерна централобулярная локализация.

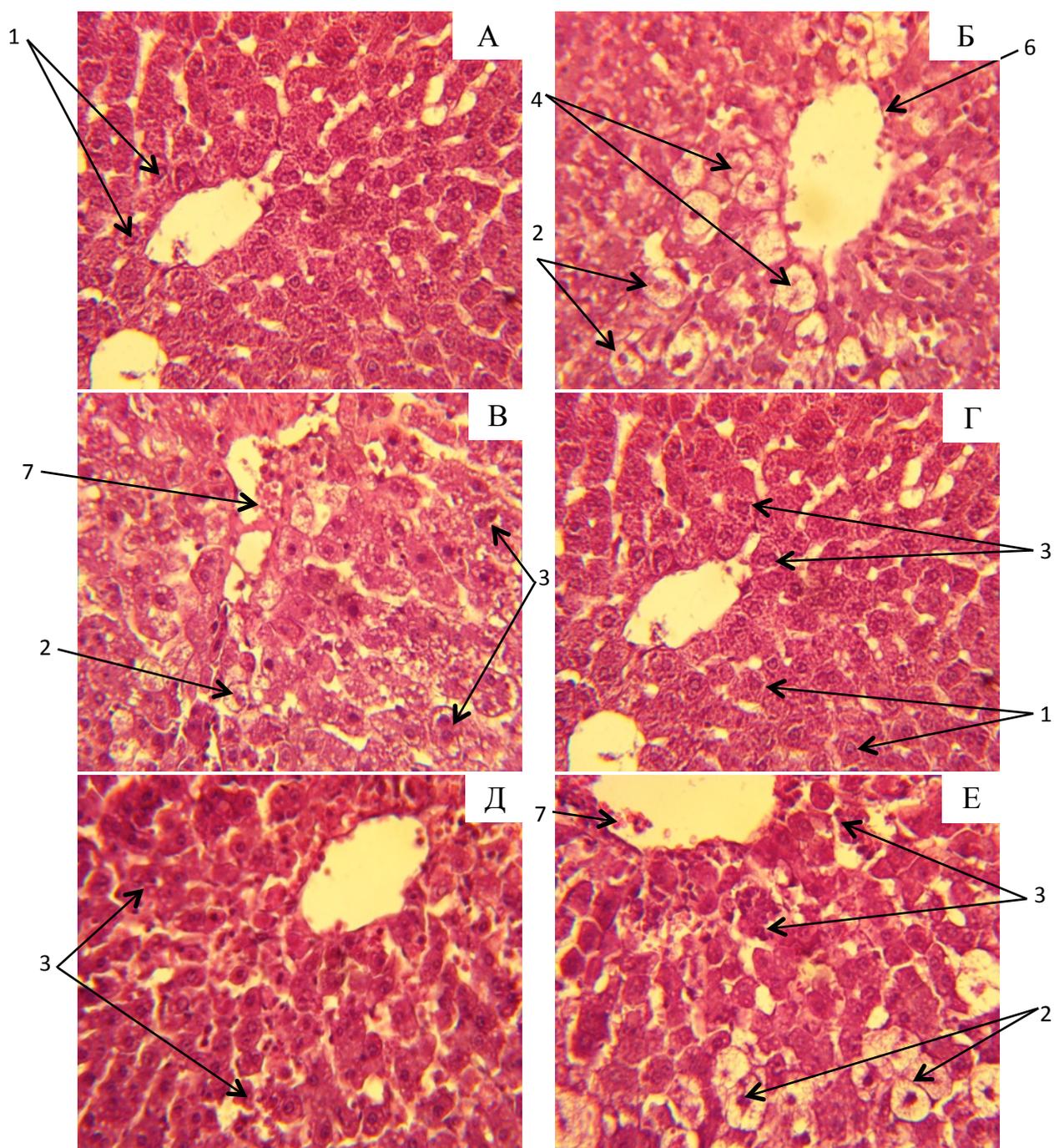


Рис. 3.1. Гистологическая картина печени крыс при введении прессового масла семян амаранта при токсическом повреждении печени тетрахлорметаном.

Окраска – гематоксилин-эозин, ув.×400.

А – интактная группа; Б – контроль; В – препарат эссенциальных фосфолипидов; Г – прессовое масло семян амаранта в дозе 300 мг/кг; Д – прессовое масло семян амаранта в дозе 600 мг/кг; Е – прессовое масло семян амаранта в дозе 1200 мг/кг; 1 – гепатоциты средних размеров, с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой – состояние нормального функционирования; 2 – вакуолизированные гепатоциты; 3 – двухъядерные клетки; 4 – клетки в состоянии кариолизиса и кариопикноза; 5 – разрастание и разрыхление междольковой соединительной ткани; 6 – разрыхление стенок сосудов; 7 – форменные элементы крови

На фоне применения прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг/кг и 600 мг/кг выявлена нормализация структурной организации печени, и в отличие от контрольной группы животных не зафиксировано некротических, дистрофических и воспалительных нарушений. Архитектоника печеночных долек в пределах нормы, структура долек без видимых изменений, изменения со стороны междольковой соединительной ткани отсутствовали (рис. 3.2Г, Д). При применении масла семян амаранта в дозе 600 мг/кг кариометрия не выявила достоверных относительно интактной группы животных отличий диаметра гепатоцитов, индекс апоптоза составил  $0,12 \pm 0,01$ , что ниже показателя контроля в 3 раза (табл. 3.5).

В группе животных, получающих прессовое масло семян амаранта в дозе 1200 мг/кг, отмечена потеря балочной структуры печени. Обнаружены явления кариолизиса и кариопикноза, наличие некробиотических участков, при этом повреждению были подвержены как центрлобулярные гепатоциты, так и периферические клетки. На периферии отмечено наличие вакуолизированных гепатоцитов (рис. 3.2Е).

Таблица 3.5

Влияние введения прессового масла семян амаранта на показатели морфометрии срезов печени крыс при токсическом повреждении печени тетрахлорметаном

Группа животных	Диаметр ядра гепатоцитов, мкм	ЯЦО, %	АИ
Интактная	$3,42 \pm 0,03$	$33,3 \pm 1,45$	$0,08 \pm 0,01$
Контроль	$2,51 \pm 0,14^*$	$23,8 \pm 1,5^*$	$0,36 \pm 0,06^*$
ЭФЛ	$2,94 \pm 0,1^*$	$28,5 \pm 1,0^{*+}$	$0,24 \pm 0,08^{*+}$
АМ 300 мг/кг	$3,12 \pm 0,10^{*+}$	$30,9 \pm 1,2^+$	$0,18 \pm 0,03^{*+}$
АМ 600 мг/кг	$3,41 \pm 0,09^+$	$34,9 \pm 0,2^+$	$0,12 \pm 0,01^{*+}$
АМ 1200 мг/кг	$3,11 \pm 0,12^{*+}$	$29,1 \pm 0,05^{*+}$	$0,29 \pm 0,1^{*+}$

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; АИ – индекс апоптоза; критерий Ньюмена-Кейлса: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Таким образом, на модели острого токсического повреждения печени, индуцированного ТХМ, доказана способность прессового масла семян амаранта, вводимого с профилактической целью в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 1200 мг/кг, препятствовать развитию некробиотических и воспалительных нарушений в паренхиме печени, тормозить липопероксидацию и уменьшать степень выраженности синдрома цитолиза. При этом оптимальной следует считать дозу 600 мг/кг.

#### **3.4. Изучение влияния прессового масла семян амаранта на проницаемость мембран эритроцитов на модели кислотного гемолиза**

На клеточном уровне на модели кислотного гемолиза выполнено исследование влияния прессового масла семян амаранта на проницаемость мембран эритроцитов при токсическом повреждении печени.

Объектом исследования служили эритроциты крови 30 белых аутбредных половозрелых крыс самцов массой  $209,2 \pm 8,4$  г, которые были разделены случайным образом на 6 групп по 5 в каждой.

Изучение влияния прессового масла семян амаранта на структурно-функциональные свойства и проницаемость клеточных мембран проводили при помощи метода регистрации кислотных эритрограмм по Терскову И.А., Гительзону И.И. (1957), основанного на фотометрической регистрации процесса гемолиза во времени.

Моделирование токсического повреждения печени осуществляли после пищевой депривации однократным внутрибрюшинным введением животным опытных групп ТХМ в виде 50% масляного раствора в дозе 0,4 мл/кг за 1 час до забора крови. Контролем служили здоровые животные, которым вводили в желудок физиологический раствор в объеме 1 мл. Животным первой опытной группы вводили только ТХМ. Животным второй, третьей и четвертой опытных групп за 24 часа до введения ТХМ вводили в желудок прессовое масло семян амаранта в следующих дозах: 300 мг/кг, 600 мг/кг, 1200 мг/кг. Препарат

сравнения – Эссенциале Н (ЭФЛ) вводили в желудок в виде официального раствора в дозе 80 мг/кг за 24 часа до введения ТХМ (пятая опытная группа).

В качестве основных показателей, характеризующих кислотную резистентность эритроцитов, использовали следующие параметры: константа максимальной скорости гемолиза ( $K_{max}$ , отн.ед.); величина  $G_{sf}$  эритроцитов;  $t_{лат}$  – период времени от момента добавления в пробу гемолитического агента до начала регистрации фазы собственно гемолиза (сек.);  $G_{50}$  – время наступления 50% гемолиза.

Анализ показателей константы максимальной скорости кислотного гемолиза ( $K_{max}$ ), который характеризует долю эритроцитов, одновременно вступающих в стадию собственно гемолиза, показал, что введение животным ТХМ за 1 час до регистрации эритрограмм сопровождалось увеличением относительно пробы животных, получавших физиологический раствор, скорости гемолиза эритроцитов среднестойкой популяции на 40,3% ( $p < 0,05$ ). Скорость гемолиза эритроцитов основной среднестойкой популяции при предварительном введении ЭФЛ и прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 1200 мг/кг достоверно не отличалась от показателей здоровых животных (табл. 3.6).

Значение показателя  $G_{sf}$ , отражающего относительную долю сфероцитов было на 82,7% ( $p < 0,05$ ) меньше показателя в пробе животных с токсическим повреждением печени, из чего следует, что введение животным ТХМ сопровождалось ускорением перехода эритроцитов из стадии сферуляции в стадию собственно гемолиза в 5,7 раза. На фоне предварительного введения ЭФЛ значение показателя  $G_{sf}$  достоверно не отличалось от показателя животных с токсическим повреждением печени. В опытных пробах, на фоне введения прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг/кг и 600 мг/кг показатель  $G_{sf}$  был выше показателя животных с токсическим повреждением печени и показателя препарата сравнения соответственно в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ) и 5,9 раза ( $p < 0,01$ ), что свидетельствует о замедлении развития стадии собственно гемолиза. При этом на фоне введения прессового масла семян амаранта в дозе

1200 мг/кг показатель  $G_{sf}$  соответствовал показателю здоровых животных (табл. 3.6).

Таблица 3.6

Влияние введения прессового масла семян амаранта на показатели кислотного гемолиза крыс при токсическом повреждении печени, индуцированном тетрахлорметаном

Группа животных	Исследуемые показатели			
	$K_{max}$ , отн. ед.	$G_{sf}$ , %	$t_{лат}$ , сек	$G_{50}$ , %
Контроль (NaCl)	5,78±0,93	-2,60±1,31	125,0±45,3	256,70±37,9
Опыт (ТХМ)	8,11±0,0005**	-0,45±0,096**	50,0±17,3*	205,0±8,7**
ЭФЛ	5,89±0,37+	-0,48±1,10	80,0±48,2	228,3±2,9++
АМ 300 мг/кг	4,45±0,23+●	-1,25±0,95+●●	65,0±31,2	235,0±8,7++
АМ 600 мг/кг	5,26±0,97+	-1,20±1,22+●●	105,0±30,0	246,70±15,3++
АМ 1200 мг/кг	4,40±0,71+●●	-2,65±0,30++●●	105,0±21,2+	230,0±40,0

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$ ; ●● -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Период времени от момента добавления в пробу гемолитического агента до начала регистрации фазы собственно гемолиза ( $t_{кп}$ ) на фоне введения ЭФЛ и прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг /кг, 600 мг/кг, 1200 мг/кг достоверно не отличался от показателя здоровых животных, получавших физиологический раствор, в то время как в пробе животных, получавших ТХМ, наблюдалось сокращение данного показателя относительно контроля на 60% ( $p < 0,05$ ).

Анализ времени наступления 50% гемолиза ( $G_{50}$ , %) показал, что введение ТХМ вызывало уменьшение данного показателя относительно показателя животных контрольной группы на 20,1% ( $p < 0,01$ ). В опытных пробах на фоне введения ЭФЛ и прессового масла семян амаранта, выявленные изменения относительно показателя контрольной группы статистически не значимы. При этом введение ЭФЛ и прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг/кг и 600 мг/кг сопровождалось увеличением (при  $p < 0,01$ ) показателя  $G_{50}$  относительно животных с токсическим повреждением печени соответственно на 11,4%,

14,6% и 20,3%, что свидетельствует о замедлении развития гемолиза основной среднестойкой популяции эритроцитов.

Таким образом, на модели кислотного гемолиза доказано, что введение прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 1200 мг/кг на фоне токсического повреждения печени, индуцированного ТХМ, сопровождается повышением резистентности мембран эритроцитов к повреждающему действию ТХМ и кислотного гемолитика. Выявленные изменения вероятно связаны с антиоксидантной активностью масла семян амаранта. Кроме того, способность масла семян амаранта изменять структурно-функциональные свойства эритроцитарных мембран, вероятно, реализуется за счет взаимодействия с белково-липидными комплексами мембран клеток и приводит к снижению проницаемости мембран для ионов  $H^+$ .

#### **Исследование состояния региональной микроциркуляции при местном нанесении прессового масла семян амаранта**

Исследование выполнено на 30 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой  $346,2 \pm 12,9$  г, которые были разделены случайным образом на 2 группы: опытная (20 голов) и контрольная (10 голов).

При биомикроскопии было проведено исследование состояния микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки аутбредных наркотизированных крыс, предварительно находившихся на депривации, при местном нанесении прессового масла семян амаранта (опытная группа) и препарата сравнения (контрольная группа) – масла кукурузных зародышей, в дозе 1 мг на исследуемый сегмент брыжейки площадью  $95 \text{ мм}^2$  с помощью модифицированной микропипетки.

Наблюдение за функционированием микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки осуществляли в течение 20 минут. Регистрировали диаметр микрососудов до нанесения на брыжейку исследуемых веществ (исходно) и через 5, 10, 15 и 20 минут после непосредственного нанесения.

В результате проведенного исследования установлено, что через 5 минут после нанесения прессового масла семян амаранта на брыжейку тонкой кишки крыс наблюдалось стойкое достоверное расширение микрососудов (табл. 3.7).

Таблица 3.7

Влияние прессового масла семян амаранта на диаметр микрососудов брыжейки тонкой кишки крыс при местном нанесении

Группа животных	Диаметр микрососудов, мкм			
	Артериолы	Метартериолы	Прекапилляры	Капилляры
Исходно по всем группам	42,9±1,9	21,2±0,5	12,4±1,8	7,2±0,7
<i>5 минут после нанесения</i>				
КМ	42,6±1,0	21,4±0,8	12,4±1,0	7,9±1,0*
АМ	46,5±6,6	24,8±0,7*+	12,9±1,4	8,0±1,9*
<i>10 минут после нанесения</i>				
КМ	42,5±1,1	21,4±0,7	12,8±1,1	8,0±1,0*
АМ	53,2±2,6*+	25,1±1,1*+	14,1±0,4*	8,4±0,7*
<i>15 минут после нанесения</i>				
КМ	43,5±0,4	21,2±0,4	12,6±0,5	7,4±1,1
АМ	62,0±1,0*+	26,0±0,9*+	14,6±0,1*+	9,0±1,1*+
<i>20 минут после нанесения</i>				
КМ	43,4±0,4	21,2±0,6	12,8±1,1	7,4±1,0
АМ	60,0±1,7*+	27,5±1,3*+	14,5±0,5*	8,6±1,3*+

Примечание: КМ – масло кукурузных зародышей; АМ – масло семян амаранта; критерий Вилкоксона: \* –  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с исходным; + –  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Наиболее выраженные изменения наблюдались через 15 минут после нанесения прессового масла семян амаранта. При этом диаметр артериол достоверно ( $p < 0,05$ ) относительно исходного и контроля увеличивался соответственно на 30,8 % и 29,8%; метартериол – на 18,4%; прекапилляров – на 15,0% и 13,6%; капилляров – на 20,0% и 17,7% соответственно.

К 20-й минуте исследования диаметр микрососудов незначительно уменьшался, однако характер выявленных отличий между показателями животных опытной и контрольной групп сохранялся.

Таким образом, доказано, что местное нанесение прессового масла семян амаранта на брыжейку тонкой кишки крыс сопровождается стойким достоверным увеличением диаметра микрососудов.

## Заключение

Результаты оценки острой токсичности, свидетельствуют, что прессовое масло семян амаранта является малотоксичным (IV класс токсичности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76).

Выявленная способность прессового масла семян амаранта укорачивать длительность гексеналового сна, вероятно, обусловлена влиянием на антитоксическую функцию и активность микросомальных ферментов печени, осуществляющих метаболизм гексенала.

При местном нанесении на брыжейку тонкой кишки крыс выявлена способность прессового масла семян амаранта вызывать стойкое достоверное увеличение диаметра микрососудов.

На модели острого токсического повреждения печени, индуцированного ТХМ, впервые доказана (Патент РФ № 2526172) способность прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 1200 мг/кг препятствовать развитию некротических, дискомплексаторных и воспалительных нарушений, тормозить липопероксидацию и уменьшать степень выраженности цитолиза, что свидетельствует о наличии гепатопротекторной активности. По результатам исследования, оптимальной следует считать дозу 600 мг/кг.

На модели кислотного гемолиза доказана способность прессового масла семян амаранта на фоне острого токсического повреждения печени, индуцированного ТХМ, снижать проницаемость мембран эритроцитов, что следует расценивать как проявление мембранопротекторной активности, вероятно связано с наличием антиоксидантных свойств и способности прессового масла семян амаранта изменять структурно-функциональные свойства эритроцитарных мембран. Полученные данные позволили предположить, что влияние на структурно-функциональные свойства и проницаемость мембран является одним из механизмов гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта и послужили основанием для дальнейшего исследования его влияния на функциональное состояние печени при интоксикации ксенобиотиками.

#### **ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕССОВОГО МАСЛА СЕМЯН АМАРАНТА НА МОДЕЛИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ**

Исследования выполнены на 150 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой  $208,3 \pm 11,1$  г, которые были разделены случайным образом на следующие группы: интактная (6 голов), контрольная (36 голов), опытные группы, различающиеся схемами введения прессового масла семян амаранта (36 и 18 голов), группы препарата сравнения (36 и 18 голов). Период наблюдения – 14 суток. Животных выводил из эксперимента по 6 голов через 1, 24 и 72 часа после интоксикации, а так же на 7-е, 10-е и 14-е сутки исследования.

Для создания модели интоксикации ТХМ вводили животным контрольной и опытных групп в желудок однократно в виде 50% масляного раствора в дозе 4 мл/кг. Прессовое масло семян амаранта вводили животным опытных групп в желудок по 2-м схемам: с профилактической целью – однократно в дозе 600 мг/кг (содержание фосфолипидов 50 мг/кг) за 1 час до введения ТХМ; с лечебной целью – через 24 часа после введения ТХМ в дозе 600 мг/кг в течение 3-х суток один раз в сутки в утренние часы до основного кормления. Препарат сравнения – Эссенциале Н вводили в желудок в виде официального раствора в дозе 80 мг/кг по аналогичным схемам.

Через 1, 24 и 72 часа после введения животным ТХМ, а также на 7-е, 10-е и 14-е сутки интоксикации после пищевой депривации осуществляли прижизненный осмотр животных, определяли массу тела, ректальную температуру, оценивали состояние выделительной и пищеварительной систем, и по данным электрокардиограммы – функциональную активность сердца.

Критериями гепатопротекторной активности являлись выживаемость, показатели общеклинического состояния (изменение массы тела животных, изменение ректальной температуры, динамика потребления корма и воды, скорость оседания эритроцитов, ЧСС и показатели функциональной активности

сердца по данным электрокардиограммы, эмоционально-поведенческая и двигательная активность животных в тесте «эвристические решения»); биохимические показатели цитолиза и холестаза: аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспаратаминотрансфераза (АсАТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), а также общий билирубин, общий холестерин, концентрация ТБК-активных продуктов, протромбиновое время, патологоанатомическая оценка внутренних органов.

#### **4.1. Влияние прессового масла семян амаранта на клиническое состояние животных при интоксикации тетрахлорметаном**

В контрольной группе животных интоксикация ТХМ характеризовалась гибелью животных в 10% случаев к 4-м суткам наблюдения. У выживших животных клиническая картина интоксикации характеризовалась гиподинамией, заторможенностью, взъерошенностью шерсти, снижением потребления корма и увеличением потребления воды.

Так, на 1-е сутки после интоксикации в контрольной группе животных потребление корма уменьшилось по сравнению с исходными данными на 54,7% ( $9,7 \pm 1,0$  г/гол./сутки против  $21,4 \pm 0,7$  г/гол./сутки при  $p < 0,01$ ) (рис. 4.1). При визуальном осмотре живот крыс значительно увеличен в размере и вздут. На 3 сутки исследования доля потребляемого корма составляла лишь 20% от исходного показателя ( $4,3 \pm 2,5$  г/гол./сутки против  $21,4 \pm 0,7$  г/гол./сутки при  $p < 0,01$ ) при отсутствии дефекаций. К 7-м суткам наблюдения доля потребляемого корма составляла 90,6% при увеличении потребления воды в 2,5 раза по сравнению с исходными данными (см. Приложение 1, табл. 1). Потеря массы тела животных на 7-е сутки наблюдения составляла 11,9% (см. Приложение 2, табл. 3).

Так же, через 1 час после введения ТХМ отмечено снижение относительно исходных показателей ректальной температуры тела на 3,2% ( $36,2 \pm 0,5$  °С против  $37,5 \pm 0,4$  °С при  $p < 0,05$ ), через 24 часа разница составила 4,3% ( $35,9 \pm 1,35$  °С против  $37,5 \pm 0,4$  °С при  $p < 0,05$ ), на 14-е сутки ректальная температура была снижена на 3,2% ( $36,3 \pm 0,8$  °С против  $37,5 \pm 0,4$  °С при  $p < 0,05$ ).

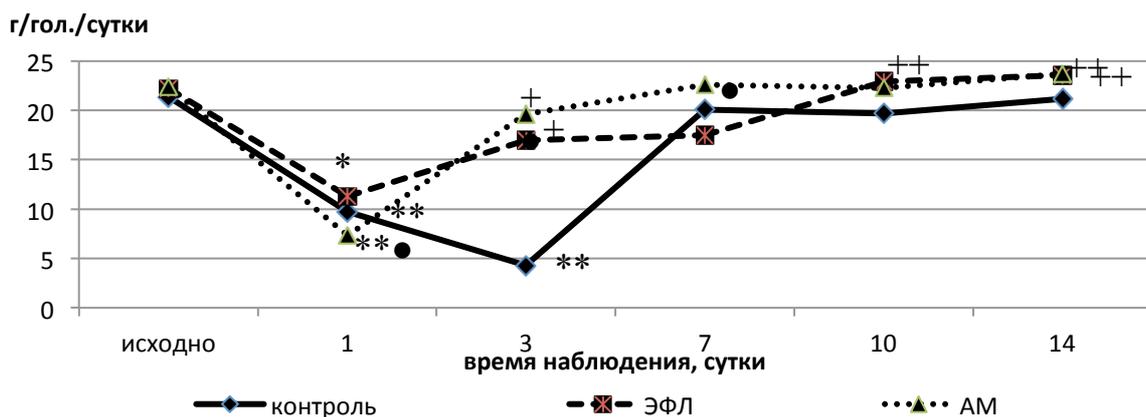


Рис. 4.1. Динамика изменения потребления корма при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью на фоне интоксикации тетрахлорметаном

Примечание к рисунку: t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с исходным; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; • -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Анализ ЭКГ показал, что через 24 часа после интоксикации в 50% случаев наблюдалось расщепление комплекса QRS, удлинение интервалов QRS ( $0,030 \pm 0,00$  сек. против  $0,016 \pm 0,004$  сек. в интактной группе при  $p < 0,05$ ) и QT ( $0,080 \pm 0,00$  сек. против  $0,059 \pm 0,003$  сек. в интактной группе при  $p < 0,05$ ). На 14-е сутки исследования наблюдалось уменьшение интервала QRS ( $0,010 \pm 0,00$  сек. против  $0,016 \pm 0,004$  сек. в интактной группе при  $p < 0,05$ ).

В опытных группах, получавших исследуемые вещества с профилактической целью, в отличие от контроля, гибель животных не зарегистрирована, общее состояние животных на 1-е сутки исследования характеризовалось менее выраженными симптомами интоксикации. На 3-и сутки наблюдения животные подвижны, активны, шерстяной покров гладкий, блестящий, визуальных отличий от животных интактной группы не зафиксировано. Профилактическое введение ЭФЛ сопровождалось снижением по сравнению с исходным потребления корма на 1-е сутки исследования на 49,1% ( $11,3 \pm 1,0$  г/гол./сутки против  $22,2 \pm 1,1$  г/гол./сутки при  $p < 0,05$ ), последующей нормализацией на 3-и сутки и достижением исходного уровня на 10-е сутки наблюдения (рис. 4.1). Потребление воды увеличилось по сравнению

с исходным, начиная с 1-х суток исследования, в 2 раза (см. Приложение 1, табл. 1). На 7-е сутки наблюдалось снижение массы тела животных на 9,3% ( $p < 0,05$ ) от исходной величины (см. Приложение 2, табл. 3).

Профилактическое введение прессового масла семян амаранта сопровождалось уменьшением потребления корма на 1-е сутки исследования по сравнению с исходным на 67,4% ( $7,3 \pm 0,6$  г/гол./сутки против 22,4 г/гол./сутки при  $p < 0,01$ ), что вероятно связано с высокой калорийностью масла (711 ккал на 100 г масла). При этом в отличие от контроля, нормализация потребления корма зафиксирована на 3-и сутки наблюдения (рис. 4.1; см. Приложение 1, табл. 1), возвращение массы тела к исходным показателям – на 10-е сутки (см. Приложение 2, табл. 3).

Колебания ректальной температуры в опытных группах, в отличие от показателей животных контрольной группы находились в пределах известных значений видово-возрастной нормы для взрослых животных (см. Приложение 3, табл. 5) [115].

При анализе ЭКГ установлено, что в опытных группах животных, получавших с профилактической целью ЭФЛ и прессовое масло семян амаранта через 24 часа после введения токсиканта, в отличие от контроля, длительность интервалов QRS и QT соответствовала показателям здоровых животных, случаев расщепления зубца QRS не зафиксировано. Тем не менее, на 14-е сутки исследования длительность интервала QRS не отличалась от контроля (см. Приложение 4, табл. 7).

При применении исследуемых веществ с лечебной целью на 3-и сутки исследования наблюдалось незначительное снижение массы тела при применении ЭФЛ и достоверное снижение на 7,9% ( $p < 0,05$ ) при введении прессового масла семян амаранта. При этом в обеих исследуемых группах, в отличие от контроля, масса тела животных соответствовала исходным данным на 14-е сутки наблюдения (см. Приложение 2, табл. 3). Потребление корма, начиная с 3-х суток исследования, также соответствовало исходным показателям (см. Приложение 1, табл. 1).

Колебания ректальной температуры в опытных группах животных (см. Приложение 3, табл. 5) находились в пределах известных значений видововозрастной нормы для взрослых животных [115].

При анализе ЭКГ установлено, что на фоне введения ЭФЛ и прессового масла семян амаранта с лечебной целью на 14-е сутки исследования, в отличие от контроля и введения исследуемых веществ с профилактической целью, длительность интервала QRS соответствовало показателям интактной группы ( $p < 0,05$ ) (см. Приложение 4, табл. 7, 8).

Таким образом, профилактическое и лечебное применение прессового масла семян амаранта предотвращало регистрируемую в контрольной группе животных (в 10% случаев в течение первых 4-х суток после интоксикации) гибель животных и уменьшало выраженность симптомов интоксикации, о чем свидетельствовала нормализация показателей клинического состояния животных начиная с 3-х суток наблюдения, тогда как у выживших животных контрольной группы клиническая картина интоксикации на протяжении 7 суток характеризовалась гиподинамией, снижением ректальной температуры (на 3,2-4,3% при  $p < 0,05$ ), нарушением процессов пищеварения (вздутие живота и отсутствие дефекаций в течение 3-х суток, снижение потребления корма на 57,7-80,0% при  $p < 0,01$ ), изменениями функциональной активности сердца (расщепление комплекса QRS и достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение длительности интервалов QRS и QT).

#### **4.2. Влияние прессового масла семян амаранта на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции животных при интоксикации тетрахлорметаном**

Исследование было выполнено при помощи эвристической модели поиска животными решения задачи по спасению из эмоционально-физической экстремальной ситуации (Патент РФ №2506649, далее – тест «эвристические решения») на здоровых животных и на фоне интоксикации ТХМ.

### **Изучение влияния прессового масла семян амаранта на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции здоровых животных**

Исследование выполнено на 24 белых аутбредных крысах самцах массой тела  $207,5 \pm 10,4$  г, которые были разделены случайным образом на 2 группы по 12 голов в каждой. Животным опытной группы в течение 7-и суток ежедневно однократно в утренние часы до основного кормления вводили в желудок прессовое масло семян амаранта в дозе 600 мг/кг. Животные интактной группы получали эквивалентное количество воды дистиллированной по аналогичной схеме. Тестирование выполнено до начала введения и на 7-е сутки через 1 час после последнего введения прессового масла семян амаранта, а также на 14-е сутки наблюдения.

При повторном тестировании установлено, что память о найденном способе избегания экстремальной ситуации сохранялась у животных обеих исследуемых групп в течение 14-и суток (ВРЗ – 100%). Введение прессового масла семян амаранта сопровождалось сокращением относительно исходных данных времени выполнения решения задачи в 2,1 раза ( $1,21 \pm 0,74$  сек. против  $2,56 \pm 0,33$  сек. при  $p < 0,05$ ) на 7-е сутки наблюдения и 1,5 раза ( $1,68 \pm 0,73$  сек. против  $2,56 \pm 0,33$  сек. при  $p < 0,01$ ) – на 14-е сутки соответственно. Кроме того, на 14-е сутки исследования время, за которое крысы покидали емкость с холодной водой (ВНР+ВВР) было ниже данных предварительного тестирования и показателя животных интактной группы соответственно в 2,8 раза ( $3,63 \pm 1,28$  сек. против  $10,2 \pm 2,60$  сек. при  $p < 0,05$ ) и 1,7 раза ( $3,63 \pm 1,28$  сек. против  $6,09 \pm 2,36$  при  $p < 0,05$ ).

### **Изучение влияния прессового масла семян амаранта на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции животных на фоне интоксикации тетрахлорметаном**

Исследование выполнено на 35 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой тела  $208,4 \pm 7,84$  г, которые были разделены случайным образом на 5 групп по 7 в каждой – контрольная; 2 опытные группы, различающиеся

дозами и схемой введения прессового масла семян амаранта и 2 группы препарата сравнения. Тестирование животных было выполнено до интоксикации (предварительное тестирование, исходные данные), через 24 и 72 часа после введения ТХМ, а также на 7-е, 10-е и 14-е сутки исследования.

Установлено, что при предварительном тестировании в среднем все здоровые животные всех контрольных и опытных групп (70 голов: модели интоксикации ТХМ и изониазидом) успешно выполняли задачу (ВРЗ – 100%) не более чем за 10 сек. (ВНР+ВВР).

При повторном тестировании через 24 часа после введения ТХМ в контрольной группе животных установлено, что при 100% выполнении задачи по спасению общее время успешного выполнения задания (ВНР+ВВР) было больше показателя предварительного тестирования в 1,75 раза ( $p < 0,05$ ) и составляло, в среднем  $16,10 \pm 3,71$  сек. Начиная с 3-х суток исследования и на протяжении всего периода наблюдения, который составлял 14 суток, зафиксировано снижение на 28,6% (ВРЗ – 71,4%) количества животных, успешно выполнивших задачу, то есть 28,6% животных не нашли способ спасения за отведенное на тест время (120 сек.). На 3-и сутки наблюдения общее время выполнения задания (ВНР+ВВР) в среднем составляло  $15,20 \pm 3,77$  сек., что превышало показатель предварительного тестирования в 1,65 раза ( $p < 0,01$ ).

Начиная с 7-х суток и до конца периода исследования, наблюдалось уменьшение времени, затраченного животными на выполнение задания, что согласуется с данными тестирования здоровых животных. Так, на 7-е сутки наблюдения, зафиксировано уменьшение времени нахождения решения задачи относительно исходных данных в 2,6 раза ( $p < 0,01$ ). На 14-е сутки исследования среди выполнивших задание животных (ВРЗ – 71,4%) время нахождения решения было ниже исходных данных в 3,5 раза ( $p < 0,05$ ), а общее время выполнения задания составляло  $4,39 \pm 0,2$  сек., что в 2,2 раза ниже показателя предварительного тестирования ( $p < 0,01$ ).

На фоне профилактического введения ЭФЛ на протяжении всего периода исследования в отличие от группы контроля, вероятность решения задания составляла 100%. Через 24 часа после введения ТХМ выявлено сокращение относительно контроля времени нахождения решения и времени выполнения решения соответственно на 53,2% и 27,6% ( $p < 0,01$ ). Общее время успешного выполнения задания (ВНР+ВВР) в среднем составило  $8,30 \pm 1,77$  сек., что ниже показателя животных контрольной группы в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ).

На 3-и сутки исследования на фоне профилактического введения ЭФЛ за счет достоверного относительно контроля уменьшения времени нахождения решения в 3,1 раза ( $p < 0,01$ ), общее время успешного выполнения задания (ВНР+ВВР) было в 2,1 раза ниже показателя контроля ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,52 и ИДД=0,84.

На 7-е сутки исследования наблюдали уменьшение относительно исходных данных времени нахождения решения в 3,2 раза ( $p < 0,05$ ) и общего времени успешного выполнения задания (ВНР+ВВР) в 2 раза ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,87 и ИДД=0,88. На 10-е сутки было отмечено увеличение относительно исходных данных времени выполнения решения на 17,6% ( $p < 0,05$ ), при этом расчетные значения индексов составили: ИПД=0,89 и ИДД=0,62.

На 14-е сутки исследования время нахождения решения было ниже показателя исходных данных в 4,1 раза ( $p < 0,05$ ), а общее время, затраченное животными на выполнение задания, в среднем составляло  $4,0 \pm 0,35$  сек., что в 2,5 раза ниже показателя первичного тестирования здоровых животных ( $p < 0,05$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,88 и ИДД=0,98.

На фоне профилактического введения прессового масла семян амаранта на протяжении всего периода исследования наблюдалось сокращение времени нахождения решения задачи при 100%-м её выполнении (табл. 4.1). Так, на 1-е сутки исследования профилактическое введение прессового масла семян амаранта сопровождалось уменьшением относительно контроля времени нахождения решения в 3,3 раза ( $p < 0,01$ ) и времени выполнения решения

Таблица 4.1

Влияние введения прессового масла семян амаранта с профилактической целью на изменение эмоционально-поведенческих и двигательных реакций крыс при интоксикации тетрахлорметаном

Группа животных	Показатели							
	ВНР, сек.	ВВР, сек.	ВНР+ВВР, сек.	ВРЗ, %	Средство спасения, %		ИПД	ИДД
					Р	В		
Исходно	7,43±1,63	2,38±0,22	9,2±2,42	100	100	0	–	–
<i>24 часа после интоксикации</i>								
Контроль	13,25±3,59	2,90±0,42	16,10±3,71*	100	100	0	–	–
ЭФЛ	6,20±1,64++	2,10±0,23++	8,30±1,77+	100	100	0	0,65	0,85
АМ	4,0±1,82++	1,95±0,06**++●	5,96±1,79+	100	100	0	0,55	0,82
<i>72 часа после интоксикации</i>								
Контроль	12,03±3,4	3,16±0,66	15,2±3,77**	71,4	80	20	–	–
ЭФЛ	3,90±2,45++	2,30±0,15	6,20±2,37++	100	100	0	0,52	0,84
АМ	4,46±2,40++	2,51±0,17	6,96±2,31++	100	85,7	14,3	0,56	0,88
<i>7 сутки исследования</i>								
Контроль	2,86±1,47**	2,95±0,36	5,81±1,68	71,4	80	20	–	–
ЭФЛ	2,32±0,52*	2,30±0,3	4,62±0,55**	100	100	0	0,87	0,88
АМ	1,40±0,2*●●	2,0±0,0**++	3,40±0,02*●●	100	57	43	0,79	0,82
<i>10 сутки исследования</i>								
Контроль	2,34±0,91*	5,95±3,85	8,29±5,1	71,4	80	20	–	–
ЭФЛ	2,10±0,10*	2,80±0,11*	4,90±0,21**	100	100	0	0,89	0,62
АМ	2,0±0,05*	2,0±0,10	4,0±0,10*●	100	71,4	28,6	0,89	0,52
<i>14 сутки исследования</i>								
Контроль	2,13±0,95*	2,26±1,18	4,39±0,2**	71,4	80	20	–	–
ЭФЛ	1,80±0,20*	2,20±0,20	4,0±0,35*	100	100	0	0,88	0,98
АМ	1,40±0,45*	1,80±0,25**	3,20±0,67*++	100	71,4	28,6	0,85	0,83

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с исходным; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$ ; ●● -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения; ВНР – время нахождения решения задачи; ВВР – время выполнения решения задачи; ВРЗ – вероятность решения задачи, %; Р – рейка; В – веревка; ИПД – индекс психоэмоционального воздействия; ИДД – индекс моторно-двигательного воздействия

относительно интакта, контроля и препарата сравнения на 18,1% ( $p < 0,01$ ), 32,7% ( $p < 0,01$ ) и 7,1% ( $p < 0,05$ ). При этом общее время успешного выполнения задания (ВНР+ВВР) в среднем составляло  $5,96 \pm 1,79$  сек., что было ниже

показателя группы контроля в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ). Соответственно, указанные изменения выражались в значительном уменьшении значений индексов психоэмоционального и моторно-двигательного воздействия и расчетные значения составили: ИПД=0,55 и ИДД=0,82, что вероятно свидетельствует о выраженном улучшении клинического состояния животных вследствие предотвращения повреждающего действия ТХМ на ЦНС.

На 3-и сутки исследования время нахождения решения было меньше показателя контроля в 2,7 раза ( $p < 0,01$ ). При этом общее время выполнения задачи в среднем составляло  $6,96 \pm 2,31$  сек., что в 2,2 раза ниже показателя контроля ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,56 и ИДД=0,88.

На 7-е сутки исследования время выполнения решения было меньше исходного показателя и контроля соответственно на 16% и 32,2% ( $p < 0,01$ ), а общее время выполнения задания не превышало  $4,0 \pm 0,02$  сек., что меньше показателя предварительного тестирования в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ) и меньше показателя препарата сравнения на 26,4% ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,79 и ИДД=0,82.

На 14-е сутки наблюдения общее время, затраченное животными на выполнение задания, в среднем составляло  $3,20 \pm 0,67$  сек., что в 3,1 раза ниже показателя первичного тестирования здоровых животных ( $p < 0,05$ ) и в 1,4 раза ниже показателя контроля ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,85 и ИДД=0,83.

Введение ЭФЛ с лечебной целью при интоксикации, индуцированной введением ТХМ, на 7-е сутки исследования сопровождалось сокращением относительно исходных данных времени нахождения животными решения задачи в 3,2 раза ( $p < 0,05$ ) при 100-процентном её выполнении. Это выражалось в уменьшении индекса психомоторного воздействия (табл. 4.2).

На 10-е сутки исследования расчетные значения индексов составили: ИПД=0,97 и ИДД=0,52. При этом общее время выполнения задания (ВНР+ВВР)

в среднем составило  $4,50 \pm 0,05$  сек., что в 2 раза ниже показателя предварительного тестирования.

Таблица 4.2

Влияние введения прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией тетрахлорметаном на изменение эмоционально-поведенческих и двигательных реакций крыс

Группа животных	Показатели							
	ВНР, сек.	ВВР, сек.	ВНР+ВВР, сек.	ВРЗ, %	Средство		ИПД	ИДД
					Р	В		
Исходно	$7,43 \pm 1,63$	$2,38 \pm 0,22$	$9,20 \pm 2,42$	100	100	0	–	–
<i>7 сутки исследования</i>								
Контроль	$2,86 \pm 1,47^{**}$	$2,95 \pm 0,36$	$5,81 \pm 1,68$	71,4	80	20	–	–
ЭФЛ	$2,30 \pm 0,51^*$	$2,40 \pm 0,20$	$4,70 \pm 0,44$	100	100	0	0,86	0,82
АМ	$1,30 \pm 0,58^*$	$2,0 \pm 0,0^{**++\bullet\bullet}$	$3,30 \pm 0,30^{*\bullet\bullet}$	100	71,4	28,6	0,78	0,75
<i>10 сутки исследования</i>								
Контроль	$2,34 \pm 0,91^*$	$5,95 \pm 3,85$	$8,29 \pm 5,10$	71,4	80	20	–	–
ЭФЛ	$2,10 \pm 0,25^*$	$2,40 \pm 0,20$	$4,50 \pm 0,05^{**}$	100	100	0	0,97	0,52
АМ	$1,28 \pm 0,35^{*\bullet\bullet}$	$2,0 \pm 0,0^{**\bullet\bullet}$	$3,28 \pm 0,35^{*\bullet}$	100	71,4	28,6	0,89	0,48
<i>14 сутки исследования</i>								
Контроль	$2,13 \pm 0,95^*$	$2,26 \pm 1,18$	$4,39 \pm 0,20^{**}$	71,4	80	20	–	–
ЭФЛ	$2,0 \pm 0,10^*$	$2,0 \pm 0,0^{**}$	$4,0 \pm 0,10^{*++}$	100	100	0	0,90	0,86
АМ	$1,10 \pm 0,19^{*\bullet}$	$1,80 \pm 0,20^{**}$	$2,90 \pm 0,19^{*+\bullet}$	100	71,4	28,6	0,82	0,83

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с исходным; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; • -  $p < 0,05$ ; •• -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения; ВНР – время нахождения решения задачи; ВВР – время выполнения решения задачи; ВРЗ – вероятность решения задачи, %; Р – рейка; В – веревка; ИПД – индекс психоэмоционального воздействия; ИДД – индекс моторно-двигательного воздействия

На 14-е сутки исследования введение ЭФЛ сопровождалось сокращением относительно показателя предварительного тестирования здоровых животных времени нахождения и выполнения решения задачи при 100-процентном её выполнении соответственно на 73,1% и 16% (табл. 4.2). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,90 и ИДД=0,86.

Введение прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией, индуцированной ТХМ, сопровождалось на 7-е сутки исследования при 100-процентном выполнении задания сокращением

относительно показателя предварительного тестирования здоровых животных времени нахождения решения в 5,7 раза ( $p < 0,05$ ). Кроме того, зафиксировано сокращение времени выполнения решения относительно исходного, контроля и препарата сравнения соответственно на 16%, 32,2% и 16,7% ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,78 и ИДД=0,75.

На 10-е сутки исследования общее время выполнения задания в среднем составляло  $3,28 \pm 0,35$  сек., что ниже показателей первичного тестирования и препарата сравнения соответственно в 2,8 раза и 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,89 и ИДД=0,48, что вероятно следует расценивать как повышение способности к выполнению физической нагрузки.

На 14-е сутки исследования наблюдалось сокращение относительно исходных показателей здоровых животных времени нахождения решения и времени выполнения решения соответственно в 6,75 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,3 раза ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,82 и ИДД=0,83.

Таким образом, с использованием модели эвристических решений на фоне интоксикации, индуцированной ТХМ в контрольной группе животных (на протяжении первых 3-х суток) выявлено достоверное повышение затрат времени на нахождение способа избегания экстремальной ситуации более чем на 60% при одновременном уменьшении на 28,6% количества животных, способных к успешному решению задачи. Выявленные изменения свидетельствуют о снижении психомоторной активности и нарушении функции ЦНС, вызванных введением токсических доз ТХМ и согласуются с клинической картиной интоксикации.

Введение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью в отличие от животных контрольной группы обеспечило успешное решение задачи в 100% случаев на протяжении всего периода наблюдения. Вместе с тем, с каждым последующим тестированием время принятия решения было значительно короче по отношению к показателю предварительного тестирования здоровых животных, что согласуется с данными исследования на здоровых животных, и еще более выражено по

сравнению с показателями животных контрольной группы, что вероятно характеризует увеличение скорости психомоторной реакции. Кроме того, на фоне применения прессового масла семян амаранта наблюдалось уменьшение индекса моторно-двигательного воздействия, что является отличительной особенностью влияния масла семян амаранта. Следует отметить, что по основным регистрируемым показателям действие прессового масла семян амаранта превышает действие препарата сравнения.

### **4.3. Исследование гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта в динамике острой интоксикации, индуцированной тетрахлорметаном**

#### **Влияние прессового масла семян амаранта на биохимические маркеры функции печени**

Биохимическое исследование сыворотки крови в контрольной группе животных через 1 час после введения ТХМ выявило повышение активности АлАТ на 51,3% ( $p < 0,05$ ) и АсАТ на 75,3% ( $p < 0,05$ ), увеличение уровня общего холестерина на 44,6% ( $p < 0,05$ ), повышение концентрации ТБК-активных продуктов в 2 раза ( $p < 0,05$ ). СОЭ  $4,00 \pm 0,94$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ). Через 24 часа по сравнению с интактной группой отмечено следующее: увеличение концентрации общего билирубина в 8,7 раза ( $p < 0,05$ ), активности АлАТ и АсАТ соответственно в 6,9 раза ( $p < 0,05$ ) и в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ), протромбинового времени на 87,6%, а также снижение концентрации ТБК-активных продуктов на 16,7% ( $p < 0,05$ ). СОЭ  $3,67 \pm 0,53$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ).

Вышеизложенное свидетельствует о развитии у животных контрольной группы под воздействием ТХМ токсического повреждения печени, сопровождающегося выраженным синдромом цитолиза гепатоцитов, гипербилирубинемией и гиперхолестеринемией, воспалительной реакцией и активацией процессов свободнорадикального окисления.

Через 72 часа наблюдалось значительное уменьшение в сыворотке крови активности АлАТ и АсАТ (табл. 4.3); увеличение концентрации общего билирубина в 17,3 раза ( $p < 0,05$ ), общего холестерина на 61,6% ( $p < 0,05$ ) и активности ЩФ на 87,7% ( $p < 0,05$ ), протромбинового времени на 102,6% ( $p < 0,05$ ). СОЭ  $3,0 \pm 0,00$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о дальнейшем развитии патологического процесса, сопровождающегося синдромом холестаза и значительным угнетением ферментативной активности маркеров цитолиза.

7-е сутки исследования сопровождались не только восстановлением ферментативной активности АлАТ и АсАТ, но и увеличением их уровня в сыворотке крови соответственно на 63,2% и 69,1% ( $p < 0,05$ ) относительно интактной группы, а протромбинового времени в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация общего билирубина по сравнению с 3-и сутками наблюдения была ниже в 7,8 раза ( $p < 0,01$ ), однако превышала показатель интактной группы в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ).

На 10-е сутки исследования наблюдалось увеличение относительно интактной группы активности АлАТ и ЩФ соответственно на 42,0% ( $p < 0,05$ ) и 43,8% ( $p < 0,05$ ), концентрации общего билирубина – в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ). Через 14 дней наблюдения, выявленные ранее различия уровня активности АлАТ интактной и контрольной групп, были статистически не значимы. Активность АсАТ была выше интактной группы на 69,0% ( $p < 0,01$ ), ЩФ – ниже на 17,4% ( $p < 0,05$ ).

Таблица 4.3

Динамика биохимических показателей сыворотки крови при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлолметаном

Группа животных	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л	ЩФ, Е/л	Билирубин общий, мкмоль/л	Холестерин общий, ммоль/л
Интактная	$55,60 \pm 7,75$	$144,91 \pm 21,67$	$472,25 \pm 41,29$	$2,56 \pm 0,8$	$1,59 \pm 0,13$
<i>1 час после интоксикации</i>					
Контроль	$84,12 \pm 9,01^*$	$254,0 \pm 14,82^*$	$448,62 \pm 70,68$	$3,75 \pm 1,44$	$2,30 \pm 0,25^*$
ЭФЛ	$61,21 \pm 3,18^+$	$168,37 \pm 20,60^{++}$	$484,12 \pm 119,66$	$4,87 \pm 2,20$	$1,60 \pm 0,15^+$

Продолжение таблицы 4.3

1	2	3	4	5	6
АМ	62,98±5,50+	167,21±11,56++	467,49±40,88	3,18±0,68	1,54±0,30+
<i>24 часа после интоксикации</i>					
Контроль	383,87±6,41*	341,44±29,47*	590,56±104,97	22,25±2,27*	1,54±0,38
ЭФЛ	159,80±13,37*+	231,80±18,58*+	630,00±44,14*	22,20±2,46*	2,96±0,08*+
АМ	170,69±8,51*+	223,80±28,89*+	782,67±74,90*	13,01±4,90 *++●●	1,92±1,17
<i>72 часа после интоксикации</i>					
Контроль	4,23±0,99*	2,88±1,75*	886,24±185,99*	44,35±19,60*	2,57±0,42*
ЭФЛ	119,6±6,38*+	227,0±39,48*+	896,35±191,0*	14,66±0,97*+	2,88±0,40*
АМ	101,5±8,24*+	219,4±23,5*+	608,02±108,29	6,0±1,06*+●	1,91±0,16●●
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	90,75±12,38*	245,07±10,77*	594,08±119,96	5,67±0,66*	2,59±0,22**
ЭФЛ	68,01±7,35+	217,44±28,69*+	563,23±54,26	5,09±0,74*	2,37±0,36*
АМ	69,96±17,18+	206,20±12,18*+	488,22±65,64	3,61±1,16	2,29±0,52
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	78,95±15,45*	163,58±37,49	679,15±147,58*	5,53±1,16*	2,34±0,52**
ЭФЛ	63,63±6,88	181,16±25,25**	368,4±90,14*+	3,58±0,45*+++	1,79±0,17
АМ	55,47±7,20+	163,95±37,24	308,21±73,59*	3,43±0,83++	1,67±0,26
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	66,24±10,05	244,86±51,39**	390,0±37,48*	3,81±1,19	2,17±0,27
ЭФЛ	55,20±5,72	222,17±31,43*	323,0±49,15**	2,19±0,21	1,98±0,34
АМ	56,29±9,46	147,41±32,64+	244,31±40,35*	2,54±0,55++	1,7±0,24

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$ ; ●● -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Помимо этого, зарегистрировано повышение на 13,7% ( $p < 0,05$ ) концентрации ТБК-активных продуктов. Проведение теста на протромбиновое время в 100% случаев сопровождалось отсутствием образования фибринового сгустка.

Таким образом, проведенное в течение 14-и суток исследование выявило динамику развития острого токсического повреждения печени по типу цитолиза (повышение активности АлАТ и АсАТ не менее чем в 1,5 раза при  $p < 0,05$ , максимальное повышение наблюдалось через 24 часа после интоксикации – соответственно в 6,9 раза и 2,3 раза при  $p < 0,05$ ) и холестаза (повышение содержания общего билирубина не менее чем в 2 раза при  $p < 0,05$ ,

максимальное повышение через 72 часа после интоксикации – в 17,3 раза при  $p < 0,05$  на фоне увеличения активности ЩФ на 87,7%) с возвращением к норме показателей АлАТ и общего билирубина к 14-м суткам наблюдения на фоне повышенной в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ) активности АсАТ. Кроме того, на протяжении всего периода наблюдения протромбиновое время было выше показателя интактной группы не менее чем в 2 раза при  $p < 0,05$  (максимально на 7 сутки –  $51,6 \pm 0,26$  сек. против  $19,3 \pm 0,15$  сек. в интактной группе), а к 14 суткам наблюдалось отсутствие образования фибринового сгустка.

Достоверное увеличение концентрации общего холестерина на протяжении 10-и суток исследования в 1,5 раза свидетельствует о нарушении липидного обмена в печени и наряду с резким снижением активности аминотрансфераз на 3-и сутки наблюдения – о наличии жировой дистрофии печени, которая в дальнейшем (на протяжении 14-и суток) была подтверждена гистохимическими исследованиями.

Анализ результатов биохимического исследования показал, что через 1 час после введения ТХМ в опытной группе животных, получавших с профилактической целью ЭФЛ выявленные различия уровня активности аминотрансфераз и общего холестерина опытной и интактной групп, были статистически не значимыми (табл. 4.3), а уровень ТБК-активных продуктов в сыворотке крови – ниже контроля на 24,9% ( $p < 0,05$ ). Через 24 часа активность АлАТ и АсАТ была ниже контроля соответственно на 58,5% и 32,1% ( $p < 0,05$ ), однако выше интактной группы соответственно в 2,9 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). Показатели концентрации ТБК-активных продуктов и протромбинового времени не отличались от контроля (табл. 4.4, 4.5). СОЭ  $4,00 \pm 1,00$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,01$ ). При этом наблюдалось повышение относительно интактной группы и контроля уровня общего холестерина в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) и выраженная гипербилирубинемия (концентрации общего билирубина в 8,7 раза выше показателя интактной группы при  $p < 0,05$ ), сопровождающаяся повышением относительно интактной группы активности ЩФ на 33,4% ( $p < 0,05$ ).

Обнаруженные изменения свидетельствуют о наличии синдрома холестаза и согласуются с литературными данными о том, что применение при активных формах гепатита препаратов эссенциальных фосфолипидов в ряде случаев может способствовать усилению синдрома холестаза [24, 150]. Таким образом, профилактическое введение ЭФЛ в первые часы после интоксикации сопровождалось относительно показателей контроля снижением в сыворотке крови активности маркеров цитолиза и ослаблением процессов липопероксидации. Тем не менее, по сравнению с контролем через 24 часа после воздействия токсиканта наблюдалось повышение уровня общего холестерина и развитие синдрома холестаза.

Таблица 4.4

Динамика изменения концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови при введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, нмоль/л

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ	ЭФЛ	АМ
Интактная группа	19,73±0,73				
1 час	29,39±0,95*	22,07±0,14*+	21,91±0,56*+	–	–
24 часа	16,43±0,63*	16,12±1,12*	17,70±0,84*+	–	–
72 часа	20,22±0,16	20,01±0,55*	18,96±0,27+●	–	–
7 сутки	20,23±0,79	19,64±0,16	19,45±1,02	20,22±1,74	19,81±0,83+
10 сутки	21,49±0,91	19,62±0,62+	19,74±0,16+	21,49±1,24*	20,22±1,45+
14 сутки	22,43±0,83*	19,41±1,09+	19,26±0,51+	24,49±0,74*+	20,22±1,26+●

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Через 72 часа в сыворотке крови сохранялся высокий уровень маркеров цитолиза и холестаза, однако наблюдалось уменьшение относительно контроля протромбинового времени (табл. 4.5). СОЭ  $1,10 \pm 0,21$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ).

Таблица 4.5

Динамика изменения протромбинового времени при введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, сек

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ	ЭФЛ	АМ
Интактная группа	19,3±0,15				
24 часа	36,2±0,42*	36,1±0,20*	32,5±0,32*+●	–	–
72 часа	39,1±0,35*	35,5±0,06*+	36,1±0,32*+	–	–
7 сутки	51,6±0,26*	30,9±0,51*+	31,4±0,55*+	37,2±0,24*+	38,4±0,36*+
14 сутки	■	38,2±0,05*	36,3±0,05*●	41,5±0,78*	39,5±0,62*+●●

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; ■ – отсутствие образования фибринового сгустка; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$ ; ●● -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

На 7-е сутки исследования отмечено снижение относительно контроля активности АлАТ и АсАТ соответственно на 25,0% и на 11,3% ( $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать о регенераторной активности печени. Протромбиновое время было ниже контроля на 60,1% ( $p < 0,05$ ). Кроме того, в отличие от контроля, концентрация ТБК-активных продуктов в сыворотке крови восстанавливалась до уровня здоровых животных (табл. 4.4). На 10-е сутки исследования активность АлАТ и концентрация общего холестерина были близки к данным показателям в интактной группе животных. При этом активность АсАТ и уровень общего билирубина были выше интакта соответственно на 25,0% ( $p < 0,05$ ) и на 39,8% ( $p < 0,05$ ). На 14-е сутки наблюдения концентрация билирубина в сыворотке крови не отличалась от показателя интактной группы, однако активность АсАТ была выше на 53,3% ( $p < 0,05$ ), уровень ЩФ – на 31,6% ниже интактной группы ( $p < 0,01$ ). СОЭ  $3,67 \pm 0,58$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, применение ЭФЛ с профилактической целью при интоксикации ТХМ сопровождалось уменьшением относительно контроля

активности маркеров цитолиза и протромбинового времени, торможением процессов липопероксидации. Необходимо подчеркнуть, что показатели, характеризующие степень поражения гепатоцитов (АлАТ) и функциональное состояние печени (общий холестерин) нормализовались на 10-е сутки исследования, в то время как в контроле – только на 14-е сутки (см. табл. 4.3); процессы перекисного окисления липидов (при отсутствии положительной динамики в контроле) – на 7 сутки наблюдения (см. табл. 4.4).

Через 1 час после введения ТХМ в опытной группе животных, получавших прессовое масло семян амаранта, по сравнению с контролем концентрация ТБК-активных продуктов была ниже на 25,4%, активность АлАТ ниже на 25,1% ( $p < 0,05$ ), АсАТ – на 34,2% ( $p < 0,05$ ), концентрация общего холестерина – на 33,0% ( $p < 0,05$ ), при этом различия биохимических показателей сыворотки крови опытной и интактной групп были статистически не значимы (табл. 4.3). Через 24 часа активность АлАТ и АсАТ в сыворотке крови животных была ниже показателя контроля соответственно на 55,5% и 34,5% ( $p < 0,05$ ), однако выше интакта соответственно в 2,2 раза и 1,5 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация ТБК-активных продуктов и протромбиновое время были ниже контроля соответственно на 25,45% и 10,2% ( $p < 0,05$ ). Кроме того, концентрация общего билирубина по отношению к контролю и препарату сравнения была в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ) ниже, при этом было отмечено повышение ( $p < 0,05$ ) относительно интакта активности ЩФ (табл. 4.2). СОЭ соответствовала показателю интактных животных (табл. 4.6).

Таблица 4.6

Динамика изменения СОЭ при введении прессового масла семян амаранта на фоне интоксикации тетрахлорметаном, мм/ч

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ		
Интактная группа	2,00±0,21				
1 час	4,00±0,94*	2,30±0,24++	2,00±0,13+	–	–
24 часа	3,67±0,53*	4,00±1,00**	2,67±0,58	–	–

Продолжение таблицы 4.6

1	2	3	4	5	6
72 часа	3,00±0,00*	1,10±0,21*+	1,00±0,00*+	–	–
7 сутки	1,00±0,00*	3,83±0,29*+	1,75±0,29+●	2,00±0,00	2,00±0,00
10 сутки	1,50±0,61**	2,00±0,13++	2,00±1,15++	3,50±0,58*+	2,70±0,80++
14 сутки	2,00±0,35	3,67±0,58*+	2,00±0,00●	2,00±0,00	2,00±0,00

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Таким образом, анализ данного биохимического исследования показал, что профилактическое введение прессового масла семян амаранта предотвращало развитие синдрома цитолиза гепатоцитов в первые часы интоксикации и значительно уменьшало его выраженность через 24 часа после введения ТХМ, а также сопровождалось торможением процессов липопероксидации.

Через 72 часа после интоксикации уровень активности АлАТ и АсАТ по сравнению с 1-ми сутками исследования снизился соответственно на 31,1% и 15,9% ( $p < 0,01$ ), тогда как в контрольной группе животных ферментативная активность маркеров цитолиза была снижена значительно. При этом уровень общего билирубина был в 7,4 раза и 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) ниже показателя контроля и препарата сравнения соответственно, а активность ЩФ практически восстанавливалась до исходной величины (табл. 4.3). Следует отметить достоверное относительно интакта снижение в сыворотке крови концентрации ТБК-активных продуктов и возвращение данного показателя к норме на 7-е сутки наблюдения (табл. 4.4).

Через 7 суток после интоксикации, на фоне введения прессового масла семян амаранта с профилактической целью отмечалось снижение относительно контроля активности аминотрансфераз соответственно на 22,9% и 15,9% ( $p < 0,05$ ), а выявленные различия активности АлАТ с интактной группой были

статистически не значимы. Кроме того, протромбиновое время было ниже контроля на 39,1% ( $p < 0,05$ ), а уровня общего билирубина возвращался к норме (табл. 4.3).

Таким образом, применение прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации ТХМ сопровождалось уменьшением относительно контроля в сыворотке крови активности маркеров цитолиза и протромбинового времени, торможением процессов липопероксидации. Необходимо подчеркнуть, что возвращение к норме показателей, характеризующих степень поражения гепатоцитов (АлАТ) и функциональное состояние печени (общий билирубин), наблюдалось на 10-е сутки исследования, в то время как в контроле – только на 14-е сутки (см. табл. 4.3), процессы перекисного окисления липидов (при отсутствии положительной динамики в контроле) – на 3-и сутки (см. табл. 4.4), а уровень общего холестерина, в отличие от группы контроля и препарата сравнения, соответствовал показателю интактных животных на протяжении всего периода исследования. Кроме того, обращает на себя внимание, что нормализация активности АсАТ наступила на 10-е сутки наблюдения, тогда как в контрольной группе и группе препарата сравнения, возвращение данного показателя к исходной величине не зафиксировано на протяжении 14-и суток исследования (см. табл. 4.3). При этом следует отметить, что по действию на показатели, характеризующие степень поражения гепатоцитов (АлАТ) эффективность прессового масла семян амаранта была сопоставима с действием препарата сравнения, а на показатели, характеризующие функциональное состояние печени (общий билирубин), состояние белоксинтезирующей функции (протромбиновое время) и течение воспалительной реакции (СОЭ) – достоверно превосходила эффективность препарата сравнения.

При введении ЭФЛ с лечебной целью животным с интоксикацией, индуцированной ТХМ, активность аминотрансфераз возвращалась к норме к 7-м суткам исследования (табл. 4.7), а протромбиновое время было ниже

контроля на 27,9% ( $p < 0,05$ ) и составило  $37,2 \pm 0,24$  сек. против  $51,6 \pm 0,26$  сек. в контроле. Однако на 7-е сутки было отмечено сохранение в сыворотке крови высокой концентрации общего билирубина (концентрация превышала показатель интактной группы в 2,5 раза при  $p < 0,05$ ) и нарушение липидного обмена в печени (повышение концентрации общего холестерина в сыворотке крови в 1,3 раза по сравнению с интактом при  $p < 0,05$ ) с возвращением к норме к 10-м суткам.

Таблица 4.7

Динамика биохимических показателей сыворотки крови при введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией тетрачлорметаном

Группа животных	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л	ЩФ, Е/л	Билирубин общий, мкмоль/л	Холестерин общий, ммоль/л
Интактная	$55,60 \pm 7,75$	$144,91 \pm 21,67$	$472,25 \pm 41,29$	$2,56 \pm 0,80$	$1,59 \pm 0,13$
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	$90,75 \pm 12,38^*$	$145,07 \pm 10,77$	$594,08 \pm 119,96$	$5,67 \pm 0,66^*$	$2,59 \pm 0,22^*$
ЭФЛ	$67,20 \pm 18,01$	$167,25 \pm 3,72$	$449,0 \pm 29,06$	$6,43 \pm 1,05^*$	$2,11 \pm 0,26^*$
АМ	$59,28 \pm 9,27^+$	$147,99 \pm 15,73$	$491,72 \pm 88,08$	$4,62 \pm 0,35^{\bullet}$	$1,94 \pm 0,17^{*+}$
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	$78,95 \pm 15,45^*$	$163,58 \pm 37,49$	$679,15 \pm 147,58^*$	$5,53 \pm 1,16^*$	$2,34 \pm 0,52^*$
ЭФЛ	$63,16 \pm 10,92$	$148,21 \pm 26,58$	$502,92 \pm 33,73^+$	$2,69 \pm 0,14^+$	$1,32 \pm 0,13^+$
АМ	$59,59 \pm 6,89$	$122,81 \pm 9,03$	$427,16 \pm 16,76^+$	$3,39 \pm 0,28^{\bullet}$	$1,42 \pm 0,12^+$
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	$66,24 \pm 10,05$	$244,86 \pm 51,39^{**}$	$390,00 \pm 37,48^*$	$3,81 \pm 1,19$	$2,17 \pm 0,27$
ЭФЛ	$52,50 \pm 11,79$	$175,15 \pm 20,64$	$335,59 \pm 18,62^*$	$1,95 \pm 0,32^+$	$1,67 \pm 0,07^+$
АМ	$58,48 \pm 11,52$	$144,74 \pm 14,09$	$375,02 \pm 40,38^*$	$1,70 \pm 0,42$	$1,47 \pm 0,21^+$

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем; • -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

На 10-е сутки исследования концентрация в сыворотке крови ТБК-активных продуктов была выше показателя интактной группы на 8,9% ( $p < 0,05$ ), а на 14-е – выше интактной группы и контроля соответственно на 24,1% и 9,2% ( $24,49 \pm 0,74$  нмоль/л против  $19,73 \pm 0,73$  нмоль/л в интактной группе при  $p < 0,05$ )

и  $22,43 \pm 0,83$  нмоль/л в контроле при  $p < 0,05$ ). СОЭ  $3,50 \pm 0,58$  мм/ч против  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч в интакте ( $p < 0,05$ ) и  $1,50 \pm 0,61$  мм/ч в контроле ( $p < 0,01$ ).

Введение прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией, индуцированной ТХМ, на 7-е сутки исследования сопровождалось нормализацией в сыворотке крови активности аминотрансфераз, ЩФ и концентрации ТБК-активных продуктов (табл. 4.4, 4.7). Уровень общего холестерина был ниже контроля на 25,1% ( $p < 0,05$ ) и соответствовал показателю интактных животных на 10-е сутки наблюдения (табл. 4.7). Так же к 10-м суткам наблюдения возвращался к норме уровень общего билирубина. Протромбиновое время было ниже контроля на 25,6% ( $p < 0,05$ ) на 7-е сутки ( $38,4 \pm 0,36$  сек. против  $51,6 \pm 0,26$  сек. в контроле) и ниже препарата сравнения на 4,8% на 14-е сутки исследования ( $39,5 \pm 0,62$  сек. против  $41,5 \pm 0,78$  сек. при  $p < 0,01$ ), в то время как в группе контроля наблюдалось отсутствие образования фибринового сгустка.

Таким образом, полученные результаты позволяют констатировать сокращение по отношению к контролю на фоне применения прессового масла семян амаранта с лечебной целью периода восстановления активности маркеров цитолиза в 2 раза. По действию на данные показатели эффективность прессового масла семян амаранта была сопоставима с эффективностью препарата сравнения. При этом следует отметить, что по действию на показатели, характеризующие степень поражения гепатоцитов (АлАТ) эффективностью прессового масла семян амаранта была сопоставима с действием препарата сравнения, а на показатели, характеризующие функциональное состояние печени (общий билирубин) и состояние белоксинтезирующей функции (протромбиновое время) – достоверно превосходила эффективность препарата сравнения.

### **Патологоанатомические исследования**

При проведении патологоанатомических исследований установлено, что однократное введение ТХМ сопровождалось в контрольной и опытных группах животных рядом специфических изменений на протяжении всего периода

наблюдения. Так, через 24 часа после интоксикации печень животных контрольной группы была желтовато-красного цвета, её масса увеличена на 26,2% ( $p < 0,05$ ), что характеризует наличие жировой дистрофии печени и согласуется с результатами гистохимических исследований. Желудок животных переполнен непереваженными пищевыми массами (см. Приложение 6, рис. 1Б), что согласуется с клинической картиной интоксикации и данными об отсутствии дефекаций. При вскрытии желудка – ощущался резкий запах ТХМ. Кишечник вздут, частично спазмирован, в «окошках» брыжейке тонкой кишки выявлены точечные кровоизлияния диаметром 2-7 мм (см. рис. 4.10А). Масса сердца животных контрольной группы уменьшена на 12,9% без видимых признаков патологии. Через 72 часа масса печени увеличена на 18,8% ( $p < 0,05$ ). Желудок так же заполнен непереваженными пищевыми массами (см. Приложение 6, рис. 2А), кишечник частично спазмирован. В «окошках» брыжейке тонкой кишки точечные кровоизлияния диаметром 1-2 мм.

На 7-е сутки исследования печень так же имела желтовато-красный цвет и рыхлую консистенцию, а масса печени была снижена на 10,1% ( $p < 0,05$ ), что характеризует наличие деструктивных процессов в паренхиме печени. В слизистой оболочке желудка выявлены точечные язвы. Масса почек увеличена на 19,1% ( $p < 0,05$ ), отмечено уменьшение количества околопочечной жировой ткани, составляющей жировую капсулу почек. На 14-е сутки исследования из специфических изменений установлено: печень желтовато-красного цвета, кишечник частично спазмирован, точечные кровоизлияния диаметром 1-2 мм в «окошках» брыжейке тонкой кишки.

В опытной группе животных, получавших с профилактической целью ЭФЛ, через 24 часа после интоксикации печень имела желтовато-красный цвет, масса печени увеличена относительно интакта на 23,4% ( $p < 0,05$ ). Желудок животных так же как в группе контроля переполнен не переваренными пищевыми массами (см. Приложение 6, рис. 1В). В окошках брыжейки тонкого кишечника обнаружены точечные кровоизлияния диаметром 2-4 мм (см. рис. 4.10Б). Через 72 часа после интоксикации печень животных темно-вишневого

цвета, желудок обычной величины и формы, массы почек увеличена на 7% ( $p < 0,01$ ), обнаружены единичные точечные кровоизлияния диаметром 1-2 мм в «окошках» брыжейке тонкой кишки. Начиная с 7-х суток исследования, в отличие от группы контроля, специфических изменений не зафиксировано.

В опытной группе животных, получавших с профилактической целью прессовое масло семян амаранта, через 24 часа после интоксикации печень так же как в группе контроля имела желтовато-красный цвет, однако изменения массы печени относительно интактной группы были статистически не значимы, и на 9,4% ( $p < 0,05$ ) ниже контроля (см. Приложение 7, табл. 9). Желудок животных переполнен непереваженными пищевыми массами (см. Приложение 6, рис. 1Г), в «окошках» брыжейке тонкой кишки единичные точечные кровоизлияния диаметром 1-2 мм (см. рис. 4.10В). Начиная с 3-х суток исследования, в отличие от контроля и препарата сравнения, специфических изменений не зарегистрировано: печень животных имела темно-вишневый цвет, желудок обычной величины и формы (см. Приложение 6, рис. 2В), что согласуется с данными об улучшении общего клинического состояния животных.

В опытных группах животных, получавших исследуемые вещества с лечебной целью, на 7-е сутки исследования печень имела темно-вишневый цвет, масса печени достоверно не отличалась от показателя интактной группы (см. Приложение 7, табл. 10), желудок был обычной величины и формы.

На 10-е сутки исследования в опытной группе животных, получавших ЭФЛ, зафиксировано увеличение массы почек на 17,1% ( $p < 0,05$ ) относительно интактной группы и наличие в «окошках» брыжейки тонкой кишки кровоизлияний диаметром 1-2 мм; на 14 сутки – увеличение на 31,2% ( $p < 0,05$ ) массы надпочечников.

Введение прессового масла семян амаранта на 7-е сутки исследования сопровождалось уменьшением по отношению к интактной группе массы селезенки на 41,5% ( $p < 0,05$ ). На 10-е сутки зафиксировано увеличение массы почек на 10,1% ( $p < 0,01$ ) относительно показателя интактной группы.

### Гистологические и гистохимические исследования

При микроскопическом исследовании гистологических срезов печени крыс контрольной группы уже через 24 часа после интоксикации были обнаружены изменения, характерные для поражения печени ТХМ. Наблюдалась выраженная дисконкомплексация печеночных балок (рис. 4.2А), центральные вены расширены, проницаемость стенок сосудов повышена, в отдельных случаях отмечено разрыхление стенок центральных и междольковых вен. Кроме того, в печени выявлены признаки паренхиматозной дистрофии: белковая (гидропическая, баллонная) и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов вокруг центральных вен с лимфомакрофагальной инфильтрацией. Отмечено наличие центролобулярных и периферических гепатоцитов с уменьшением ядра, часть гепатоцитов в состоянии кариолизиса и кариопикноза (табл. 4.8). Обнаружены множественные очаги некрозов разных размеров (табл. 4.8), в которых структурные элементы клеток не визуализируются, а ткань печени представляет собой гомогенную бесструктурную массу (рис. 4.2Б). На срезах, окрашенных Oil Red O, цитоплазма гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира, что свидетельствует о жировой дистрофии печени, которая имела диффузный характер и нарастала от периферии к центру печеночных долек (рис. 4.3А, Б).

Выявленные изменения согласуются с результатами патологоанатомических и лабораторных исследований, и в первую очередь с развитием синдрома цитолиза гепатоцитов и резким увеличением протромбинового времени. Наряду с этим, отмечено повышение проницаемости сосудистой стенки, что является признаком нарушения микроциркуляторных процессов в печени.

Через 14 дней после введения ТХМ в гистологической картине печени животных наблюдалась нормализация функциональной активности, архитектоника и структура печеночных долек не имела видимых изменений. Однако зафиксировано разрыхление балочной структуры и расширение пространства Диссе. Так же, как и через 24 часа после интоксикации следует

отметить повышенную проницаемость сосудистой стенки и наличие инфильтратов лимфоидных клеток в периваскулярных пространствах (рис. 4.4А). На срезах, окрашенных Oil Red O, цитоплазма гепатоцитов была заполнена мелкими и крупными каплями жира, однако жировой инфильтрации были подвержены преимущественно периферические гепатоциты (рис. 4.6А). Вышеизложенное свидетельствует о сохранении дистрофических и микроциркуляторных нарушений.

Через 24 часа после интоксикации в гистологической картине печени животных, получавших с профилактической целью ЭФЛ, балочная структура долек была выражена слабо, присутствовали следы некротических изменений (рис 4.2В). Цитоплазма периферических гепатоцитов сильно вакуолизирована с уменьшением и лизисом ядра. Печень гиперемирована, в центральных венах обнаружено наличие форменных элементов крови. На срезах, окрашенных Oil Red O, жировая инфильтрация носила диффузный характер, цитоплазма гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира (рис. 4.3В, Г). Таким образом, введение ЭФЛ предотвращало нарушение гистоархитектоники печени, однако, не предотвращало в полной мере развитие дистрофических и микроциркуляторных нарушений в печени.

На 14-е сутки исследования наблюдалась нормализация функциональной активности печени животных, архитектоника и структура печеночных долек не имела видимых изменений, однако так же как в контроле отмечено увеличение лимфоидных инфильтратов и разрыхление стенок сосудов (рис. 4.4В, Г). На срезах, окрашенных Oil Red O, выявлена минимальная степень жировой дистрофии (табл. 4.8), что свидетельствует об уменьшении признаков паренхиматозных нарушений.

В гистологической картине печени животных, получавших с профилактической целью прессовое масло семян амаранта, через 24 часа после интоксикации наблюдалось восстановление гистоархитектоники печени. Присутствовали следы некротических изменений (рис 4.3Г, Д), печень гиперемирована, обнаружены участки полнокровия печени с увеличением

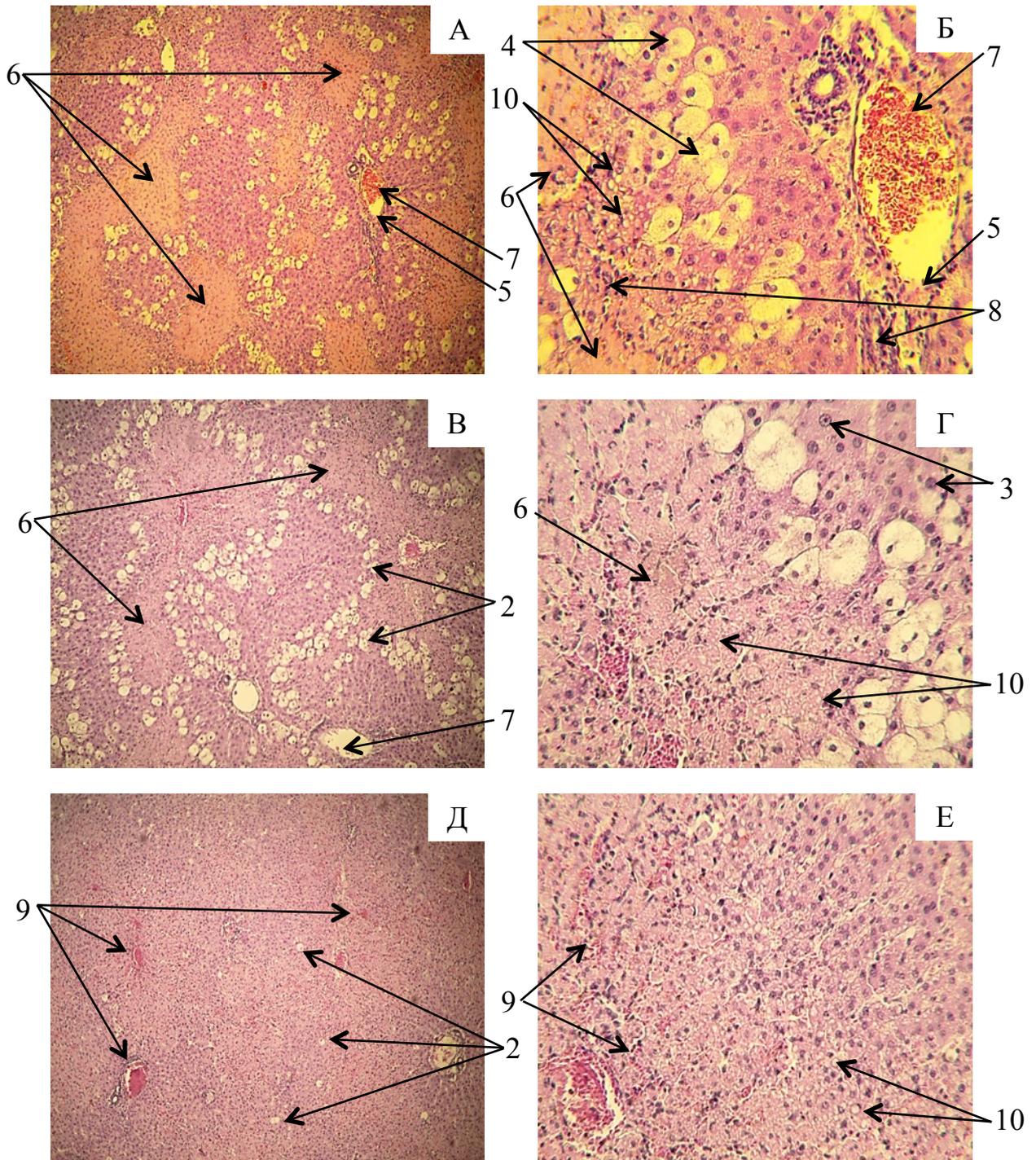


Рис. 4.2. Гистологическая картина печени крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, 1 сутки исследования, окраска – гематоксилин-эозин.

А, В, Д – ув.  $\times 100$ ; Б, Г, Е – ув.  $\times 400$ .

А, Б – контроль; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов; Д, Е – прессовое масло семян амаранта; 1 – гепатоциты средних размеров, с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой; 2 – вакуолизованные гепатоциты (баллонные клетки); 3 – двухъядерные/гипертрофированные клетки; 4 – клетки в состоянии кариолиза и кариопикноза; 5 – разрыхление стенок сосудов; 6 – очаги некроза; 7 – форменные элементы крови; 8 – лимфомакрофагальная инфильтрация; 9 – повышение кровенаполнения сосудов; 10 – мелкокапельная жировая дистрофия

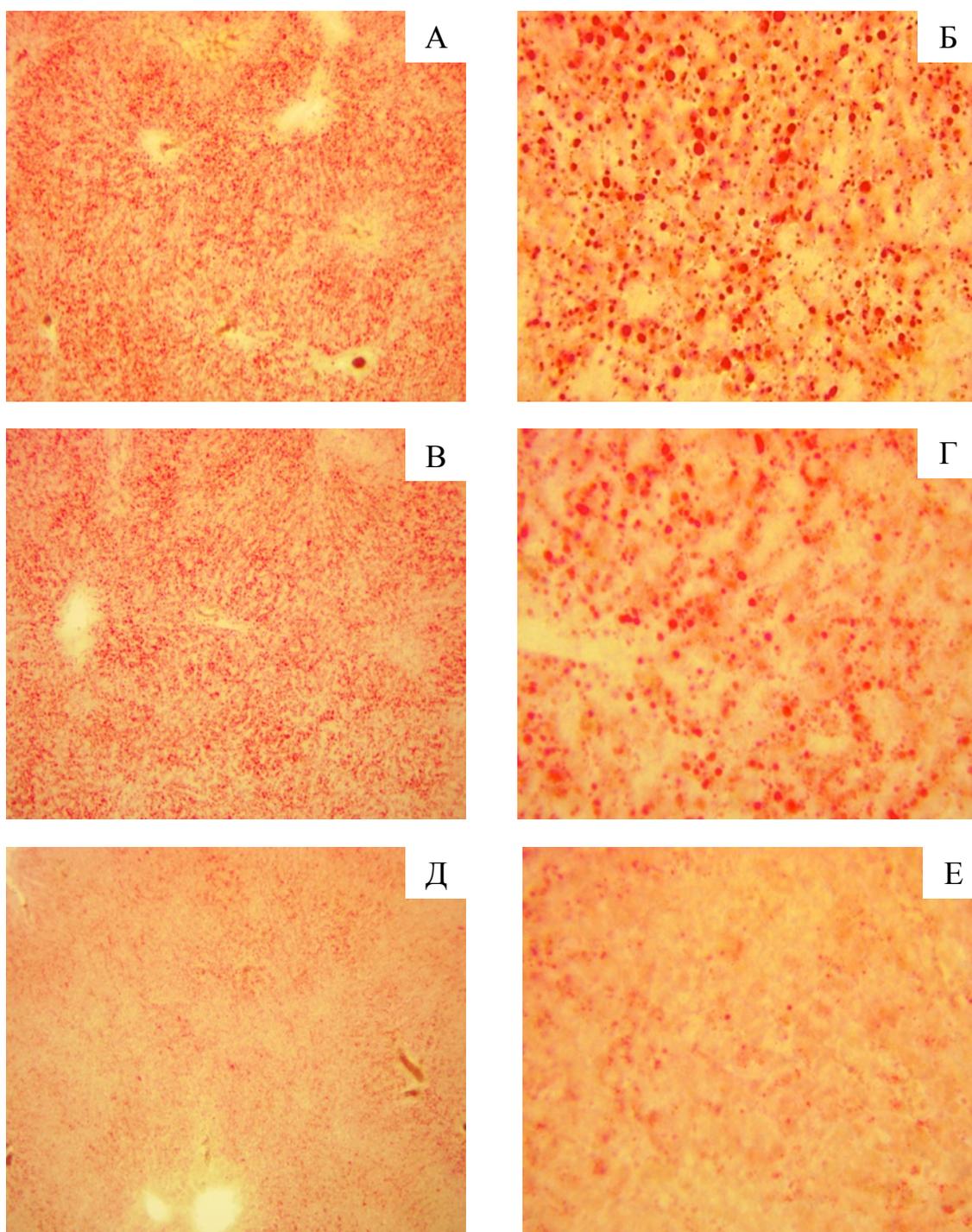


Рис. 4.3. Жировая дистрофия гепатоцитов крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, 1 сутки исследования, окраска – Oil Red O.

А, В, Д – увеличение  $\times 100$ ; Б, Г, Е – увеличение  $\times 400$ .

А, Б – контроль; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов: цитоплазма центрoлoбулярных и периферических гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира; Д, Е – прессовое масло семян амаранта: цитоплазма преимущественно периферических гепатоцитов заполнена мелкими каплями жира

количества эритроцитов в синусоидах. В отличие от группы контроля, лишь единичные периферические гепатоциты вакуолизированы и находятся в состоянии кариолизиса. Так же, отмечено сохранение признаков мелкокапельной жировой дистрофии, однако она выражена гораздо слабее, чем в контроле (рис. 4.2Д). На срезах, окрашенных Oil Red O, степень и распространенность жировой дистрофии так же менее выражена, чем в контроле (табл. 4.8). Гепатоциты с мелкими жировыми каплями расположены преимущественно на периферии печеночных долек (рис. 4.3Г, Д).

Таблица 4.8

Влияние прессового масла семян амаранта на показатели морфометрии и степень жировой инфильтрации печени крыс при интоксикации тетрахлорметаном

Группа животных	Степень жировой инфильтрации, баллы	Относительная площадь некроза, %	Диаметр ядра гепатоцитов, мкм	ЯЦО, %
Интактная	0,33±0,2	-	3,38±0,07	34,1±1,45
<i>24 часа после интоксикации</i>				
<i>профилактическая схема</i>				
Контроль	3,83±0,16	4,69±1,59	2,62±0,38*	32,5±0,85
ЭФЛ	3,67±0,2	2,46±0,22+	2,82±0,24*	30,5±0,35*
АМ	2,30±0,2	2,21±0,44+	3,55±0,60+	33,4±0,26
<i>14 сутки исследования</i>				
Контроль	2,83±0,4	-	3,21±0,42	29,4±0,44*
<i>профилактическая схема</i>				
ЭФЛ	1,33±0,2	-	3,32±0,25	35,7±0,57+
АМ	0,83±0,16	-	3,66±0,13*+	38,1±0,41*+
<i>лечебная схема</i>				
ЭФЛ	1,67±0,2	-	3,55±0,08+	35,2±0,20+
АМ	0,67±0,2	-	3,4±0,21+	36,9±0,23*+

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса: \* - p<0,05 – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + - p<0,05 – достоверность различий при сравнении с контролем

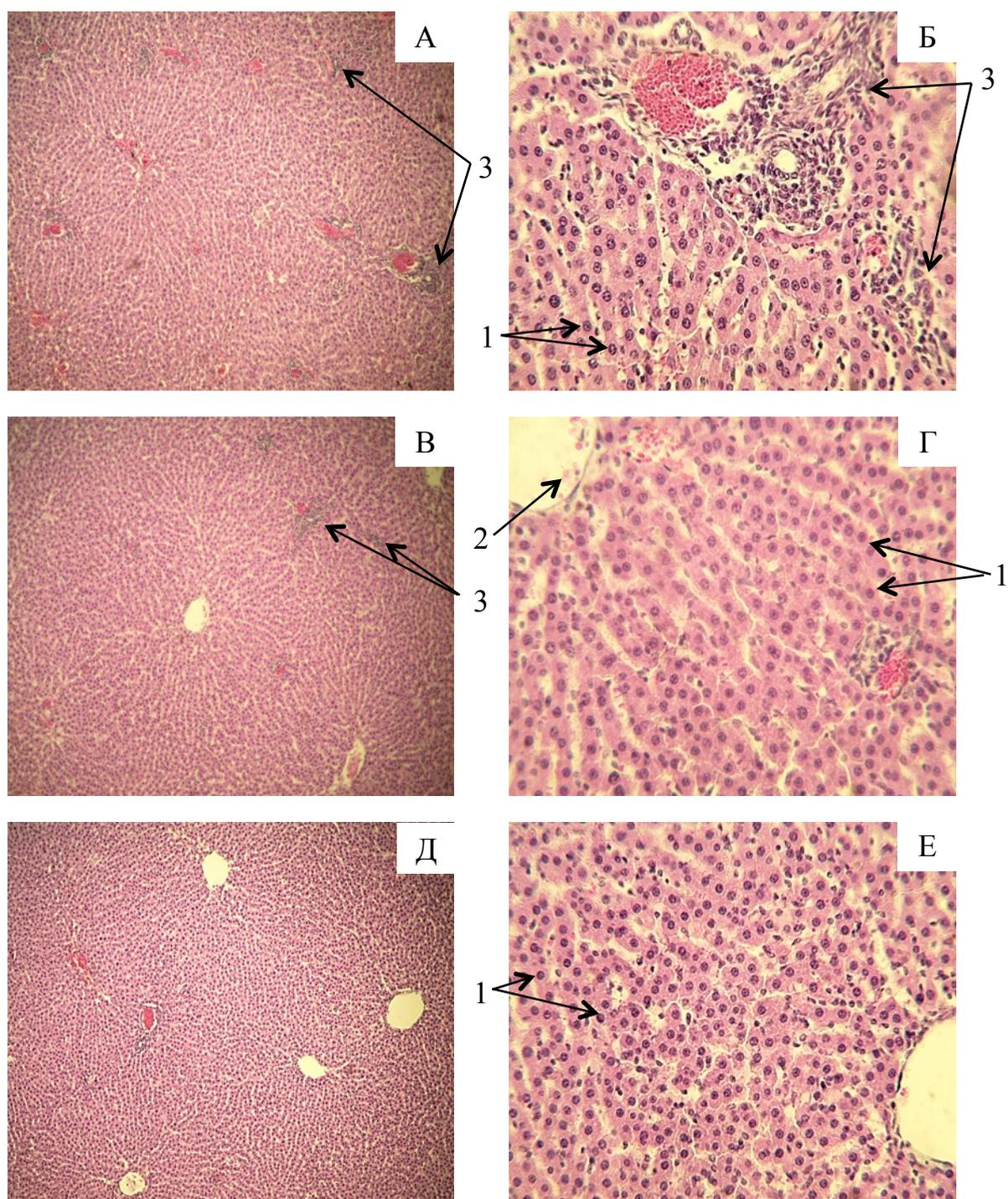


Рис. 4.4. Гистологическая картина печени крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, 14 сутки исследования, окраска – гематоксилин-эозин.

А, В, Д – увеличение  $\times 100$ ; Б, Г, Е – увеличение  $\times 400$ .

А, Б – контроль; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов; Д, Е – масло семян амаранта; 1 – гепатоциты средних размеров, с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой; 2 – форменные элементы крови; 3 – лимфомакрофагальная инфильтрация

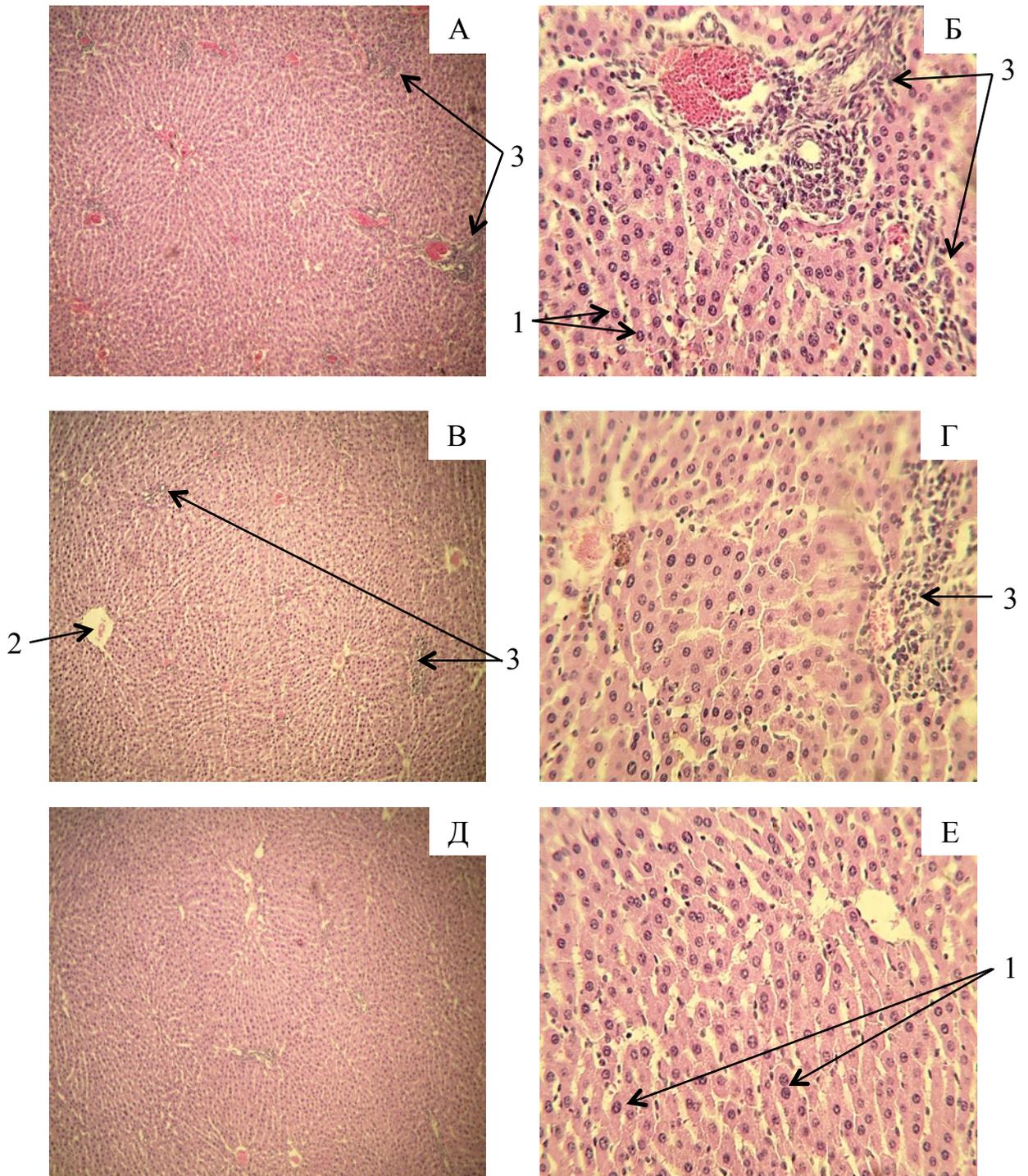


Рис. 4.5. Гистологическая картина печени крыс при введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией тетрахлорметаном, 14 сутки исследования, окраска – гематоксилин-эозин.

А, В, Д – ув.  $\times 100$ ; Б, Г, Е – ув.  $\times 400$ .

А, Б – контроль; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов; Д, Е – масло семян амаранта; 1 – гепатоциты средних размеров, с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой; 2 – форменные элементы крови; 3 – лимфомакрофагальная инфильтрация

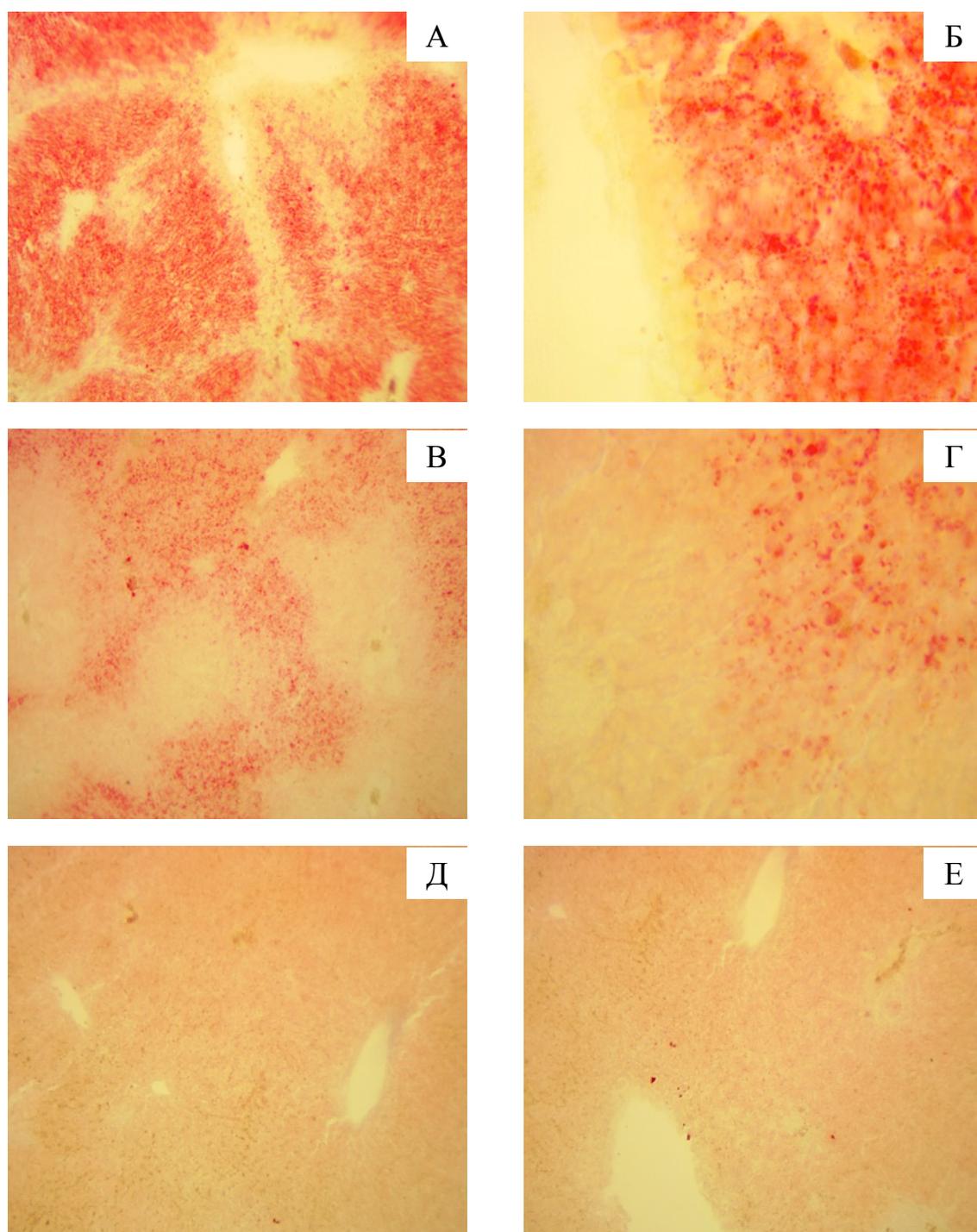


Рис. 4.6. Жировая дистрофия гепатоцитов крыс при введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией тетрахлорметаном, 14 сутки исследования, окраска – Oil Red O.

А, В, Д – увеличение  $\times 100$ ; Б, Г, Е – увеличение  $\times 400$ .

А, Б – контроль: цитоплазма гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира, жировой инфильтрации подвержены преимущественно периферические гепатоциты; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов: цитоплазма центральнобулярных и периферических гепатоцитов заполнена мелкими каплями жира; Д, Е – масло семян амаранта: цитоплазма единичных периферических гепатоцитов заполнена мелкими каплями жира

Таким образом, введение прессового масла семян амаранта с профилактической целью выраженно уменьшало степень дистрофических и некробиотических изменений в паренхиме печени, что сопоставимо с действием препарата сравнения, превосходя его эффективность по влиянию на степень жировой дистрофии.

На 14-е сутки исследования балочная структура печени была выражена хорошо, печень гиперемирована, гепатоциты средних размеров с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой (рис. 4.4Г, Д). На срезах, окрашенных Oil Red O, на периферии дольки в области триады цитоплазма единичных гепатоцитов заполнена мелкими каплями жира. Вышеизложенное согласуется с результатами биохимических и патологоанатомических исследований.

Введение ЭФЛ с лечебной целью животным с интоксикацией, индуцированной ТХМ, на 14-е сутки исследования так же как в контрольной группе животных сопровождалось повышением проницаемости сосудистой стенки и увеличением относительно животных интактной группы, в периваскулярных пространствах количества лимфоидных инфильтратов (рис. 4.5В, Г). На срезах, окрашенных Oil Red O, цитоплазма периферических гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира, цитоплазма центрoлoбулярных гепатоцитов свободна от жировых включений, что свидетельствует о сохранении признаков жировой дистрофии (рис. 4.6В, Г).

При микроскопическом исследовании гистологических срезов печени животных, получавших с лечебной целью прессовое масло семян амаранта к 14-м суткам наблюдения, в отличие от контроля, признаков некробиоза и дистрофии выявлено не было, при этом наблюдалось восстановление гистоархитектоники органа. На срезах, окрашенных Oil Red O, в отличие от контроля и препарата сравнения, где сохранялись четко выраженные признаки негенерализованной жировой дистрофии, на фоне введения прессового масла семян амаранта только на периферии дольки в области триады цитоплазма единичных гепатоцитов была заполнена мелкими каплями жира (табл. 4.8).

#### **4.4. Изменение состояния микроциркуляторного русла брыжейки крыс при профилактике и лечении поражения печени, индуцированного тетрахлорметаном**

Нарушения процессов микроциркуляции являются одним из важных патогенетических факторов в развитии гемодинамических сдвигов при многих заболеваниях [62, 88, 172], в том числе, в токсическом действии ксенобиотиков. Степень тяжести патологического процесса и исход интоксикации в значительной мере обусловлен ухудшением печеночного кровотока и как следствие развития микроциркуляторных расстройств – ишемией и гипоксией. Таким образом, расширение знаний о влиянии ксенобиотиков на микроциркуляторные процессы в целом и при повреждении печени представляет особенный интерес, как в теоретическом, так и практическом плане.

В качестве объекта исследования была выбрана брыжейка тонкой кишки крыс, сосуды которой позволяют оценить степень нарушения микроциркуляторных процессов под действием ксенобиотиков и в определенной мере могут согласоваться с изменениями процессов микроциркуляции в печени, наблюдаемыми при патоморфологических исследованиях.

Исследование выполнено на 150 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой  $210,0 \pm 8,10$  г, которые были разделены случайным образом на следующие группы: интактная (6 голов), контрольная (36 голов), опытные группы, различающиеся схемой введения прессового масла семян амаранта (36 и 18 голов) и группы препарата сравнения (36 и 18 голов).

Изменение состояния микроциркуляторного русла брыжейки крыс регистрировали в динамике развития острого токсического повреждения печени, которое верифицировали с помощью морфологических и биохимических критериев, описанных ранее. Животных выводил из эксперимента по 6 голов в разные сроки: через 1, 24 и 72 часа после интоксикации, а также на 7, 10 и 14 сутки наблюдения.

Критерии оценки: наличие кровоизлияний в «окошках» брыжейки (участок между двумя крупными кровеносными сосудами); изменение диаметра микрососудов; наличие внутрисосудистых (реологические расстройства) и сосудистых (изменение проницаемости стенок микрососудов, диapedез форменных элементов крови, микрокровоизлияния) нарушений; количество капилляров и занимаемая ими площадь ( $\text{мм}^2$ ); отношение функционирующих и выключенных из кровотока за счет стаза капилляров (%).

В результате исследования установлено, что в интактной группе животных при осмотре брыжейки тонкой кишки крыс магистральные сосуды кровенаполнены, кровоизлияния отсутствовали. При биомикроскопическом исследовании приносящие мелкие артерии дают начало артериолам со сплошным гомогенным кровотоком. В центре сосудов артериолярного звена выявлена оптически плотная часть кровотока (осевой поток), вдоль стенок наблюдался более светлый участок потока (пристеночный слой). Контуры артериол ровные, четкие, ход слегка волнистый, диаметр варьировал от 37 до 46 мкм и в среднем составлял  $41,7 \pm 1,5$  мкм. Ветвясь, артериолы отдают метартериолы с таким же кровотоком, диаметром от 16 до 25 мкм (в среднем  $21,5 \pm 1,0$  мкм). От метартериол отходили прекапилляры со сплошным зернистым током крови. Диаметр прекапилляров интактных крыс в среднем составлял  $12,8 \pm 1,2$  мкм (от 11 до 14 мкм). Прекапилляры в свою очередь разделялись на капилляры с ровными четкими контурами, диаметром от 6 до 9 мкм (в среднем  $7,1 \pm 1,0$  мкм), образуя мелкопетлистую равномерную сеть. Среднее количество капилляров на  $1 \text{ мм}^2$  площади брыжейки составляло  $80,0 \pm 11,2$ , а площадь, занимаемая капиллярами, в среднем составляла  $0,36 \pm 0,08 \text{ мм}^2$  на  $1 \text{ мм}^2$  поверхности брыжейки. Впадая непосредственно в вену, прекапилляры образовывали артериоло-венулярные анастомозы. При слиянии венозных сегментов капилляров формировались посткапиллярные венулы (далее – посткапилляры) диаметром от 19 до 20 мкм (в среднем  $19,5 \pm 0,7$  мкм), которые в свою очередь образовывали венулы. Кровоток в посткапиллярах и

венулах сплошной гомогенный, контуры сосудов ровные и четкие. Диаметр венул в среднем составлял  $44,0 \pm 1,8$  мкм.

В контрольной группе животных через 1 час после введения в желудок ТХМ при визуальном осмотре «окошек» брыжейки в области собирающих вен и питающих артерий было отмечено наличие кровоизлияний диаметром 2-3 мм, в среднем  $0,3 \pm 0,7$  штук на 1 «окошко» (рис. 4.10А). При биомикроскопии в 30% сетевых микрососудов было отмечено снижение скорости движения крови и локальные зоны стазирования (рис. 4.7А). Морфометрия выявила увеличение относительно интакта диаметра венул на 10,2% ( $p < 0,01$ ). Через 24 часа при осмотре, так же, как и через 1 час после интоксикации отмечено наличие кровоизлияний диаметром 2-7 мм, в среднем  $1,8 \pm 1,0$  штук на 1 «окошко» (рис. 4.11А). При биомикроскопии в 50% наблюдений было выявлено наличие кровоизлияний площадью  $4,9 \times 10^{-3}$ - $11,7 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>, а вдоль венул и артериол и в непосредственной близости от них – интенсивный диапедез форменных элементов крови (рис. 4.7Б). Кроме того, сужение просвета артериол на 14,9% ( $p < 0,01$ ) сопровождалось сокращением на 29,7% ( $p < 0,01$ ) среднего количества капилляров на 1мм<sup>2</sup> площади брыжейки. В 50% наблюдений в метартериолах был слабый маятникообразный ток крови, синхронный с перистальтическими волнами, в отдельных сосудах определялись эритроцитарные агрегаты. Выявленное увеличение на 47,2% ( $p < 0,01$ ) площади, занимаемой капиллярами за счет увеличения на 21,1% ( $p < 0,01$ ) диаметра капилляров, вероятно, носит адаптивный характер ввиду наличия внутрисосудистых изменений в резистивных сосудах.

Через 72 часа после интоксикации, при визуальном осмотре брыжейки было выявлено наличие кровоизлияния диаметром 1-2 мм, в среднем  $1,7 \pm 1,4$  штук на 1 «окошко». При биомикроскопии в области артериол и венул – интенсивный диапедез форменных элементов крови. Более 50% метартериол и прекапилляров было полностью исключены из кровотока за счет стаза, что сопровождалось компенсаторным разрастанием околосоудистого капиллярного русла (рис. 4.8А). При этом, результаты морфометрии выявили

увеличение относительно интакта диаметра капилляров на 30,9% ( $p < 0,01$ ), однако в 50% наблюдений в них было отмечено визуальное замедление кровотока с появлением признаков генерализованного стаза. Диаметр посткапилляров по данным морфометрии превышал показатель интактной группы на 38,5% ( $p < 0,05$ ). При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $13,5 \pm 1,2$  баллов (показатель в интактной группе  $20,0 \pm 0,0$ ).

На 7-е сутки исследования при визуальном осмотре брыжейки кровоизлияния обнаружены не были. При биомикроскопии в области прекапилляров и капилляров выявлено наличие кровоизлияний площадью  $0,4 \times 10^{-3} - 2,6 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup> (рис. 4.8Б), кроме того, в 20% наблюдений отдельные зоны прекапилляров были выключены из кровотока за счет стаза, в капиллярах – признаки сладжа. В венулах, не смотря на визуальное замедление, сохранялся сплошной зернистый ток крови. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $19,5 \pm 0,15$  баллов (см. Приложение 8, табл. 12).

На 10-е сутки при визуальном осмотре «окошек» брыжейки было выявлено наличие кровоизлияний диаметром 2-4 мм (в среднем  $0,2 \pm 0,4$  штук на 1 «окошко»). При биомикроскопии в 10% случаев было отмечено сладжирование в артериолах. Наряду с этим, в области прекапилляров было выявлено наличие кровоизлияний площадью  $5,4 \times 10^{-3} - 13,6 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup> и интенсивный диапедез форменных элементов крови, приводящий к обширным сливным геморрагиям (рис. 4.9А). Отмечено уменьшение среднего количества капилляров на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки на 42,2% ( $p < 0,01$ ). При этом в 40% наблюдений в капиллярах наблюдали признаки сладжа и стазирования, сопровождающиеся в 20% случаев диапедезными кровоизлияниями диаметром  $0,13 \times 10^{-3} - 0,53 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>. Морфометрия выявила уменьшение относительно показателя интактной группы диаметра артериол на 13,4% ( $p < 0,01$ ) и увеличение диаметра венул на 15,4% ( $p < 0,05$ ).

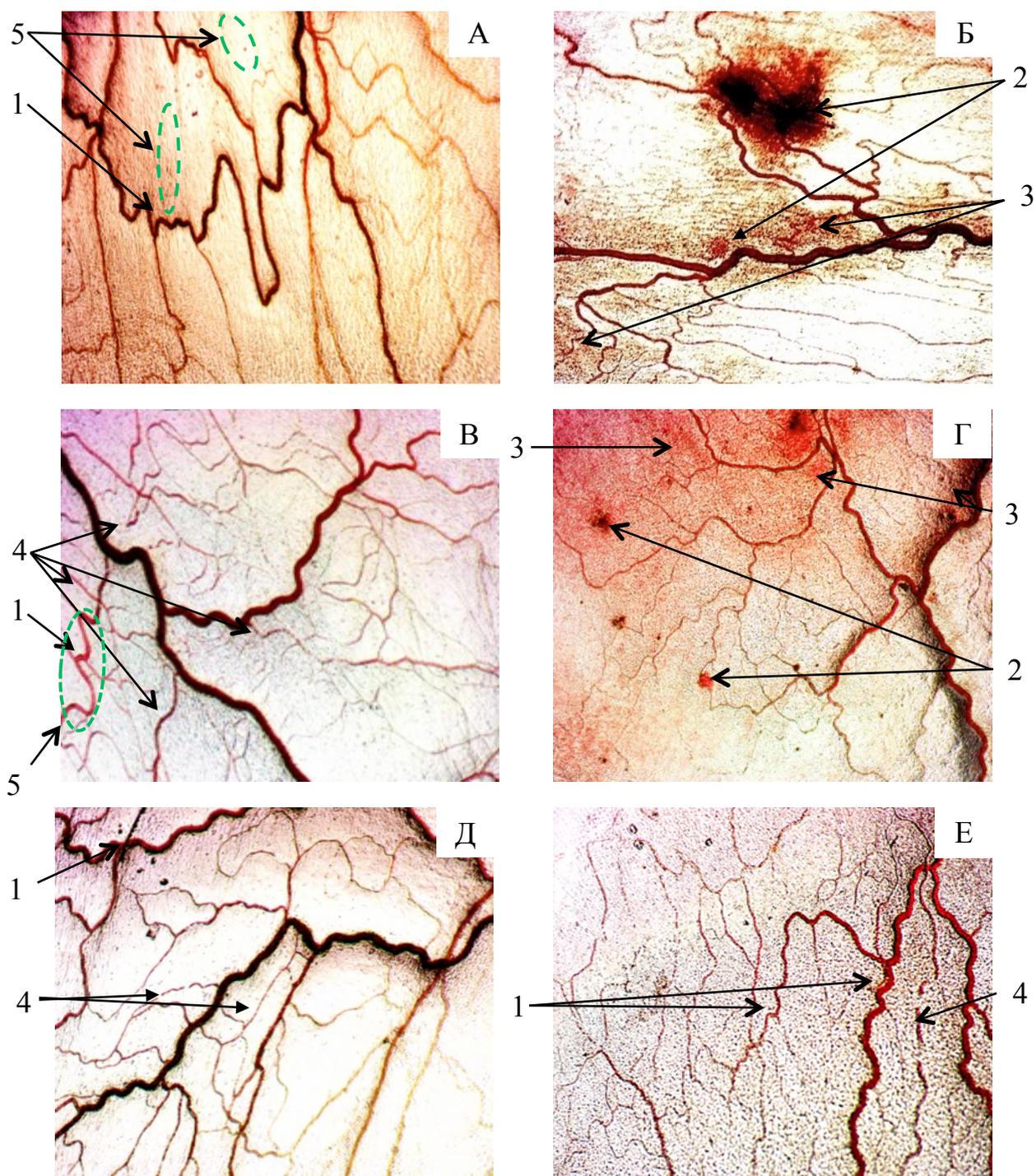


Рис. 4.7. Микроциркуляторное русло брыжейки тонкой кишки крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном. Биомикроскопия, ув.×40.

А – контроль, через 1 час; Б – контроль, через 24 часа; В – препарат эссенциальных фосфолипидов, через 1 час; Г – препарат эссенциальных фосфолипидов, через 24 часа; Д – прессовое масло семян амаранта, через 1 час; Е – прессовое масло семян амаранта, через 24 часа.

1 – увеличение извитости контуров микрососудов; 2 – кровоизлияния; 3 – диапедез форменных элементов крови; 4 – замедление тока крови (сладж-синдром); 5 – локальные зоны стаза

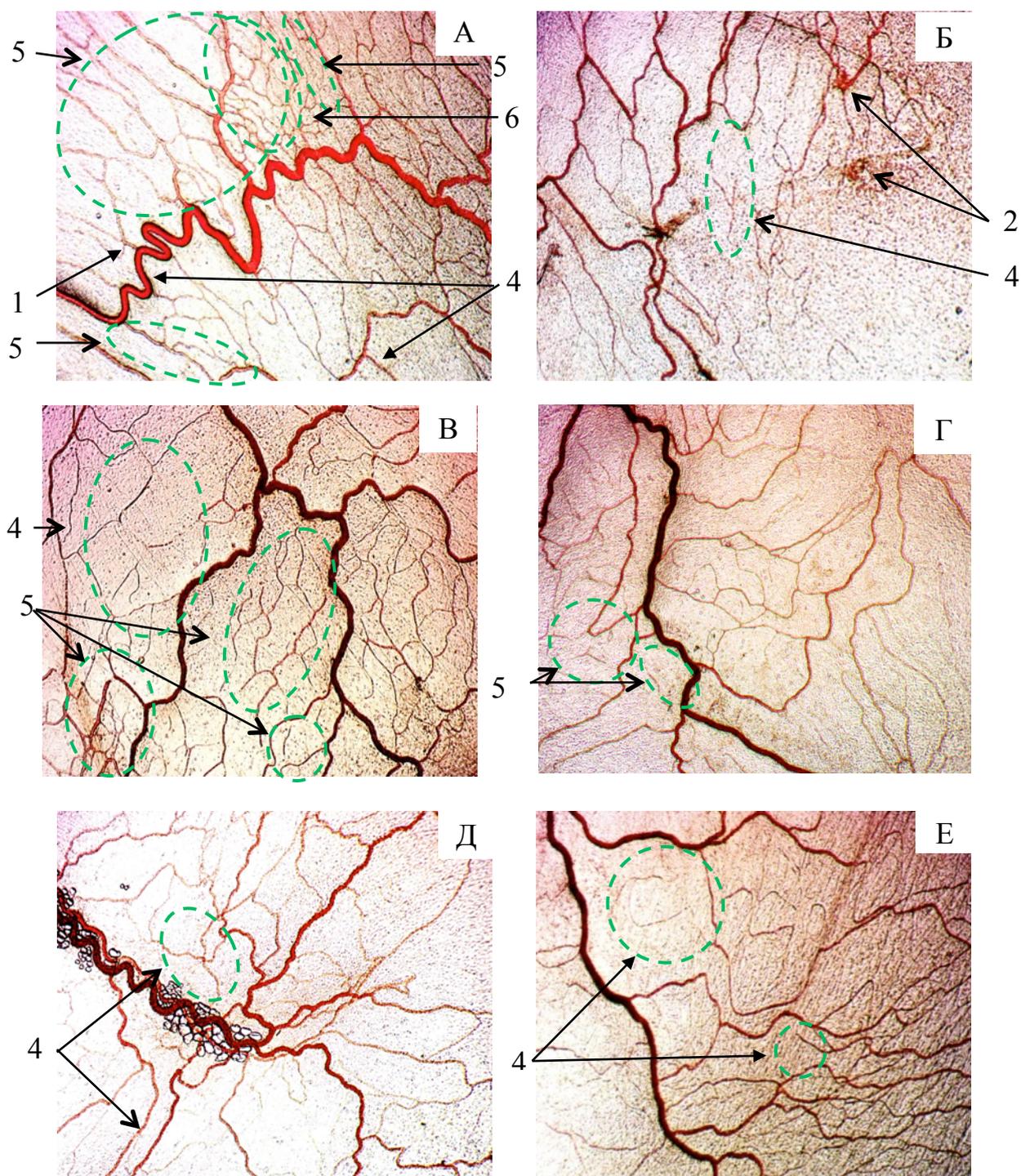


Рис. 4.8. Микроциркуляторное русло брыжейки тонкой кишки крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном. Биомикроскопия, ув.×40.

А – контроль, через 72 часа; Б – контроль, 7 сутки; В – препарат эссенциальных фосфолипидов, через 72 часа; Г – препарат эссенциальных фосфолипидов, 7 сутки; Д – масло семян амаранта, через 72 часа; Е – масло семян амаранта, 7 сутки: 1 – увеличение извитости контуров микрососудов; 2 – кровоизлияния; 3 – диапедез форменных элементов крови; 4 – замедление тока крови (сладж-синдром); 5 – локальные зоны стаза; 6 – разрастание околососудистого капиллярного русла

На 14-е сутки исследования при визуальном осмотре «окошек» брыжейки, так же, как и на 10-е сутки было выявлено наличие кровоизлияний диаметром 1-2 мм (в среднем  $0,2 \pm 0,4$  штук на 1 «окошко»). При биомикроскопии вдоль венул и артериол и в непосредственной близости от них обнаружен интенсивный диапедез форменных элементов крови (рис. 4.9Б). В 50% наблюдений в области артериол обнаружены кровоизлияния площадью  $24,0 \times 10^{-3} - 35 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>, а в области прекапилляров – кровоизлияния площадью  $0,14 \times 10^{-3} - 0,54 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>. Морфометрия выявила уменьшение относительно интакта диаметра артериол на 14,6% ( $p < 0,01$ ) и увеличение диаметра прекапилляров на 27,3% ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, анализ результатов исследования показал, что уже через 24 часа после интоксикации в брыжейке тонкой кишки крыс наблюдались признаки нарушения микроциркуляторных процессов – сужение просвета артериол и повышение сосудистой проницаемости с дальнейшим нарастанием на протяжении 14-и суток наблюдения признаков нарушения реологических свойств крови, морфологическим проявлением которых являлись внутрисосудистая агрегация эритроцитов и стазирование, а также выраженными деструктивными изменениями стенок магистральных и микрососудов, сопровождающихся интенсивным диапедезом форменных элементов крови и кровоизлияниями.

При осмотре «окошек» брыжейки крыс опытной группы, получавших с профилактической целью ЭФЛ, через 1 час после интоксикации в отличие от контрольной группы животных, кровоизлияния обнаружены не были (рис. 4.10Б). При биомикроскопии в 20% наблюдений в просвете артериол и метартериол обнаружена внутрисосудистая агрегация в виде крупнозернистого сляжда, замедление скорости движения крови. Кроме того, в метартериолах было отмечено наличие локальных зон стазирования (рис. 4.7В). Морфометрия выявила увеличение относительно интакта диаметра венул на 15,7% ( $p < 0,05$ ). Среднее количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки было больше

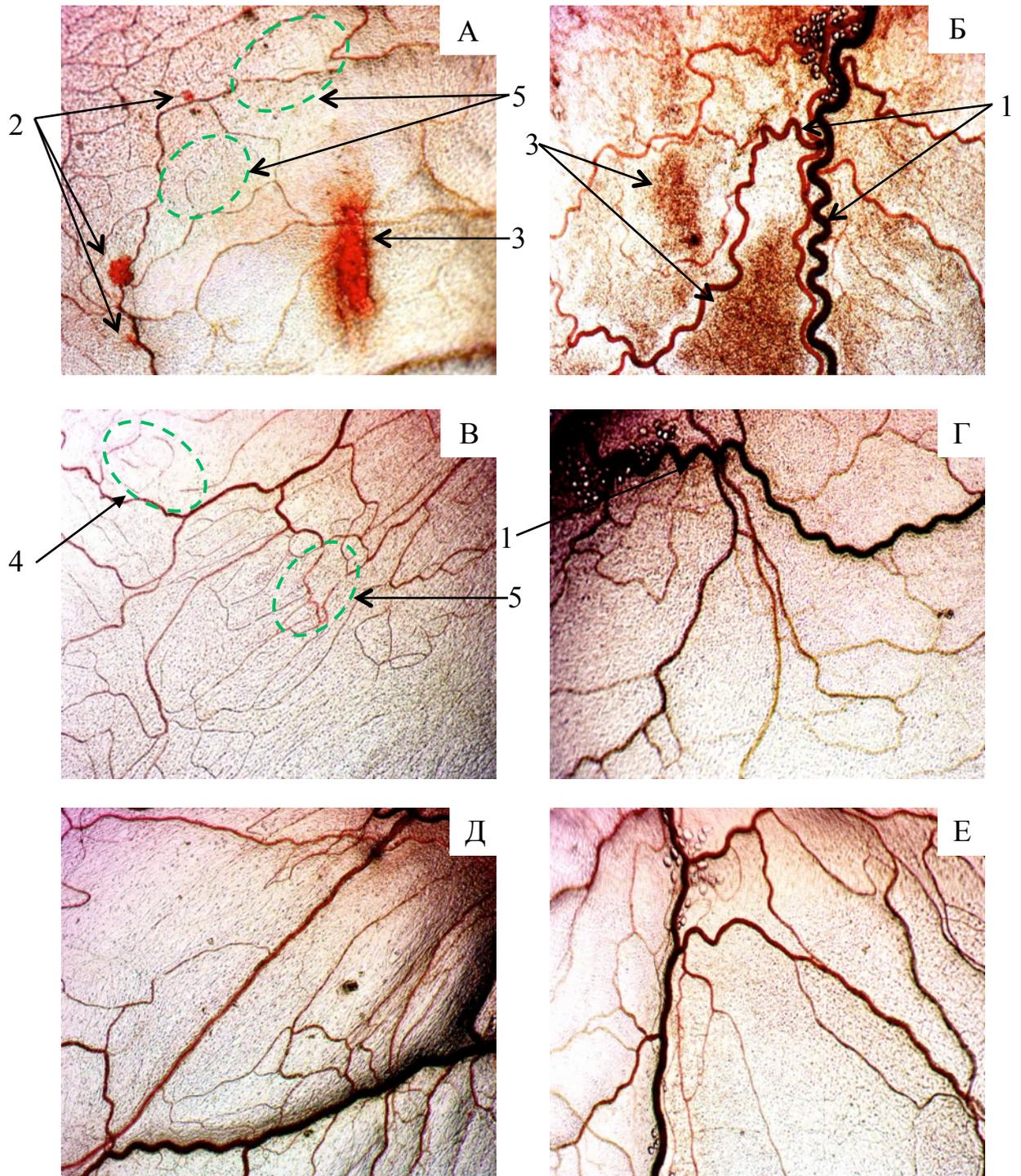


Рис. 4.9. Микроциркуляторное русло брыжейки тонкой кишки крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации, индуцированной тетрахлорметаном. Биомикроскопия, ув.×40. А – контроль, 10 сутки; Б – контроль, 14 сутки; В – препарат эссенциальных фосфолипидов, 10 сутки; Г – препарат эссенциальных фосфолипидов, 14 сутки; Д – масло семян амаранта, 10 сутки; Е – масло семян амаранта, 14 сутки. 1 – увеличение извитости контуров микрососудов; 2 – кровоизлияния; 3 – диапедез форменных элементов крови; 4 – замедление тока крови (сладж-синдром); 5 – локальные зоны стаза

контроля на 37,5% ( $p < 0,01$ ), однако, более чем в 50% из них кровоток был прерывистый, вплоть до стаза.

Через 24 часа при осмотре брыжейки зафиксировано наличие кровоизлияний диаметром 2-4 мм, в среднем  $1,8 \pm 1,5$  штук на 1 «окошко», что не отличалось от показателей животных контрольной группы (рис. 4.11Б). При биомикроскопии, так же, как и в группе контроля, вдоль резистивных сосудов и в непосредственной близости от них наблюдали интенсивный диапедез форменных элементов крови, сопровождающийся образованием сливных геморрагий. У стенок капилляров было обнаружено наличие кровоизлияний диаметром  $2,1 \times 10^{-3} - 3,1 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup> (рис. 4.7Г). В 50% наблюдений в метартериолах ток крови зернистый, визуально замедлен, отдельные участки выключены из кровотока за счет сдвига. Морфометрия выявила уменьшение относительно показателя интактной группы просвета артериол на 14,6% ( $p < 0,01$ ).

Через 72 часа после интоксикации при осмотре брыжейки по сравнению с 1-ми сутками исследования количество кровоизлияний уменьшилось в 2,6 раза и составляло в среднем  $0,7 \pm 1,0$  штук на 1 «окошко», что ниже показателя контроля в 2,4 раза. При биомикроскопии было установлено, что кровоток сохранен преимущественно в артериолах, при этом, не смотря на визуальное замедление, характер тока крови сплошной гомогенный. Большая часть метартериол и сетевых сосудов была выключена из кровотока за счет стаза, а в функционирующих метартериолах визуально замедленный зернистый ток крови, в отдельных сосудах выявлены локальные зоны агрегации эритроцитов (рис. 4.8В). При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $14,0 \pm 1,3$  баллов при показателе в интактной группе  $20,0 \pm 0,0$ . Морфометрия выявила увеличение относительно интакта диаметра капилляров на 30,9% ( $p < 0,01$ ). Диаметр посткапилляров был меньше показателя контроля на 14,4% ( $p < 0,01$ ), однако больше показателя интактной группы на 18,5% ( $p < 0,05$ ).

На 7-е сутки исследования при визуальном осмотре «окошек» брыжейки, так же, как в контроле, кровоизлияний обнаружено не было. При

биомикроскопии в прекапиллярах и капиллярах в 20% наблюдений было отмечено наличие локальных зон сладжа и стазирования (рис. 4.8Г). Морфометрия выявила увеличение относительно контроля диаметра метартериол на 22,8% ( $p < 0,01$ ) и уменьшение диаметра посткапилляров на 12,2% ( $p < 0,01$ ). На 10-е сутки исследования общая картина нарушений носила сходный характер. Морфометрическое исследование анатомии сосудов брыжейки выявило увеличение относительно интактной группы диаметра посткапилляров и венул соответственно на 31,3% и 18,6% ( $p < 0,01$ ). Через 14 дней после интоксикации ток крови был сохранен во всех звеньях микроциркуляторного русла (рис. 4.9Г), в 30% случаев в капиллярах наблюдались признаки сладжа. Морфометрия выявила уменьшение относительно показателя интактной группы диаметра артериол, посткапилляров и венул соответственно на 14,1% ( $p < 0,05$ ), 8,2% ( $p < 0,05$ ), и 7,7% ( $p < 0,01$ ). При этом было отмечено увеличение в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ) относительно интакта площади, занимаемой капиллярами на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки.

Таким образом, введение ЭФЛ с профилактической целью не предотвращало в полной мере изменений картины микроциркуляторного русла, вызванных введением ТХМ. Так же как в группе контроля, были обнаружены признаки нарушения реологических свойств крови и выявлены деструктивные изменения стенок магистральных и микрососудов.

В опытной группе животных, получавших с профилактической целью пресовое масло семян амаранта, при визуальном осмотре «окошек» брыжейки, в отличие от контроля, через 1 час после интоксикации кровоизлияния обнаружены не были (рис. 4.10В). При биомикроскопии ток крови сохранялся во всех звеньях микроциркуляторного русла. Однако в 10% капилляров были выявлены локальные зоны сладжа. Морфометрия выявила увеличение относительно контроля диаметра капилляров на 11,1% ( $p < 0,05$ ).

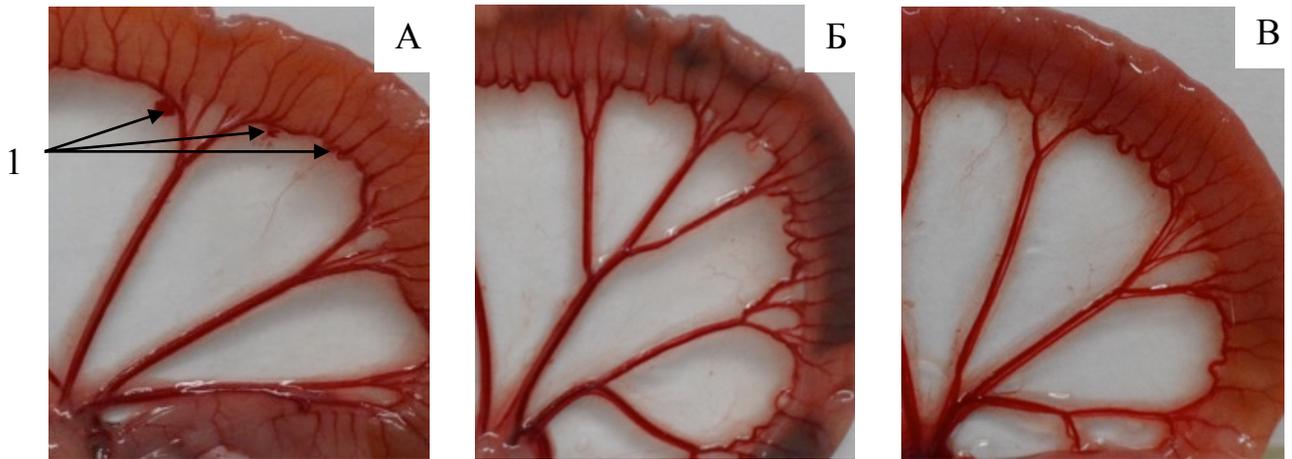


Рис. 4.10. Брыжейка тонкой кишки крыс при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации тетрахлорметаном, через 1 час после интоксикации: А – контроль; Б – препарат эссенциальных фосфолипидов; В – прессовое масло семян амаранта; стрелками показаны кровоизлияния

Через 24 часа при визуальном осмотре брыжейки зафиксировано наличие кровоизлияний диаметром 1-2 мм (рис. 4.11В), в среднем  $0,3 \pm 0,5$  штук на 1 «окошко», что в 6 раз ниже показателя животных контрольной группы и группы препарата сравнения. При биомикроскопии во всех наблюдениях кровоизлияния и признаки диапедеза выявлены не были. При этом в 20% наблюдений в метартериолах были выявлены признаки сладжа (рис. 4.7Е). Морфометрия выявила уменьшение относительно интакта диаметра артериол на 11,5% ( $p < 0,01$ ). Диаметр прекапилляров был меньше показателя интактной группы на 17,2% ( $p < 0,01$ ), однако находился в пределах известных значений видово-возрастной нормы для крыс [167]. Среднее количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки был выше контроля на 51,1% ( $p < 0,01$ ).

Через 72 часа после интоксикации при визуальном осмотре брыжейки зафиксировано наличие кровоизлияний диаметром 1-2 мм, в среднем  $0,2 \pm 0,4$  штук на 1 «окошко», что в 8,5 раз ниже показателей животных контрольной группы и в 3,5 раза ниже показателя группы сравнения. При биомикроскопии наблюдали сохранение тока крови во всех звеньях микроциркуляторного русла. Однако в 10% случаев наблюдения были выявлены локальные зоны сладжа в капиллярах (рис. 4.8Д). При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных

процессов составляло  $19,8 \pm 0,0$  баллов при показателе в интакте  $20,0 \pm 0,0$  баллов и показателе в контроле  $13,5 \pm 1,2$  баллов (см. Приложение 8, табл. 12). Морфометрия выявила уменьшение относительно контроля диаметра посткапилляров на 17,8% ( $p < 0,01$ ).

На 7-е, 10-е и 14-е сутки исследования кровоизлияния в «окошках» брыжейки обнаружены не были. При биомикроскопии на 7-е сутки исследования, так же, как и на 3-и сутки, профилактическое введение прессового масла семян амаранта сопровождалось сохранением тока крови во всех звеньях микроциркуляторного русла. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $20,0 \pm 0,0$  баллов, что соответствовало показателям нормы у здоровых животных интактной группы. Морфометрия не выявила достоверных относительно интакта и контроля различий в диаметре микрососудов (табл. 4.11).

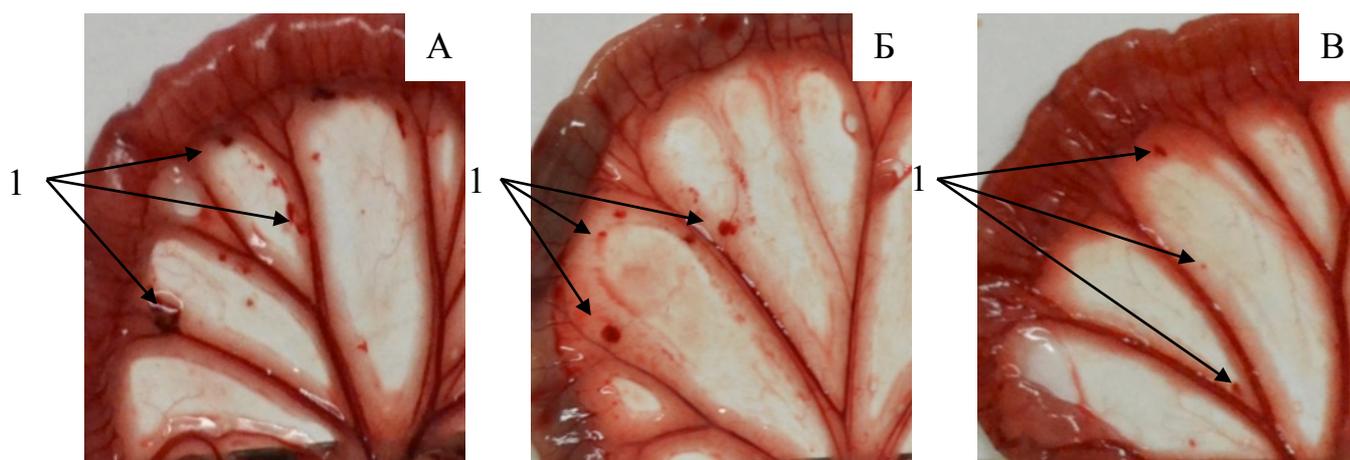


Рис. 4.11. Брыжейка тонкой кишки крыс при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации тетрахлорметаном, 24 часа после интоксикации: А – контроль; Б – препарат эссенциальных фосфолипидов; В – масло семян амаранта; стрелками показаны кровоизлияния

На 10-е сутки было отмечено увеличение на 48,0% ( $p < 0,01$ ) относительно контроля количества перфузируемых капилляров с визуальным ускоренным током крови.

Изменение диаметра микрососудов брыжейки крыс при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации тетрахлорметаном

Группа животных	Диаметр микрососудов, мкм					
	Артериолы	Метартериолы	Прекапилляры	Капилляры	Посткапилляры	Венулы
Интактная	41,7±1,5	21,5±1,0	12,8±1,2	7,1±1,0	19,5±0,7	44,0±1,8
<i>1 час после интоксикации</i>						
Контроль	44,0±2,2	19,4±1,7	12,55±0,35	6,3±0,1	20,8±0,7	48,5±1,65**
ЭФЛ	43,8±2,8	20,7±0,9	11,9±0,6	6,8±0,5	20,6±0,9	50,9±0,8*
АМ	42,4±1,7	21,4±1,1	12,6±1,4	7,0±0,2 <sup>+</sup>	19,8±1,0	46,4±1,4
<i>24 часа после интоксикации</i>						
Контроль	35,5±2,1**	24,2±1,6	12,3±0,65	8,6±0,9**	20,4±0,9	41,0±1,4
ЭФЛ	35,6±2,8**	19,8±2,9	11,4±1,4	6,7±0,7	19,9±1,2	42,95±2,3
АМ	38,9±2,5	21,8±1,8	10,6±0,7**++	7,5±0,75	20,1±1,0	44,8±0,9++
<i>72 часа после интоксикации</i>						
Контроль	37,6±3,8	26,4±4,1	13,6±2,4	9,3±0,4**	27,0±1,9*	46,4±1,4
ЭФЛ	42,1±2,3	23,2±1,5	14,6±3,1	9,3±0,5**	23,1±1,0*++	44,9±3,5***++
АМ	41,3±2,9	21,5±4,3	12,6±1,9	7,9±0,8	22,2±1,1***++	49,9±1,4
<i>7 сутки исследования</i>						
Контроль	41,3±1,6	18,8±1,85	12,1±1,0	6,8±0,8	22,9±1,1	41,7±2,3
ЭФЛ	41,4±2,7	23,1±1,4++	13,6±2,2	7,0±0,9	20,1±0,9++	43,1±1,7
АМ	41,6±2,9	21,5±4,1	12,7±1,5	7,1±0,8	21,2±1,1	44,3±1,4
<i>10 сутки исследования</i>						
Контроль	36,1±2,8**	22,4±1,0	14,2±1,8	7,0±0,4	19,2±1,2	50,8±1,1*
ЭФЛ	41,6±3,2	22,5±0,9	14,6±1,4	7,1±0,5	25,6±1,4*+	52,2±1,9*
АМ	41,7±2,3	21,5±1,2	12,6±1,0	7,5±1,2	20,1±0,6	46,7±1,2++
<i>14 сутки исследования</i>						
Контроль	35,6±0,7**	22,4±1,4	16,3±1,1*	6,8±0,7	18,0±2,5	44,6±1,9
ЭФЛ	35,8±1,0*	20,2±1,6	13,5±1,2++	7,75±0,2	17,9±0,4*	40,6±0,8***++
АМ	41,0±2,4++	20,7±1,0	13,0±3,2	7,1±0,9	19,9±1,0	46,6±1,4

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; <sup>+</sup> -  $p < 0,05$ ; <sup>++</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Площадь, занимаемая капиллярами на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки, была выше показателя контроля в 1,6 раза ( $p < 0,01$ ). Морфометрия выявила уменьшение относительно контроля диаметра венул на 8,0% ( $p < 0,01$ ). На 14-е сутки исследования было отмечено дальнейшее умеренное нарастание емкости

микроциркуляторного русла за счет увеличения в 1,3 раза ( $p < 0,01$ ) относительно интакта площади, занимаемой капиллярами на  $1 \text{ мм}^2$  площади брыжейки (табл. 4.10).

Таблица 4.10

Изменения количества и площади, занимаемой капиллярами при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации тетрахлорметаном

Группа животных	Период наблюдения					
	1 час	24 часа	72 часа	7 сутки	10 сутки	14 сутки
Количество капилляров на $1 \text{ мм}^2$ , шт.						
Интактная	80,0±11,2					
Контроль	62,5±14,4	56,25±12,5**	85,0±13,7	60,0±13,7	56,25±12,5**	68,75±23,9
ЭФЛ	100,0±17,7++	70,8±18,8	60,0±13,7	62,5±13,6	62,5±144,4	68,75±12,5
АМ	85,0±12,5	85,0±13,7++	87,5±13,7	70,8±18,8	83,3±12,9++	85,0±13,7
Площадь, занимаемая капиллярами на исследуемом сегменте в $1 \text{ мм}^2$ , $\text{мм}^2$						
Интактная	0,36±0,08					
Контроль	0,30±0,06	0,53±0,13**	0,49±0,12	0,27±0,12	0,25±0,13	0,41±0,10
ЭФЛ	0,28±0,12	0,26±0,10++	0,37±0,09	0,29±0,11	0,28±0,09	0,54±0,12**
АМ	0,37±0,10	0,38±0,14	0,40±0,11	0,32±0,06	0,41±0,15++	0,47±0,08**

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Таким образом, в результате исследования установлено, что введение прессового масла семян амаранта с профилактической целью, предотвращало развитие в брыжейке тонкой кишки крыс внутрисосудистой агрегации эритроцитов, стазирования и деструкции стенок микрососудов, сопровождающихся интенсивным диapedезом форменных элементов крови и кровоизлияниями. Выявленные изменения свидетельствуют об улучшении состояния сосудистой стенки и микроциркуляторных процессов.

На 7-е сутки исследования в опытной группе животных, получавших ЭФЛ с лечебной целью, при визуальном осмотре брыжейки кровоизлияния обнаружены не были. При биомикроскопии в прекапиллярах и капиллярах в 50% наблюдений – наличие локальных зон сладжа (рис. 4.12А). При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло

19,00±0,27 при показателе в интакте 20,0±0,0 баллов. Морфометрия выявила увеличение относительно интакта диаметра посткапилляров на 17,4% ( $p<0,01$ ).

На 10-е сутки исследования при наружном осмотре брыжейки было выявлено в 5 раз больше кровоизлияний по сравнению с показателем животных контрольной группы, диаметр которых составлял 1-2 мм (в среднем  $1,0\pm 1,1$  штук на 1 «окошко»). При биомикроскопии вдоль венул и артериол наблюдали интенсивный диапедез форменных элементов крови, приводящий к обширным сливным геморрагиям (рис. 4.12В). В области прекапилляров, так же как в группе контроля, было выявлено наличие кровоизлияний площадью  $4,3\times 10^{-3}$ - $18,9\times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>. В 20% прекапилляров и капилляров были отмечены признаки сладжа и стазирования. Морфометрия выявила уменьшение относительно интакта и контроля диаметра прекапилляров соответственно на 16,4% и 24,6% ( $p<0,01$ ). Среднее количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки соответствовало показателю контрольной группы и было достоверно ниже интактной группы на 29,7% ( $p<0,01$ ).

На 14-е сутки исследования при визуальном осмотре брыжейки кровоизлияния не обнаружены. При биомикроскопии в 50% случаев наблюдений вдоль венул и артериол и в непосредственной близости от них – интенсивный диапедез форменных элементов крови (рис. 4.12Д). Морфометрия не выявила достоверных отличий относительно интакта и контроля в диаметре микрососудов (табл. 4.13).

Таким образом, введение с лечебной целью животным с интоксикацией ЭФЛ не предотвращало в полной мере изменений картины микроциркуляторного русла, вызванных интоксикацией ТХМ.

В опытной группе животных, получавших с лечебной целью прессовое масло семян амаранта, в отличие от контроля, начиная с 7-х суток исследования, наблюдалось отсутствие кровоизлияний в «окошках» брыжейки крыс. При биомикроскопии не зафиксировано регистрируемых в контроле нарушений со стороны микроциркуляторного русла. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $20,0\pm 0,0$  баллов,

что соответствовало показателю нормы у здоровых животных интактной группы.

Таблица 4.11

Изменение диаметра микрососудов брыжейки крыс при введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией тетрахлорметаном

Группа животных	Диаметр микрососудов, мкм					
	Артериолы	Метартериолы	Прекапилляры	Капилляры	Посткапилляры	Венулы
Интактная	41,7±1,5	21,5±1,0	12,8±1,2	7,1±1,0	19,5±0,7	44,0±1,8
<i>7 сутки исследования</i>						
Контроль	41,3±1,6	18,8±1,85	12,1±1,0	6,8±0,8	22,9±1,1	41,7±2,3
ЭФЛ	41,0±1,4	20,4±1,0	13,1±1,1	7,0±0,6	19,8±1,1++	43,7±1,9
АМ	41,4±0,37	22,2±2,06	16,4±1,4***++	7,9±0,06	19,7±0,6++	46,2±1,5++
<i>10 сутки исследования</i>						
Контроль	36,1±2,8**	22,4±1,0	14,2±1,8	7,0±0,4	19,2±1,2	50,8±1,1*
ЭФЛ	40,8±2,8	22,7±0,5	10,7±0,05***++	7,7±0,9	21,9±1,5	45,6±2,7++
АМ	41,6±3,7	24,2±3,3	15,8±2,9	7,2±0,8	19,4±0,8	46,1±1,75++
<i>14 сутки исследования</i>						
Контроль	35,6±0,7**	22,4±1,4	16,3±1,1*	6,8±0,7	18,0±2,5	44,6±1,9
ЭФЛ	44,5±1,5	21,6±1,2	14,9±1,1	7,6±0,9	21,6±1,5	46,0±1,4
АМ	43,3±1,1	25,4±1,5**	17,4±0,6**	8,8±0,4++	18,1±1,9	45,4±1,9

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Наряду с этим, на 7-е сутки выявлено увеличение относительно показателя интактной группы в 1,3 раза ( $p < 0,01$ ) площади, занимаемой капиллярами на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки, за счет достоверного относительно интакта и контроля увеличения количества капилляров на 1 мм<sup>2</sup> брыжейки соответственно на 14,6% и 52,8% ( $p < 0,01$ ). Морфометрия выявила соответствие диаметра посткапилляров и венул показателям интактной группы и их достоверное уменьшение относительно контроля соответственно на 14,0% и 10,8% ( $p < 0,01$ ). Диаметр прекапилляров был выше интактной группы на 28,1% ( $p < 0,01$ ). На 10-е сутки исследования среднее количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки было выше контроля на 55,5% ( $p < 0,01$ ). Морфометрия

выявила соответствие показателям интактной группы диаметра венул и их достоверное относительно контроля уменьшение на 9,2% ( $p < 0,01$ ).

Таблица 4.12

Изменения количества и площади, занимаемой капиллярами при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации тетрахлорметаном

Группа животных	Период наблюдения		
	7 сутки	10 сутки	14 сутки
Количество капилляров на 1 мм <sup>2</sup> , шт.			
Интактная	80,0±11,2		
Контроль	60,0±13,7	56,25±12,5**	68,75±23,9
ЭФЛ	74,0±13,4	56,25±12,5**	80,0±11,2
АМ	91,7±12,9**++	87,5±17,7++	95,8±10,2*+
Площадь, занимаемая капиллярами на исследуемом сегменте в 1 мм <sup>2</sup> , мм <sup>2</sup>			
Интактная	0,36±0,08		
Контроль	0,27±0,12	0,25±0,13	0,41±0,1
ЭФЛ	0,31±0,11	0,31±0,07	0,31±0,03
АМ	0,47±0,03**++	0,36±0,02++	0,49±0,04**

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

На 14-е сутки наблюдения морфометрия выявила увеличение относительно интактной группы диаметра метартериол и прекапилляров соответственно на 18,1% и 35,9% ( $p < 0,01$ ). Диаметр капилляров был выше контроля на 29,4% ( $p < 0,01$ ), а среднее количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> брыжейки – выше интактной группы и контроля соответственно на 19,7% и 39,3% ( $p < 0,05$ ). При этом площадь, занимаемая капиллярами на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки, была выше показателя интактной группы в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, при введении животным с интоксикацией, индуцированной ТХМ, прессового масла семян амаранта с лечебной целью, при биомикроскопии не зафиксировано регистрируемых в контроле нарушений со стороны микроциркуляторного русла.

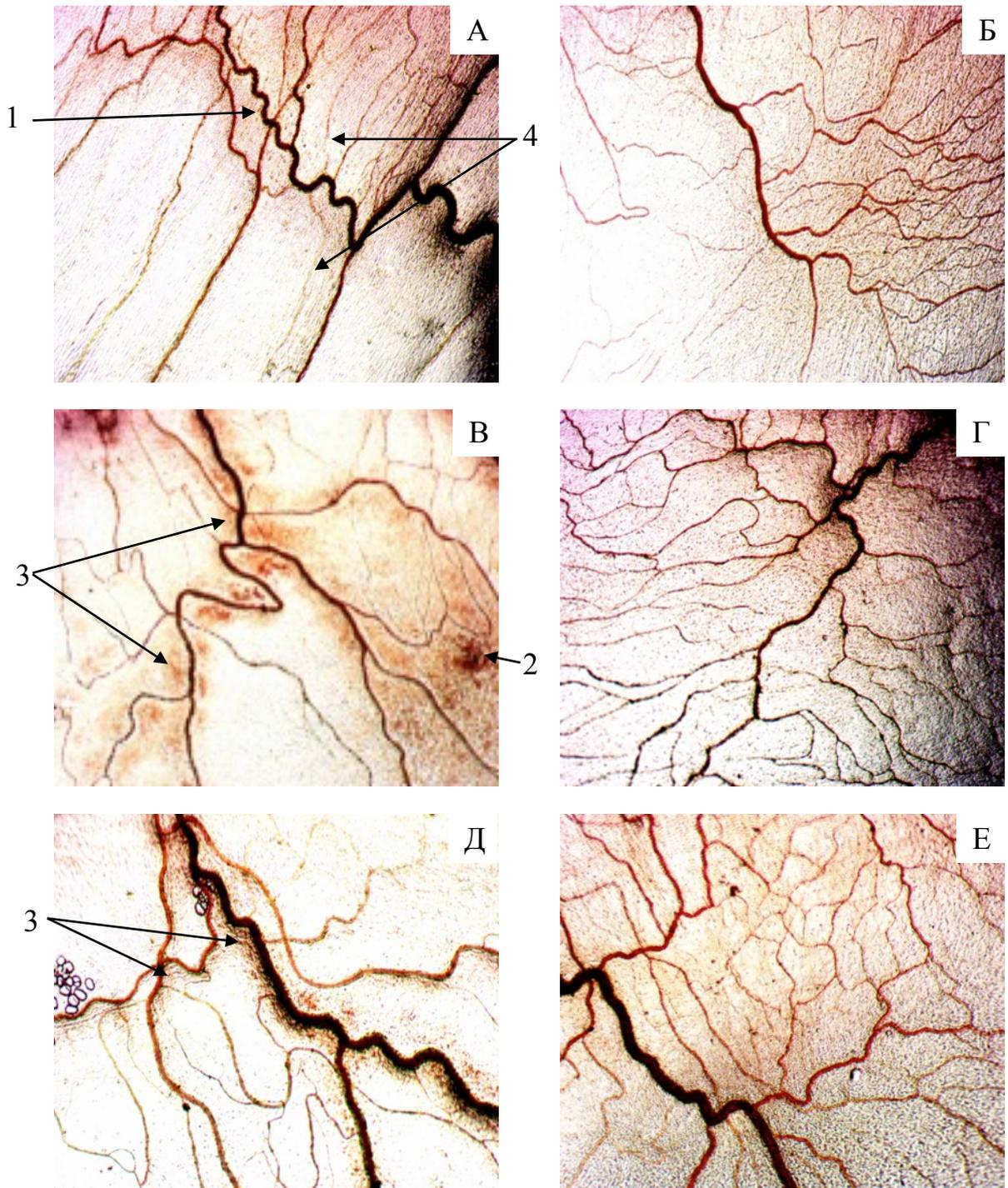


Рис. 4.12. Микроциркуляторное русло брыжейки тонкой кишки крыс при введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией тетрахлорметаном. Биомикроскопия, ув.×40.

А – препарат эссенциальных фосфолипидов, 7 сутки; Б – прессовое масло семян амаранта, 7 сутки; В – препарат эссенциальных фосфолипидов, 10 сутки; Г – прессовое масло семян амаранта, 10 сутки; Д – препарат эссенциальных фосфолипидов, 14 сутки; Е – прессовое масло семян амаранта, 14 сутки.

1 – увеличение извитости контуров микрососудов; 2 – кровоизлияния; 3 – диапедез форменных элементов крови; 4 – замедление тока крови (сладж-синдром); 5 – локальные зоны стаза

## Заключение

На модели интоксикации ТХМ доказана способность прессового масла семян амаранта, вводимого с профилактической и лечебной целью предотвращать гибель животных и уменьшать выраженность симптомов интоксикации, способствуя нормализации регистрируемых параметров общего клинического состояния к 3-м суткам наблюдения, при возвращении к норме в контроле – на 7 сутки исследования.

Использование теста «эвристические решения» позволило доказать, что применение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью предотвращает снижение психомоторной активности. Выявленные изменения вероятно обусловлены улучшением общего клинического состояния животных вследствие уменьшения повреждающего действия ТХМ на ЦНС, а также с улучшением антитоксической функции печени.

При токсическом повреждении печени, введение прессового масла семян амаранта тормозило процессы липопероксидации (концентрация ТБК-активных продуктов через 1 час после интоксикации на 25,4% ниже контроля), способствуя нормализации концентрации ТБК-активных продуктов на 3-и сутки наблюдения при введении с профилактической целью и на 7-е сутки при введении с лечебной целью, при отсутствии положительной динамики в контроле; предотвращало развитие синдрома цитолиза гепатоцитов в первые часы интоксикации (активность АлАТ и АсАТ ниже контроля соответственно на 27% и 34,2%) и уменьшало его выраженность через 24 часа после введения ТХМ, способствуя, в отличие от контроля, полной нормализации активности аминотрансфераз (активность АлАТ ниже контроля на 22,9%) и общего билирубина (концентрация ниже контроля на 39,8%) на 10-е сутки исследования при профилактическом введении и на 7-е сутки (активность АлАТ ниже контроля на 34,7%) и 10-е сутки (концентрация общего билирубина ниже контроля на 38,7%) при введении с лечебной целью. Уровень общего холестерина на протяжении всего периода исследования соответствовал показателю интактных животных, что согласуется со значительным

уменьшением степени и распространенности жировой дистрофии печени ( $0,83 \pm 0,41$  балла против  $2,83 \pm 0,75$  балла в контроле). Полученные данные подтверждают наличие выраженного гепатопротекторного действия прессового масла семян амаранта. Следует отметить, что по основным исследуемым показателям действие прессового масла семян амаранта превосходило эффективность препарата ЭФЛ.

Кроме того, на модели интоксикации ТХМ впервые выявлено положительное влияние прессового масла семян амаранта, вводимого с профилактической и лечебной целью на микроциркуляторные процессы в сосудах брыжейки тонкой кишки крыс. Доказана способность прессового масла семян амаранта уменьшать выраженность деструкции магистральных сосудов в брыжейке, о чем свидетельствовало уменьшение в 6 раз количества кровоизлияний, регистрируемых в «окошках» брыжейки животных контрольной группы. При биомикроскопии, в отличие от контроля и препарата сравнения, на протяжении всего периода наблюдения отмечено отсутствие деструктивных нарушений микрососудов, сопровождающихся диapedезом форменных элементов крови и кровоизлияниями. Начиная с 7-х суток эксперимента, наблюдалось отсутствие явлений внутрисосудистой агрегации и стазирования. Наряду с этим на фоне введения прессового масла семян амаранта с лечебной целью выявлено увеличение емкости микроциркуляторного русла в 1,3-1,4 раза ( $p < 0,05$ ) за счет увеличения количества капилляров на  $1 \text{ мм}^2$  брыжейки и диаметра венул.

## **ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕССОВОГО МАСЛА СЕМЯН АМАРАНТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ОСЛОЖНЕНИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗОНИАЗИДОМ**

Исследования выполнены на 132 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой  $205,0 \pm 9,2$  г, которые были разделены случайным образом на следующие группы: контрольная (36 голов), опытные группы (36 и 12 голов), различающиеся схемами введения прессового масла семян амаранта, группы препарата сравнения (36 и 12 голов). Период наблюдения – 14 суток. Животных выводили из эксперимента путем декапитации по 6 голов через 1 и 24 часа после интоксикации, а также на 3-и, 7-е, 10-е и 14-е сутки исследования.

Для создания модели интоксикации животным контрольной и опытных групп на протяжении 6-и суток в утренние часы до основного кормления в желудок вводили изониазид в виде 1% крахмальной слизи в дозе 542 мг/кг. Прессовое масло семян амаранта вводили животным опытных групп в желудок по 2-м схемам: с профилактической целью в дозе 600 мг/кг (содержание фосфолипидов 50 мг/кг) за 1 час до введения изониазида однократно на протяжении 6 суток; с лечебной целью через 24 часа после последнего введения изониазида в дозе 600 мг/кг в течение 3-х суток один раз в сутки в утренние часы до основного кормления. Препарат сравнения – Эссенциале Н (ЭФЛ) вводили в желудок в виде официального раствора в дозе 80 мг/кг по аналогичным схемам.

Через 1 и 24 часа после однократного введения животным изониазида, а также на 3-и сутки (до введения изониазида), 7-е, 10-е и 14-е сутки интоксикации после пищевой депривации осуществляли прижизненный осмотр животных, определяли массу тела, ректальную температуру, оценивали состояние выделительной и пищеварительной систем, и функциональную активность сердца по данным электрокардиограммы.

Критериями эффективности являлись: выживаемость, показатели общеклинического состояния (масса тела животных, ректальная температура, динамика потребления корма и воды, скорость оседания эритроцитов, ЧСС и показатели функциональной активности сердца по данным электрокардиограммы, эмоционально-поведенческая и двигательная активность животных в тестах «открытое поле» и «эвристические решения»); биохимические показатели цитолиза и холестаза: аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспартатаминотрансфераза (АсАТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), а также общий билирубин, общий холестерин, концентрация ТБК-активных продуктов, протромбиновое время, патологоанатомическая оценка внутренних органов.

### **5.1. Влияние прессового масла семян амаранта на клиническое состояние животных при интоксикации изониазидом**

В результате проведенного исследования установлено, что в контрольной группе через 50 минут после однократного введения в желудок изониазида у 100% животных зафиксированы клонико-тонические судороги различной продолжительности (от 40 до 150 минут) с последующей остановкой дыхания и гибелью крыс в 33% случаев в течение 3-х часов. При визуальном осмотре погибших животных отмечено выделение пенистого содержимого из полости рта, окрашенного в коричневый цвет и наличие в 33 % случаев кровоизлияний в глазу. Трупное окоченение не зафиксировано. При вскрытии сердце животных было переполнено кровью, предсердие нависало над желудочками, легкие синюшно-багрового цвета. Печень темно-коричневого цвета, почки полнокровные, надпочечники увеличены в размере. В брыжейке тонкого кишечника сосуды выражены слабо, в «окошках» брыжейки и поджелудочной железе обнаружены кровоизлияния.

Дальнейшее моделирование интоксикации у выживших животных на протяжении 10-и суток исследования сопровождалось гиподинамией, заторможенностью, взъерошенностью шерсти, выраженным снижением потребления корма и увеличением потребления воды.

Так, на 1-е сутки исследования после однократного введения изониазида потребление корма уменьшилось на 57,7% ( $9,3 \pm 0,7$  г/гол./сутки против  $22,0 \pm 0,9$  г/гол./сутки при  $p < 0,01$ ), потребление воды увеличилось на 76,9% ( $28,3 \pm 1,0$  мл/гол./сутки против  $16,0 \pm 1,1$  мл/гол./сутки при  $p < 0,01$ ), в отдельных случаях наблюдалось снижение массы тела (см. Приложение 2, табл. 4). На 3-и сутки исследования доля потребляемого корма и воды уменьшились относительно исходного соответственно на 71,4% ( $6,3 \pm 1,0$  г/гол./сутки против  $22,0 \pm 0,9$  г/гол./сутки при  $p < 0,01$ ) и 32,5% ( $10,8 \pm 2,0$  мл/гол./сутки против  $16,0 \pm 1,1$  мл/гол./сутки при  $p < 0,05$ ), а на 7-е сутки соответственно на 91,0% ( $2,0 \pm 1,1$  г/гол./сутки против  $22,0 \pm 0,9$  г/гол./сутки при  $p < 0,01$ ) и 65,0% ( $7,5 \pm 0,9$  мл/гол./сутки против  $16,0 \pm 1,1$  мл/гол./сутки при  $p < 0,01$ ) с сохранением показателей на 10-е сутки наблюдения (см. Приложение 1, табл. 2). На 14-е сутки доля потребляемого корма составила 60,4% от исходного ( $13,3 \pm 0,9$  г/гол./сутки против  $22,0 \pm 0,9$  г/гол./сутки при  $p < 0,05$ ), потребление воды увеличилось в 1,6 раза ( $25,0 \pm 2,5$  мл/гол./сутки против  $16,0 \pm 1,1$  мл/гол./сутки при  $p < 0,05$ ).

При визуальном осмотре крыс контрольной группы на 3-и и 7-е сутки исследования живот животных значительно увеличен в размерах и вздут. На 7-е сутки исследования животные неподвижны, шерстяной покров неопрятный, сильно взъерошен, дефекации отсутствовали.

Через 24 часа после введения изониазида отмечено снижение относительно исходных показателей ректальной температуры тела на 3,4% ( $36,9 \pm 0,65$  °C против  $38,2$  °C при  $p < 0,05$ ). Достоверное снижение ректальной температуры наблюдалось на протяжении всего периода наблюдения (см. Приложение 3, табл. 6).

При исследовании влияния интоксикации, индуцированной изониазидом, на функциональную активность сердца по данным электрограммы установлено, что через 1 час после однократного введения изониазида в контрольной группе отмечено достоверное уменьшение длительности интервала QT ( $0,050 \pm 0,006$  сек. против  $0,059 \pm 0,003$  сек. при  $p < 0,01$ ).

В опытных группах гибель животных не зафиксирована, однако на фоне профилактического введения ЭФЛ в 16% случаев через 1 час после однократного введения изониазида наблюдались слабовыраженные клонико-тонические судороги продолжительностью 5-6 минут.

Состояние животных в опытных группах в отличие от контрольной на протяжении всего периода наблюдения характеризовалось менее выраженными симптомами интоксикации. Профилактическое введение ЭФЛ сопровождалось снижением потребления корма на 1-е сутки исследования на 38,2% ( $13,6 \pm 0,5$  г/гол./сутки против  $22,0 \pm 0,5$  г/гол./сутки при  $p < 0,05$ ) и увеличением потребления воды на 77,2% ( $28,0 \pm 0,7$  мл/гол./сутки против  $15,8 \pm 1,0$  мл/гол./сутки при  $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным. На 3-и и 7-е сутки исследования потребление корма было выше контроля соответственно в 2,9 ( $18,6 \pm 0,7$  г/гол./сутки против  $6,3 \pm 1,0$  г/гол./сутки в контроле при  $p < 0,05$ ) и 7,1 раза ( $14,3 \pm 0,9$  г/гол./сутки против  $2,0 \pm 1,1$  г/гол./сутки в контроле при  $p < 0,01$ ), на 10-е сутки – достигало исходного уровня с сохранением показателей на 14-е сутки наблюдения (см. Приложение 1, табл. 2). Потребление воды на 7-е и 10-е сутки было выше интакта ( $p < 0,05$ ) соответственно в 1,5 и 2,3 раза и выше контроля соответственно в 3,1 раза ( $p < 0,05$ ) и 4,9 раза ( $p < 0,01$ ). Начиная с 1-х суток наблюдения, отмечено увеличение дефекаций, на 3-и сутки исследования болюсы светло-коричневого цвета, жидкой консистенции. При визуальном осмотре крыс на 3-и сутки животные активны, живот животных в отличие от контрольной группы увеличен в размерах и вздут незначительно. На 7-е сутки наблюдения животные малоподвижны, живот в меньшей степени по сравнению с контролем увеличен в размерах и вздут.

Через 1 час после введения изониазида отмечено снижение относительно исходных показателей ректальной температуры тела на 7,6% ( $35,3 \pm 1,1$  °C против  $38,2 \pm 0,2$  °C при  $p < 0,05$ ), которая с колебаниями примерно в этих пределах наблюдалась на протяжении всего периода исследования (см. Приложение 3, табл. 6).

Профилактическое введение прессового масла семян амаранта сопровождалось достоверным ( $p < 0,05$ ) относительно контроля увеличением потребления корма начиная с 1-х суток исследования более чем на 90% (рис. 5.1). На 7-е сутки наблюдения доля потребляемого корма достигла исходного уровня. Потребление воды увеличилось, начиная с 1-х суток исследования (см. Приложение 3, табл. 6).

При визуальном осмотре крыс в отличие от контрольной группы на 3-и сутки наблюдения животные были активны, живот незначительно увеличен в размерах и вздут у 1/3 животных; на 7-е сутки живот вздут и незначительно увеличен в размерах. Ректальная температура (см. Приложение 3, табл. 6) в отличие от контрольной группы, в пределах известных значений видововозрастной нормы для крыс [115].

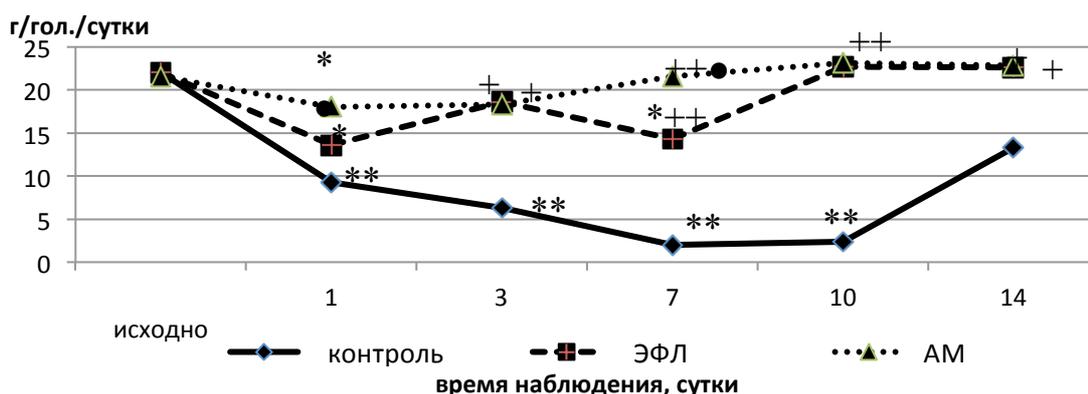


Рис. 5.1. Динамика изменения потребления корма животными при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации изониазидом

Примечание к рисунку: t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  — достоверность различий при сравнении с исходным; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  — достоверность различий при сравнении с контролем; • -  $p < 0,05$  — достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

При анализе данных электрокардиограмм на фоне введения исследуемых веществ с профилактической целью, в отличие от контроля, через 1 час после интоксикации длительность интервала QT соответствовала показателям интактных животных (см. Приложение 4, табл. 8).

При применении исследуемых веществ с лечебной целью на 10-е сутки исследования доля потребляемого корма достигла исходного уровня с сохранением показателей на 14-е сутки, тогда как в контрольной группе, возвращение к исходной величине данного показателя не зафиксировано на протяжении 14 суток эксперимента (см. Приложение 3, табл. 6). Введение прессового масла семян амаранта с лечебной целью сопровождалось снижением относительно исходных показателей ректальной температуры на 10 сутки исследования на 3,1% ( $36,9 \pm 0,9$  °C против  $38,1 \pm 0,6$  °C при  $p < 0,01$ ).

Таким образом, однократное введение изониазида в первые часы интоксикации вызывало гибель животных и повышение нервно-мышечной возбудимости. Многократное введение изониазида позволило добиться у выживших животных более выраженной картины интоксикации, сопровождающейся значительным ухудшением клинического состояния, снижением ректальной температуры, нарушением процессов пищеварения (вздутие живота, снижение потребления корма на 57,7%-91,0% при  $p < 0,01$ ; в отдельных случаях – достоверным снижением массы тела) и изменениями функциональной активности сердца (уменьшение по данным ЭКГ длительности интервала QT при  $p < 0,05$ ).

Применение прессового масла семян амаранта с целью профилактики осложнений, индуцированных изониазидом, в отличие от контроля на протяжении всего периода наблюдения характеризовалось уменьшением выраженности симптомов интоксикации, отсутствием судорог и нарушений функциональной активности сердца, улучшением общего клинического состояния и отсутствием гибели животных. Следует отметить, что по основным исследуемым показателям действие прессового масла семян амаранта превосходило действие препарата сравнения.

## 1.2. Влияние прессового масла семян амаранта на эмоционально-поведенческие и двигательные реакции животных при интоксикации изониазидом

### Тест «открытое поле»

Исследование выполнено на 24 белых аутбредных крысах самцах массой  $210,0 \pm 8,10$  г, которые были разделены случайным образом на 4 групп по 6 в каждой – интактная, контрольная, 2 опытные группы.

Тестирование животных было выполнено до интоксикации (предварительное тестирование, исходные данные) и на 7-е сутки интоксикации.

Повторное тестирование выживших животных контрольной группы на 7-е сутки интоксикации (табл. 5.1) выявлено изменение всех видов поведенческой активности животных контрольной и опытных групп как по сравнению с интактной группой, так и с данными предварительного тестирования, однако полученные данные не являлись статистически значимыми ввиду большой variability результатов.

Таблица 5.1

Влияние введения прессового масла семян амаранта с профилактической целью на поведенческую активность животных при интоксикации изониазидом

Группа животных	ГДА	ВДА	Норковый рефлекс	Груминг	Дефекации
<i>Исходные данные (до моделирования гепатита)</i>					
Интактная	$11,79 \pm 7,49$	$2,43 \pm 2,88$	$6,00 \pm 2,24$	$1,57 \pm 0,53$	$2,43 \pm 1,90$
Контроль	$10,75 \pm 9,85$	$1,17 \pm 1,47$	$5,67 \pm 4,27$	$1,67 \pm 1,37$	$3,00 \pm 2,45$
АМ	$9,86 \pm 8,80$	$3,43 \pm 3,05$	$6,43 \pm 4,72$	$2,57 \pm 1,72$	$2,57 \pm 2,64$
ЭФЛ	$10,43 \pm 5,69$	$2,29 \pm 0,49$	$9,71 \pm 3,04$	$4,14 \pm 2,27$	$0,43 \pm 1,13$
<i>7 сутки интоксикации</i>					
Интактная	$10,93 \pm 9,81$	$2,86 \pm 2,91$	$3,71 \pm 2,98$	$1,57 \pm 1,51$	$2,00 \pm 1,41$
Контроль	$7,58 \pm 6,42$	$0,50 \pm 1,22$	$2,83 \pm 0,75$	$0,33 \pm 0,52$	0
АМ	$12,07 \pm 7,13$	$0,71 \pm 1,89$	$5,71 \pm 2,69^{++}$	$0,29 \pm 0,49$	$2,57 \pm 3,05$
ЭФЛ	$15,07 \pm 5,48^{++}$	0	$7,00 \pm 2,52^{**+}$	$0,57 \pm 0,53$	$2,00 \pm 2,08$

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с исходным; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ГДА – горизонтальная двигательная активность; ВДА – вертикальная двигательная активность

Таким образом, при помощи общепринятого теста «открытое поле» не удалось выявить статистически значимых различий между показателями интактной, контрольной и опытных групп, в связи с чем, была предпринята оценка изменений эмоционально-поведенческих и двигательных реакций при помощи дополнительной методики – теста «эвристические решения», являющегося технически простым, низкочувствительным, и имеющего по данным предварительного тестирования высокий уровень воспроизводимости.

### **Тест «эвристические решения»**

Исследование выполнено на 35 белых аутбредных крысах самцах массой  $210,0 \pm 8,10$  г, которые были разделены случайным образом на 5 групп по 7 в каждой – контрольная; 2 опытные группы, различающиеся дозами и схемой введения масла семян амаранта и 2 группы препарата сравнения.

Тестирование животных было выполнено до интоксикации (предварительное тестирование, исходные данные), через 24 часа после однократного введения изониазида, а также на 3-и, 7-е, 10-е и 14-е сутки интоксикации.

Повторное тестирование выживших животных контрольной группы через 24 часа после однократного и на 3-и сутки после двукратного введения изониазида не сопровождалось статистически значимыми изменениями времени нахождения решения и времени выполнения решения задачи (при ВРЗ – 100%).

При введении изониазида на протяжении 6 суток, на 7-е сутки наблюдения в 28,6% случаев животными не был найден способ избегания экстремальной ситуации. Среди крыс, нашедших решение задачи, в 14,3% случаев время её выполнения превышено отведенный для наблюдения период (120 сек.), что вероятно обусловлено повреждающим действием изониазида на периферическую иннервацию и согласуется с данными литературы [113]. Среди выполнивших задание животных выявлено увеличение относительно исходных данных времени нахождения решения и времени выполнения

решения задачи соответственно в 2,3 раза ( $p < 0,01$ ) и 5,4 раза ( $p < 0,05$ ). При этом общее время выполнения задания (ВНР+ВВР) составляло в среднем  $30,17 \pm 5,65$  сек., что в 3 раза превышало показатель первичного тестирования здоровых животных ( $p < 0,05$ ).

На 10-е сутки исследования при 100-процентном выполнении задания зафиксировано увеличение относительно данных первичного тестирования времени выполнения задания в 4,4 раза ( $p < 0,05$ ). В 28,6% в качестве средства спасения животными была выбрана веревка. Общее время выполнения задания (ВНР+ВВР) составляло в среднем  $21,0 \pm 6,49$  сек., что в 2 раза выше показателя первичного тестирования здоровых животных ( $p < 0,05$ ).

На 14-е сутки исследования в 16,6% случаев за отведенное для наблюдения время животными не был найден способ избегания экстремальной ситуации. Среди выполнивших задание животных наблюдалось сокращение по сравнению с 10-ми сутками времени нахождения решения (в 2,2 раза при  $p < 0,01$ ) и времени выполнения решения (в 4 раза при  $p < 0,05$ ).

Через 24 часа после однократного введения изониазида в опытной группе животных, получавших с профилактической целью ЭФЛ, результаты исследования достоверно не отличались от контроля.

На 3-и сутки исследования при 100-процентном выполнении задачи (ВРЗ-100%) наблюдалось сокращение относительно исходных данных времени нахождения решения в 3,9 раза ( $p < 0,05$ ). Указанные изменения выражались в уменьшении значений расчетных индексов: ИПД=0,71 и ИДД=0,69.

На 7-е сутки исследования все животные успешно находили способ спасения, однако в 28,6% случаев крысы не могли выполнить задачу (ВРЗ-71,4%), а показатели выполнивших задачу животных превышали ( $p < 0,05$ ) результаты предварительного тестирования в 3 раза (табл. 5.2).

На 10-е сутки исследования (при ВРЗ-100%) животные принимали решение по выполнению задачи спасения в 2,1 раза ( $p < 0,01$ ) быстрее по сравнению с временем предварительного тестирования. Кроме того, время окончательного выполнения решения задачи крысами было в 2,5 раза ( $p < 0,05$ )

меньше относительно контроля, однако выше исходного в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,61 и ИДД=0,51. На 14-е сутки исследования все животные так же выполняли задачу по спасению в 100% наблюдений.

Введение с профилактической целью прессового масла семян амаранта, начиная с 1-х суток интоксикации, сопровождалось снижением в 3 раза ( $p < 0,01$ ) (при ВРЗ-100%) по отношению к результатам предварительного тестирования здоровых животных времени нахождения решения задачи по спасению. Кроме того, общее время выполнения задачи по спасению было в 2 раза ( $p < 0,01$ ) ниже показателя предварительного тестирования (табл. 5.2).

На 7-е сутки исследования наблюдалось снижение количества животных, успешно выполнивших задачу, однако вероятность её решения составила 85,7%, что выше показателей контроля и препарата сравнения (табл. 5.2). Среди выполнивших задание животных наблюдалось сокращение относительно контроля времени нахождения решения и времени выполнения решения задачи соответственно в 1,7 раза и 1,9 раза ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,99 и ИДД=0,59.

Таблица 5.2

Влияние введения прессового масла семян амаранта на изменение эмоционально-поведенческих и двигательных реакций крыс при интоксикации изониазидом

Группа животных	Показатели							
	ВНР, сек.	ВВР, сек.	ВНР+ВВР, сек.	ВРЗ, %	Средство		ИПД	ИДД
					Р	В		
Исходно	7,43±1,63	2,38±0,22	9,20±2,42	100	100	0	–	–
<i>профилактическая схема введения</i>								
<i>1 сутки исследования</i>								
Контроль	4,20±1,56	3,02±1,28	7,22±2,46	100	100	0	–	–
ЭФЛ	4,18±1,83	2,38±0,89	6,56±2,72	100	100	0	0,99	0,88
АМ	2,47±1,08**	1,98±0,54	4,45±0,54**	100	43	57	0,85	0,80
<i>3 сутки исследования</i>								
Контроль	5,59±2,85	4,36±2,19	9,95±5,04	100	71,4	28,6	–	–
ЭФЛ	1,89±1,32*	2,25±0,54	4,14±1,86**	100	100	0	0,71	0,69
АМ	2,0±1,40**	1,92±0,66	3,92±1,21**	100	85,7	14,3	0,72	0,64
<i>7 сутки исследования</i>								
Контроль	17,20±3,40**	12,97±2,25*	30,17±5,65*	57	66,6	33,3	–	–

Продолжение таблицы 5.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
ЭФЛ	22,60±3,4**	11,4±2,59*	34,0±5,99*	71,4	100	0	1,01	0,89
АМ	10,30±2,27++•	6,75±2,36***++	17,05±4,0*++••	85,7	28,6	71,4	0,99	0,59
<i>10 сутки исследования</i>								
Контроль	10,40±4,35	10,60±2,14*	21,0±6,49*	100	71,4	28,6	–	–
<i>профилактическая схема введения</i>								
ЭФЛ	3,50±1,25**	4,20±0,41*+	7,70±1,66++	100	100	0	0,61	0,51
АМ	2,32±0,52*++	3,40±2,07++	5,72±2,59++	100	85,7	14,3	0,54	0,44
<i>лечебная схема введения</i>								
ЭФЛ	2,45±0,77*++	4,03±2,40+	6,48±2,86++	100	100	100	0	0,55
АМ	1,65±0,91*++	2,10±1,28++	3,76±1,91***++	100	100	100	0	0,50
<i>14 сутки исследования</i>								
Контроль	4,72±0,78	2,64±0,55	7,36±1,33	83,4	100	0	–	–
<i>профилактическая схема введения</i>								
ЭФЛ	3,13±0,94**	2,26±1,17	5,39±2,11	100	100	0	0,80	0,85
АМ	2,38±0,89*++	2,25±0,89	4,63±1,77**	100	85,7	14,3	0,74	0,85
<i>лечебная схема введения</i>								
ЭФЛ	3,0±0,69**	2,40±0,36	5,40±1,05**	100	100	100	0	0,79
АМ	1,46±0,72*	1,70±0,44	3,16±1,16*++	100	100	85,7	14,3	0,67

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с исходным; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; • -  $p < 0,05$ ; •• -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения; ВНР – время нахождения решения задачи; ВВР – время выполнения решения задачи; ВРЗ – вероятность решения задачи, %; Р – рейка; В – веревка; ИПД – индекс психоэмоционального воздействия; ИДД – индекс моторно-двигательного воздействия

На 10-е сутки исследования общее время выполнения задачи по спасению было меньше показателя контроля в 3,7 раза ( $p < 0,01$ ), что свидетельствует о нормализации психомоторной и двигательной активности и выражалось в значительном уменьшении значений индекса психомоторного воздействия (составил 0,54) и индекса моторно-двигательного воздействия (составил 0,44). На 14-е сутки исследования общее время выполнения задачи по спасению, также, как и на 10-е сутки наблюдения было достоверно ниже контроля в 1,6 раза и в среднем составляло  $4,63 \pm 1,77$  сек. (при ВРЗ-100%). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,74 и ИДД=0,85.

При применении с лечебной целью ЭФЛ и масла семян амаранта у животных с интоксикацией, индуцированной изониазидом, на 10-е сутки

исследования 100% животных успешно выполняли задачу (ВРЗ – 100%). Введение ЭФЛ сопровождалось сокращением времени принятия решения и времени выполнения решения относительно контроля соответственно в 4,2 раза ( $p < 0,01$ ) и 2,6 раза ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось значительным уменьшением значений Индекса психомоторного воздействия (составил 0,55) и Индекса моторно-двигательного воздействия (составил 0,49).

При применении прессового масла семян амаранта наблюдалось сокращение относительно контроля времени принятия решения и времени выполнения решения соответственно в 6,3 раза и 5,0 раз ( $p < 0,01$ ), а общее время выполнения задачи в среднем составляло  $3,76 \pm 1,91$  сек., что в 5,6 раза ниже показателя контроля ( $p < 0,01$ ). Расчетные значения индексов составили: ИПД=0,50 и ИДД=0,34.

На 14-е сутки наблюдения на фоне применения исследуемых веществ с лечебной целью общее время выполнения задания животными при применении ЭФЛ (ВНР+ВВР) в среднем составляло  $5,40 \pm 1,05$  сек. ( $p < 0,01$ ), а при применении прессового масла семян амаранта было достоверно ниже контроля в 2,3 раза ( $p < 0,01$ ) и в среднем составляло  $3,16 \pm 1,16$  сек. (табл. 5.2).

Таким образом, с использованием эвристической модели поиска животными решения задачи по спасению из эмоционально-физической экстремальной ситуации на фоне интоксикации, индуцированной введением в течение 6 дней изониазида, начиная с 7-х суток наблюдения было выявлено уменьшение на 16,6-43% общего числа крыс, способных к решению задачи, и повышение затрат времени на нахождение (в 2,3 раза при  $p < 0,01$ ) и времени на выполнение (в 4,4-5,4 раза при  $p < 0,05$ ) решения задачи с нормализацией показателей к 14-м суткам наблюдения. Выявленные изменения вероятно свидетельствуют о снижении психомоторной активности и нарушении функции скелетных мышц вследствие повреждающего действия изониазида на ЦНС и периферическую иннервацию.

Введение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью на фоне интоксикации изониазидом, в отличие от животных

контрольной группы, уменьшало выраженность патологических изменений со стороны ЦНС и сократительной активности поперечно-полосатой мускулатуры, что вероятно обусловлено улучшением общего клинического состояния животных вследствие предотвращения повреждающего действия изониазида на ЦНС, а также с улучшением антитоксической функции печени. Следует отметить, что по основным регистрируемым показателям действие прессового масла семян амаранта было сопоставимо, а в отдельных случаях превышало действие препарата сравнения.

### 5.3. Влияние прессового масла семян амаранта на биохимические маркеры функций печени при интоксикации изониазидом

Биохимическое исследование сыворотки крови выживших животных контрольной группы через 1 час после однократного введения изониазида выявило 2-кратное повышение активности АлАТ ( $p < 0,05$ ) и снижение активности ЩФ на 54,3% ( $p < 0,05$ ) относительно показателей животных интактной группы. Через 24 часа в данном исследовании наблюдалось уменьшение активности АлАТ на 57,7% ( $p < 0,05$ ) и АсАТ на 56,5% ( $p < 0,05$ ), которая прогрессивно снижалась в течение 10-и суток наблюдения (табл. 5.3). Выявлено увеличение содержания общего холестерина в 2 раза ( $p < 0,01$ ). СОЭ составляла  $4,25 \pm 1,26$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,0 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ). Кроме того, обнаружено увеличение на 38,3% ( $p < 0,05$ ) показателя протромбинового времени.

Таблица 5.3

Изменение биохимических показателей сыворотки крови при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации изониазидом

Группа животных	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л	ЩФ, Е/л	Билирубин общий, мкмоль/л	Холестерин общий, ммоль/л
Интактная	$55,60 \pm 7,75$	$144,91 \pm 21,67$	$472,25 \pm 41,29$	$2,56 \pm 0,8$	$1,59 \pm 0,13$
<i>1 час после интоксикации</i>					
Контроль	$108,57 \pm 11,6^*$	$163,46 \pm 13,03$	$215,83 \pm 30,07^*$	$2,32 \pm 0,28$	$1,64 \pm 0,62$
ЭФЛ	$98,94 \pm 7,44^*$	$174,52 \pm 12,8^*$	$238,12 \pm 22,27^*$	$2,67 \pm 2,36$	$1,62 \pm 0,12$
АМ	$72,64 \pm 2,73^{*+}\bullet$	$207,98 \pm 21,5^{*+}$	$366,20 \pm 47,52^{*+}\bullet$	$1,79 \pm 0,1+$	$1,80 \pm 0,15$

<i>24 часа после интоксикации</i>					
Контроль	23,49±6,92*	81,92±25,84*	428,44±60,74	0,98±0,35	3,13±0,80*
ЭФЛ	40,90±4,23*+	161,10±17,6+	523,20±135,02	2,02±0,23+	1,82±0,36++
АМ	49,91±4,92+	167,24±7,80++	374,32±73,92	1,27±1,30	2,03±0,24++
<i>3 сутки исследования</i>					
Контроль	21,72±6,68*	65,80±6,92*	386,83±48,9**	1,87±0,26	2,72±0,38*
ЭФЛ	28,19±4,09*	95,66±12,32*+	322,32±77,18**	1,80±0,91	2,65±0,53**
АМ	31,02±10,53*	134,66±28,62+●	352,20±66,96**	2,74±0,18+●	2,12±0,21*+
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	16,55±6,55*	50,90±7,73*	165,34±35,25*	2,48±0,33	2,24±0,10*
ЭФЛ	22,25±2,07*	139,50±22,3+	115,10±84,25*	2,43±1,30	2,56±0,45**
АМ	20,54±3,28*	90,41±19,50*+	181,96±8,85*	2,30±1,11	2,04±0,17*
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	18,52±5,75*	71,68±28,66*	140,6±61,53*	1,70±0,004**	1,45±0,10
ЭФЛ	25,04±8,62*	116,06±17,6+	202,14±51,24*	1,34±0,69	1,49±0,33
АМ	28,78±5,63**	147,84±23,7+	267,09±53,92*+	1,98±1,04	1,41±0,07**
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	43,04±3,91*	202,36±39,3**	181,86±43,37*	1,82±0,32	1,86±0,26
ЭФЛ	46,51±8,55	127,63±8,58+	229,21±41,98*	2,55±0,1+	1,92±0,35
АМ	53,71±1,58++	147,16±26,57++	274,17±33,99*	2,50±0,35+	1,64±0,15

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактом; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Начиная с 1-х суток исследования и на протяжении всего периода наблюдения, было выявлено увеличение ( $p < 0,05$ ) в сыворотке крови концентрации ТБК-активных продуктов на 13%-20% (табл. 5.4).

На 3-и сутки исследования наблюдалось уменьшение активности АЛАТ и АсАТ относительно интакта соответственно на 60,9% и 54,6% ( $p < 0,05$ ), активности ЩФ – на 18,1% ( $p < 0,05$ ). Концентрация общего холестерина в сыворотке крови животных сохранялась высокой, и разница с интактом составляла 71,1% ( $p < 0,05$ ). СОЭ  $3,25 \pm 0,21$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ).

Шестикратное пероральное введение крысам изониазида сопровождалось на 7-е сутки исследования снижением в сыворотке крови активности АЛАТ, АсАТ и ЩФ соответственно на 70,2%, 64,9% и 64,9% ( $p < 0,05$ ) и увеличением

концентрации общего холестерина на 40,9% ( $p < 0,05$ ). Кроме того, наблюдалось увеличение на 107,7% ( $p < 0,01$ ) показателя протромбинового времени. В данном наблюдении СОЭ составляла  $5,0 \pm 0,21$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ).

На 10-е сутки наблюдения сохранялась низкая активность аминотрансфераз, а также снижение уровня общего билирубина на 33,6% ( $p < 0,05$ ). Однако отмечалась нормализация уровня общего холестерина в сыворотке крови. Наряду с этим СОЭ в среднем составляла  $6,0 \pm 0,29$  мм/ч при показателе интакта  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,01$ ).

На 14-е сутки исследования в сыворотке крови наблюдалось повышение активности АЛТ на 132,4% ( $p < 0,05$ ) по отношению к 10-м суткам, однако её уровень был ниже интакта на 22,6% ( $p < 0,05$ ). При этом активность АсАТ превышала показателя интактной группы на 39,6% ( $p < 0,01$ ). Уровень активности ЩФ был ниже интактной группы на 61,5% ( $p < 0,05$ ). Отмечено незначительное повышение на 9,3% ( $p < 0,05$ ) концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови. Протромбиновое время было выше показателя интактной группы на 57,5% ( $p < 0,05$ ).

Анализ результатов исследования в контрольной группе животных показал, что моделирование интоксикации, индуцированной изониазидом, сопровождалось развитием тяжелого лекарственно-индуцированного поражения печени, о чем свидетельствовало 2-кратное ( $p < 0,05$ ) повышение активности АЛТ в течение первых часов наблюдения с последующим прогрессивным снижением на протяжении 10-и суток, что наряду с увеличением на протяжении 7-ми суток наблюдения содержания общего холестерина в 1,4-2 раза ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ) свидетельствовало о нарушении липидного обмена и наличии жировой дистрофии печени. Кроме того, на фоне интоксикации наблюдалось усиление процессов липопероксидации, о чем свидетельствовало увеличение в сыворотке крови ТБК-активных продуктов на 13-20% (при  $p < 0,05$ ). Так же следует отметить, что на протяжении всего периода наблюдения введение изониазида вызывало увеличение в 1,4-2,1 раза

( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ) протромбинового времени, которое к 14-м суткам превышало показатель интакта в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о развитии печеночно-клеточной недостаточности.

Через 1 час после однократного введения изониазида в опытной группе животных, получавших с профилактической целью ЭФЛ, наблюдалось увеличение относительно интакта ( $p < 0,05$ ) активности АлАТ на 77,9% и АсАТ на 20,4% и снижение активности ЩФ – на 49,6% (табл. 5.3). СОЭ составляла  $3,17 \pm 0,29$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,0 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ). Через 24 часа по отношению к контрольной группе наблюдали: увеличение в сыворотке крови активности АлАТ и АсАТ соответственно в 1,7 и 1,96 раза ( $p < 0,05$ ), уменьшение содержания общего холестерина на 41,8% ( $p < 0,01$ ) и протромбинового времени на 12% ( $p < 0,05$ ). СОЭ при этом составляла  $3,17 \pm 0,29$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,0 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,05$ ). Выявленные изменения концентрации ТБК-активных продуктов интактной и опытной групп являлись статистически не значимыми (табл. 5.4).

Таблица 5.4

Динамика изменения концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, нмоль/л

Время наблюдения	Группа животных		
	Контроль	ЭФЛ	АМ
Интактная группа	$19,73 \pm 0,73$		
1 час после интоксикации	$18,96 \pm 1,02$	$18,92 \pm 2,29$	$18,96 \pm 0,64^*$
24 часа после интоксикации	$22,38 \pm 1,55^*$	$20,23 \pm 2,19$	$18,96 \pm 0,64^*$
3 сутки исследования	$22,38 \pm 1,55^*$	$20,70 \pm 3,93^{*+}$	$19,70 \pm 1,1$
7 сутки исследования	$23,64 \pm 1,95^*$	$20,04 \pm 0,71^+$	$19,17 \pm 0,09^+$
10 сутки исследования	$19,58 \pm 3,65$	$19,74 \pm 0,51$	$19,20 \pm 0,85^+$
14 сутки исследования	$21,56 \pm 1,90^*$	$19,74 \pm 0,97$	$19,95 \pm 1,68^+$

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

На 3-и сутки исследования на фоне профилактического введения ЭФЛ относительно интакта наблюдалось уменьшение активности АлАТ на 49,3% ( $p < 0,05$ ), АсАТ 33,9% ( $p < 0,05$ ), ЩФ на 31,7% ( $p < 0,01$ ) и увеличение

концентрации общего холестерина в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ). СОЭ составляла  $2,75 \pm 0,29$  мм/ч при показателе в интактной группе  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч ( $p < 0,01$ ). Концентрация ТБК-активных продуктов была ниже контроля на 7,5% ( $p < 0,05$ ).

На 7-е сутки в отличие от группы контроля, активность АсАТ и концентрация ТБК-активных продуктов восстанавливались практически до нормы (табл. 5.3, 5.4), а протромбиновое время и СОЭ, были ниже показателей контроля соответственно на 34,9% и на 44% ( $p < 0,05$ ). На 10-е сутки наблюдения отмечено возвращение к норме уровня общего холестерина (табл. 5.3).

На 14-е сутки исследования, в отличие от группы контроля наблюдалась нормализация активности АлАТ (табл. 5.3). Активность ЩФ была достоверно ниже интакта на 51,5% ( $p < 0,05$ ). СОЭ соответствовала показателям интакта (табл. 5.5). Протромбиновое время было ниже контроля на 19,1% ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, введение ЭФЛ с профилактической целью при лекарственно-индуцированном поражении печени, вызванном изониазидом, сопровождалось торможением процессов липопероксидации, уменьшением относительно контроля протромбинового времени на 19-35% ( $p < 0,05$ ) и сокращением периода нормализации основных биохимических показателей: активность АсАТ нормализовалась к 10-м суткам, АлАТ – к 14-м суткам наблюдения, тогда как в контрольной группе возвращение к исходной величине данных показателей не зафиксировано на протяжении 14 суток эксперимента.

В опытной группе животных, получавших с профилактической целью пресовое масло семян амаранта, через 1 час после однократного введения изониазида выявлено снижение относительно показателей контроля и препарата сравнения активности АлАТ соответственно на 33,1% и на 26,6% ( $p < 0,05$ ). Тем не менее, при этом наблюдалось краткосрочное повышение относительно показателя интакта и контроля активности АсАТ соответственно на 43,5% и 27,2% ( $p < 0,05$ ) с последующей нормализацией в течение 1-х суток. Активность ЩФ в сыворотке крови была выше контроля и препарата сравнения соответственно на 69,7% и на 53,8% ( $p < 0,05$ ), однако ниже показателя в

интактной группе на 22,2% ( $p < 0,05$ ). Через 24 часа выявленные различия активности аминотрансфераз и ЩФ интактной и опытной групп были статистически не значимы (табл. 5.4), содержание общего холестерина на 35,1% ( $p < 0,05$ ) ниже показателя контроля. Кроме того, отмечено незначительное относительно интактной группы снижение на 3,9% ( $p < 0,05$ ) концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови с последующей нормализацией к 3-м суткам наблюдения. Показатель протромбинового времени был выше интакта на 27,5% ( $p < 0,05$ ) и ниже времени контроля на 7,8% ( $p < 0,05$ ). СОЭ на протяжении всего периода наблюдения была ниже контроля и препарата сравнения и соответствовала показателю интактных животных (табл. 5.5).

Таблица 5.5

Динамика изменения СОЭ при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, мм/ч

Время наблюдения	Группа животных		
	Контроль	ЭФЛ	АМ
Интактная группа	2,00±0,21		
1 час после интоксикации	2,17±0,16	3,17±0,29* <sup>++</sup>	2,17±0,29●●
24 часа после интоксикации	4,25±1,26**	3,17±0,29*	2,17±0,29 <sup>++</sup> ●●
3 сутки исследования	3,25±0,21*	2,75±0,29**	2,10±0,13●●
7 сутки исследования	5,0±0,29**	2,80±0,35* <sup>+</sup>	2,1±0,21 <sup>+</sup> ●●
10 сутки исследования	6,0±0,29**	2,00±0,35 <sup>+</sup>	2,00±0,13 <sup>+</sup>
14 сутки исследования	2,20±0,29	2,00±0,00	2,05±0,5

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; <sup>+</sup> -  $p < 0,05$ ; <sup>++</sup> -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ●● -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

На 3-и сутки наблюдалось уменьшение относительно интакта активности АлАТ и ЩФ соответственно на 44,2% ( $p < 0,05$ ) и 25,4% ( $p < 0,01$ ). Исследование содержания в сыворотке крови общего холестерина выявило уменьшение его концентрации относительно контроля на 22,1% ( $p < 0,01$ ).

На 7-е сутки исследования профилактическое введение прессового масла семян амаранта сопровождалось повышением относительно контроля активности АсАТ на 77,6% ( $p < 0,05$ ), однако активность аминотрансферазы

была ниже уровня интактных животных на 37,6% ( $p < 0,05$ ). Протромбиновое время было ниже контроля на 34,2% (при  $p < 0,05$ ; табл. 5.6).

Таблица 5.6

Изменение протромбинового времени при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, сек

Время наблюдения	Группа животных		
	Контроль	ЭФЛ	АМ
Интактная группа	19,3±0,15		
24 часа после интоксикации	26,7±0,41*	23,5±0,34*+	24,6±0,11*•
7 сутки исследования	40,1±0,91**	26,1±0,61*+	26,4±0,50**+
14 сутки исследования	30,4±0,64*	24,6±0,58*+	24,8±0,51*+

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; – достоверность различий при сравнении с контролем; • -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

На 10-е сутки исследования, в отличие от группы контроля наблюдалась нормализация активности АсАТ (табл. 5.3). Наметилась тенденция увеличения относительно контроля активности АлАТ с возвращением к норме к 14-м суткам исследования. Активность ЩФ была в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) выше контроля с сохранением данного показателя на 14-е сутки исследования. При этом отмечено незначительное снижение концентрации общего холестерина ниже интакта на 9,6% ( $p < 0,01$ ). На 14-е сутки протромбиновое время было меньше контроля на 18,4% ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, введение прессового масла семян амаранта в первые часы интоксикации предотвращало развитие синдрома цитолиза гепатоцитов, о чем свидетельствовало уменьшение по сравнению с контролем и препаратом сравнения активности АлАТ через 1 час после введения изониазида соответственно на 33% и 26% ( $p < 0,05$ ) с последующим возвращением к норме через 24 часа. Активность АсАТ нормализовалась к 10-м суткам, АлАТ – к 14-м суткам наблюдения, тогда как в контрольной группе возвращение к исходной величине данных показателей не зафиксировано на протяжении 14-и суток эксперимента.

Наряду с этим пресловое масло семян амаранта способствовало нормализации липидного обмена, снижая содержание общего холестерина в сыворотке крови на 22-35% ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ), уменьшало на протяжении всего периода наблюдения протромбиновое время (максимально на 7-е сутки – на 34,2% при  $p < 0,05$  и составило  $26,4 \pm 0,50$  сек. против  $40,1 \pm 0,91$  сек. в контроле), предотвращало усиление процессов липопероксидации, о чем свидетельствовало снижение в сыворотке крови концентрации ТБК-активных продуктов в первые сутки интоксикации на 15-19% ( $p < 0,05$ ) относительно контроля с последующей нормализацией к 3-м суткам исследования на фоне увеличения в контроле на 10-19% ( $p < 0,05$ ) на протяжении 14 суток наблюдения.

По действию на регистрируемые показатели эффективность преслового масла семян амаранта была сопоставима с действием препарата сравнения.

Введение ЭФЛ с лечебной целью животным с лекарственно-индуцируемым поражением печени, на 10-е сутки наблюдения сопровождалось нормализацией активности АсАТ, а в отдельных случаях увеличением активности АлАТ на 35,9% ( $p < 0,05$ ) относительно контроля, снижением активности ЩФ на 28,4% ( $p < 0,05$ ). При этом содержание общего билирубина в сыворотке крови относительно интакта и контроля увеличивалось соответственно в 2,9 раза ( $p < 0,05$ ) и 4,4 раза ( $p < 0,01$ ).

На 14-е сутки исследования, не смотря на выраженную гипербилирубинемия (концентрация общего билирубина выше показателей интактной и контрольной групп соответственно на 69,1% при  $p < 0,01$  и 37,9% при  $p < 0,05$ ) различия по сравнению с интактной группой уровня активности аминотрансфераз были статистически не значимы (табл. 5.7), активность ЩФ ниже на 62,5% ( $p < 0,05$ ). Концентрация ТБК-активных продуктов соответствовала показателю интактных животных ( $19,81 \pm 0,83$  нмоль/л против  $19,73 \pm 0,73$  нмоль/л). Протромбиновое время было ниже контроля на 13,1% ( $26,4 \pm 0,32$  сек. против  $30,4 \pm 0,64$  сек. при  $p < 0,05$ ).

Таблица 5.7

Динамика биохимических показателей сыворотки крови при введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией изониазидом

Группа животных	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л	ЩФ, Е/л	Билирубин общий, мкмоль/л	Общий холестерин, ммоль/л
Интактная	55,60±7,75	144,91±21,67	472,25±41,29	2,56±0,8	1,59±0,13
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	18,52±5,75*	71,68±28,66*	140,6±61,53*	1,70±0,004**	1,45±0,10
ЭФЛ	25,17±4,74*	155,10±56,32++	100,72±33,95*	7,49±1,57*+	1,51±0,04
АМ	47,17±8,29+●●	152,74±24,25+	276,70±83,99*++●●	2,50±1,25●●	1,33±0,14**
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	43,04±3,91*	202,36±39,31**	181,86±43,37*	1,82±0,32	1,86±0,26
ЭФЛ	44,72±2,57	184,31±33,94	176,86±36,25*	4,33±1,05**+	1,72±0,06
АМ	58,25±2,0+●	149,66±30,65++	298,68±59,67*+●●	2,55±1,1	1,89±0,28

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$ ; ●● -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

3-хдневное введение прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с лекарственно-индуцированным поражением печени, вызванным изониазидом, сопровождалось на 10-е сутки исследования нормализацией активности аминотрансфераз (табл. 5.7). Уровень общего билирубина в сыворотке крови так же соответствовал показателям животных интактной группы на 10-е сутки. Кроме того, наблюдалось увеличение относительно контроля активности ЩФ на 96,8% ( $p < 0,01$ ). Следует отметить, что применение прессового масла семян амаранта с лечебной целью, так же, как и на фоне профилактического введения сопровождалось снижением концентрации общего холестерина ниже показателя интактной группы на 14,7% ( $p < 0,01$ ). Концентрация ТБК-активных продуктов соответствовала показателям интактных животных (19,64±0,16 нмоль/л против 19,73±0,73 нмоль/л). СОЭ соответствовала уровню интактных животных (2,00±0,35 мм/ч при показателе в интактной группе 2,00±0,21). Определяемая на 14-е сутки исследования

величина протромбинового времени была меньше контроля на 12,8% ( $26,5 \pm 0,24$  сек. против  $30,4 \pm 0,64$  сек. при  $p < 0,05$ ).

Таким образом, при лекарственно-индуцированном поражении печени, вызываемом изониазидом, введение прессового масла семян амаранта сопровождалось снижением степени выраженности синдрома цитолиза, способствуя полной нормализации активности аминотрансфераз на 10-е сутки; торможением процессов липопероксидации, нормализацией липидного обмена (снижает содержание общего холестерина на 22-35%). По действию на данные показатели крови эффективность прессового масла семян амаранта превосходила действие препарата ЭФЛ.

#### **5.4. Результаты патологоанатомического исследования**

При проведении патологоанатомических исследований отмечен ряд специфических изменений. Через 24 часа после однократного введения изониазида в контрольной группе животных было отмечено вздутие желудка и скопление газов в кишечнике из-за нарушения пищеварения (см. Приложение 6, рис. 3Б). Масса селезенки была меньше показателя интактной группы на 41,5% ( $p < 0,01$ ). На 3-и сутки исследования печень животных желтовато-красного цвета.

На 7-е сутки исследования в контрольной группе были выявлены следующие изменения: мочевой пузырь пустой, печень животных желтовато-красного цвета, на разрезе её ткань рыхлой консистенции, тусклая, желтого цвета. Масса печени увеличена на 31,7% ( $p < 0,01$ ). Желудок увеличен в размере и переполнен неперевавшими пищевыми массами (см. Приложение 6, рис. 4А), при вскрытии желудка ощущался резкий запах. В «окошках» брыжейки тонкой кишки обнаружено наличие кровоизлияний. Масса почек увеличена на 27,3% ( $p < 0,05$ ), при этом отмечено уменьшение количества околопочечной жировой ткани, составляющей жировую капсулу почек. Масса надпочечников увеличена относительно интакта на 75% ( $p < 0,05$ ).

На 10-е сутки исследования в контрольной группе животных печень желтовато-красного цвета, масса печени увеличена на 21,7% ( $p < 0,01$ ). Желудок вздут, увеличен в размере и переполнен непереваженными пищевыми массами (см. Приложение 6, рис. 4Б), в «окошках» брыжейки тонкой кишки – единичные кровоизлияния. Так же, как и на 7-е сутки исследования отмечено уменьшение количества околопочечной жировой ткани, составляющей жировую капсулу почек и увеличение массы почек и надпочечников относительно интактной группы соответственно на 17,5% ( $p < 0,01$ ) и 87,5% ( $p < 0,05$ ). На 14-е сутки исследования печень желтовато-красного цвета, её масса ниже показателя интактной группы на 13,0% ( $p < 0,01$ ). Масса почек выше интакта на 14,9% ( $p < 0,05$ ).

При ведении ЭФЛ на 3-и сутки исследования печень имела темно-вишневый цвет, выявлено незначительное вздутие желудка (см. Приложение 6, рис. 3В). На 7-е сутки печень животных желтовато-красного цвета, масса увеличена относительно интактной группы на 17,7% ( $p < 0,05$ ). Желудок нормального размера (см. Приложение 6, рис. 4В). Отмечено увеличение относительно показателя интактной группы массы почек и надпочечников соответственно на 33,8% и 112,5% ( $p < 0,05$ ). Кроме того, масса селезенки была меньше показателя интактной группы и контроля соответственно на 47,0% ( $p < 0,05$ ) и 27,8% ( $p < 0,05$ ). На 14-е сутки исследования печень желтовато-красного цвета, масса соответствовала показателям животных интактной группы (см. Приложение 7, табл. 11). Масса почек увеличена относительно показателя интактной группы на 15,3% ( $p < 0,01$ ).

В опытной группе животных, получавших пресловое масло семян амаранта, на 3-и сутки исследования в отличие от контрольной группы печень имела темно-вишневый цвет. Желудок обычной величины (см. Приложение 6, рис. 3Г). На 7-е сутки печень желтовато-красного цвета, желудок нормального размера (см. Приложение 6, рис. 4Д). Выявлено увеличение относительно показателя интактной группы массы почек и надпочечников соответственно на 19,7% и 75% ( $p < 0,05$ ). На 14-е сутки печень темно-вишневого цвета, на ощупь

ткань печени упругая, масса соответствует показателям животных интактной группы (см. Приложение 7, табл. 11). Масса почек выше показателя интактных животных на 10% ( $p < 0,01$ ).

При введении исследуемых веществ с лечебной целью животным с интоксикацией, индуцированной изониазидом, на 10-е сутки исследования печень имела желтовато-красный цвет, выявленные изменения массы печени были статистически не значимы. Желудок животных нормального размера. При введении ЭФЛ отмечено уменьшение относительно контроля массы надпочечников на 40% ( $p < 0,01$ ). При применении прессового масла семян амаранта масса надпочечников была меньше контроля на 53,3% ( $p < 0,05$ ) и приближена к показателям интактных животных (см. Приложение 7, табл. 11). При этом в данном наблюдении отмечено уменьшение относительно интактной группы массы сердца на 26,1% ( $p < 0,01$ ) без визуально определяемой патологии.

На 14-е сутки исследования на фоне применения ЭФЛ печень желтовато-красного цвета, её масса соответствовала показателям животных интактной группы. Отмечено уменьшение относительно контроля массы сердца на 21% ( $p < 0,01$ ). Масса почек так же как в контроле больше показателя интактных животных на 10,9% ( $p < 0,01$ ). При применении прессового масла семян амаранта печень темно-вишневого цвета, на ощупь ткань печени упругая, масса соответствует показателям животных интактной группы. Масса сердца ниже контроля на 21% ( $p < 0,05$ ). Масса почек больше показателя интактных животных на 17% ( $p < 0,01$ ).

### **5.5. Результаты гистологических и гистохимических исследований срезов печени**

При микроскопическом исследовании гистологических срезов печени через 24 часа после однократного введения изониазида в контрольной группе животных наблюдались деструктивные изменения, характеризующиеся уплотнением балочной структуры долек и появлением клеток с приближенным к некробиозу состоянием (наличие мелких клеток с плохо структурированными

ядрами и набухших клеточных тел). Гепатоциты некротизировались в пределах портальных трактов. Отмечено разрыхление и повышение проницаемости стенок сосудов. В отдельных случаях в области триады зафиксировано расслоение стенок кровеносных сосудов. В центральных и перипортальных трактах печеночных долек отмечено наличие рыхлых лимфоидных инфильтратов, что согласуется с результатами исследования СОЭ и в целом свидетельствует о развитии воспалительной реакции. На срезах, окрашенных Oil Red O, цитоплазма гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира (рис. 5.2А, Б), что свидетельствует о диффузной жировой дистрофии печени и согласуется с данными биохимических и патологоанатомических исследований.

На 10-е сутки исследования выявлены дискомплексаторные и дистрофические нарушения (рис. 5.3А, Б). Мелкокапельная жировая дистрофия и тотальные очаги некробиоза расположены на большей части печеночной дольки. В центральной вене форменные элементы крови. На срезах, окрашенных Oil Red O, цитоплазма гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира, жировая дистрофия носила диффузный характер (рис. 5.4А, Б). На 14-е сутки исследования балочная структура печени была выражена слабо, желчные протоки увеличены в размерах, вокруг – очаговые лимфоидные инфильтраты. На срезах, окрашенных Oil Red O, остаточные явления жировой дистрофии.

В опытной группе животных, получавших с профилактической целью ЭФЛ, через 24 часа после однократного введения изониазида балочная структура долек печени была уплотнена, однако находилась в пределах нормы. В области триады – сосуды кровенаполнены. В перипортальных трактах печеночных долек – периваскулярные лимфоидные инфильтраты. На срезах, окрашенных Oil Red O, степень и распространенность жировой дистрофии менее выражена, чем в контроле, жировые капли расположены преимущественно на периферии печеночных долек (рис. 5.2В, Г). На 14-е сутки исследования отчетливо улучшалась архитектоника печени, однако отмечено

увеличение количества лимфоидных инфильтратов относительно здоровых животных интактной группы и наличие форменных элементов крови в центральной вене (рис. 5.5В, Г). На срезах, окрашенных Oil Red O, остаточные явления жировой дистрофии (табл. 5.8).

Таблица 5.8

Влияние прессового масла семян амаранта на показатели морфометрии и степень жировой инфильтрации печени крыс при интоксикации изониазидом

Группа животных	Степень жировой инфильтрации, баллы	Диаметр ядра гепатоцитов, мкм	ЯЦО,%	АИ
Интактная	0,33±0,2	3,38±0,07	34,1±1,45	0,09±0,02
<i>24 часа после интоксикации</i>				
<i>профилактическая схема</i>				
Контроль	4,5±0,2	3,26±0,12	32,3±2,3	0,41±0,19*
ЭФЛ	3,5±0,2	3,75±0,19*+	37,6±3,5+	0,27±0,10*+
АМ	3,2±0,16	3,61±0,14*+	33,3±3,3	0,24±0,07*+
<i>10 сутки исследования</i>				
Контроль	4,33±0,2	2,76±0,25*	33,5±3,2	0,87±0,13*
<i>лечебная схема</i>				
ЭФЛ	1,16±0,3	3,47±0,18+	36,3±4,8	0,31±0,10*+
АМ	0,7±0,2	3,88±0,27*+	40,4±2,8*+	0,29±0,10*+
<i>14 сутки исследования</i>				
Контроль	0,8±0,3	3,72±0,21*	36,5±1,8	0,41±0,62*+
<i>профилактическая схема</i>				
ЭФЛ	0,7±0,2	3,62±0,12*	36,5±1,8	0,24±0,16*+
АМ	0,7±0,2	3,75±0,14*	37,7±3,2	0,22±0,11*+
<i>лечебная схема</i>				
ЭФЛ	1,0±0,2	3,35±0,14+	35,7±1,1	0,27±0,10*+
АМ	0,5±0,2	3,41±0,16+	37,1±3,7	0,24±0,07*+

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; АИ – индекс апоптоза; критерий Ньюмена-Кейлса: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

В опытной группе животных, получавших с профилактической целью прессовое масло семян амаранта, через 24 часа после однократного введения изониазида, наблюдалось восстановление архитектоники и балочной структуры печеночных долек. Гепатоциты средних размеров с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой. На срезах,

окрашенных Oil Red O, степень и распространенность жировой дистрофии менее выражена, чем в контроле, жировые капли преимущественно расположены на периферии печеночных балок (рис. 5.2Д, Е). На 14-е сутки исследования отмечено улучшение архитектоники печени с остаточными явлениями дистрофии. Печень полнокровна, гиперемирована (рис. 5.5Д, Е).

При введении ЭФЛ с лечебной целью на 10-е сутки исследования балочная структура печеночных долек была в пределах нормы, печень полнокровна. Признаков некробиоза, в отличие от группы контроля, не обнаружено (рис. 5.3В, Г). На срезах, окрашенных Oil Red O, не генерализованная жировая дистрофия (рис. 5.4В, Г). На 14-е сутки отмечено наличие лимфоидных инфильтратов вокруг желчных протоков.

При введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью на 10-е сутки исследования архитектоника печеночных долек в пределах нормы, наблюдалось восстановление балочной структуры. Печень полнокровна. Гепатоциты средних размеров с хорошо структурированным округлым ядром и окрашенной цитоплазмой (рис. 5.3Д, Е). Данная тенденция сохранялась на 14-е сутки исследования. На срезах, окрашенных Oil Red O, остаточные явления жировой дистрофии (рис. 5.4Д, Е).

Таким образом, однократное введение изониазида вызывало повышение проницаемости, а в отдельных случаях расслоение стенок кровеносных сосудов на фоне начинающихся дистрофических изменений паренхимы органа в виде диффузной жировой дистрофии (с появлением в пределах портальных трактов гепатоцитов в состоянии, приближенном к некробиозу) и уплотнением балочной структуры печеночных долек. Дальнейшее моделирование интоксикации на 10-е сутки исследования сопровождалось развитием дисконкомплексаторных и дистрофических нарушений, наличием мелкокапельной жировой дистрофии и расположенными на большей части печеночной дольки тотальными очагами некробиоза, повышением сосудистой проницаемости, признаками воспалительной реакции (лимфоидная инфильтрация при СОЭ  $6,0 \pm 0,29$  мм/ч против  $2,00 \pm 0,21$  мм/ч в интактной группе).

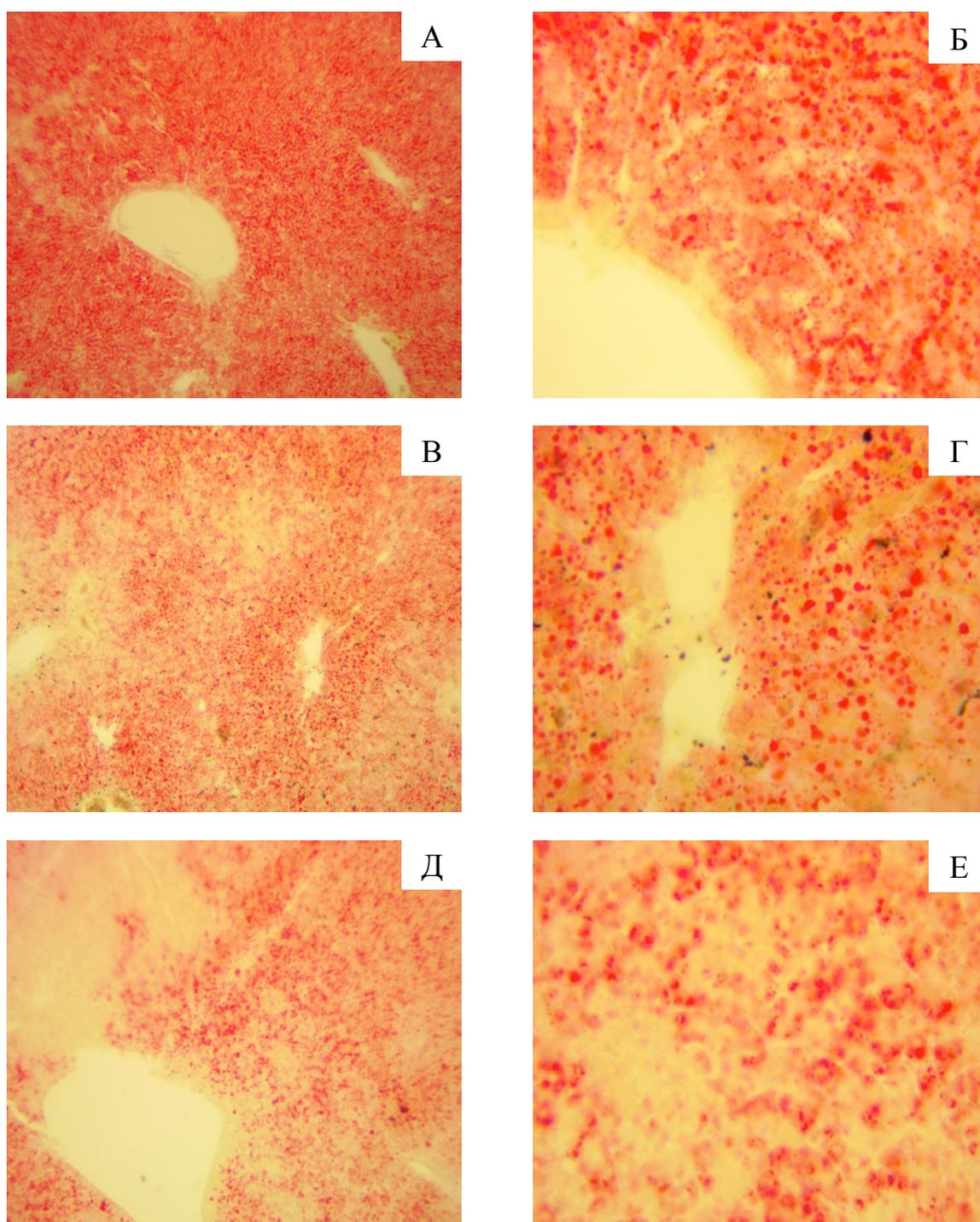


Рис. 5.2. Жировая дистрофия гепатоцитов крыс при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью животным с интоксикацией изониазидом, 1 сутки, окраска – Oil Red O.

А, В, Д – увеличение  $\times 100$ ; Б, Г, Е – увеличение  $\times 400$ .

А, Б – контроль; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов: цитоплазма центрoлoбулярных и периферических гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира; Д, Е – прессовое масло семян амаранта: цитоплазма преимущественно периферических гепатоцитов заполнена мелкими каплями жира

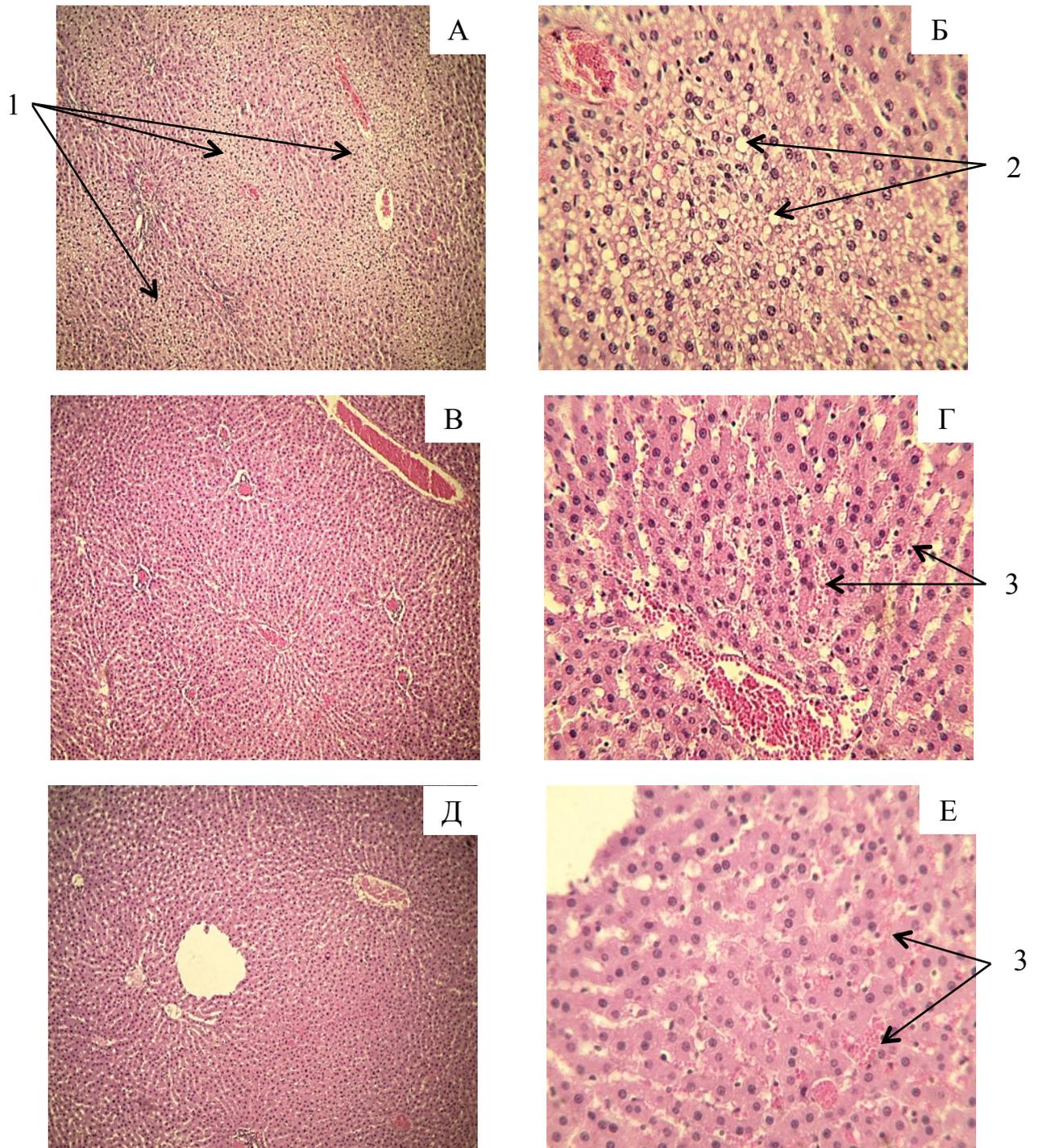


Рис. 5.3. Гистологическая картина печени крыс при введении прессового масла семян амаранта с лечебной целью животным с интоксикацией изониазидом, 10 сутки, окраска – гематоксилин-эозин.

А, В, Д – увеличение  $\times 100$ ; Б, Г, Е – увеличение  $\times 400$ .

А, Б – контроль; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов; Д, Е – прессовое масло семян амаранта; 1 – очаги некробиоза; 2 – мелкокапельная жировая дистрофия; 3 – повышение кровенаполнения сосудов

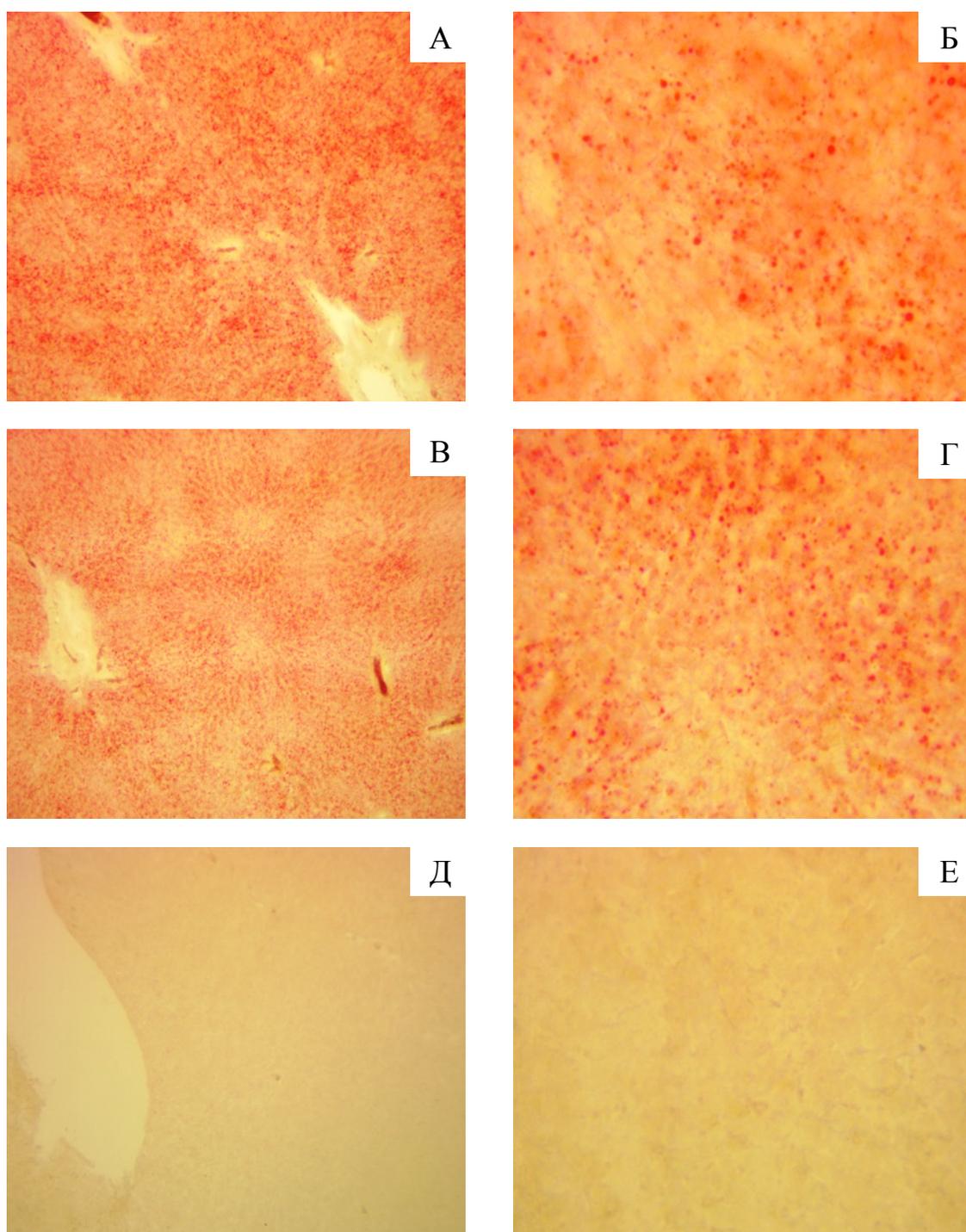


Рис. 5.4. Жировая дистрофия гепатоцитов крыс при введении прессового масла семян амаранта с профилактической целью животным с интоксикацией изониазидом, 10 сутки, окраска – Oil Red O.

А, В, Д – увеличение  $\times 100$ ; Б, Г, Е – увеличение  $\times 400$ .

А, Б – контроль: цитоплазма централобулярных и периферических гепатоцитов заполнена мелкими и крупными каплями жира; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов: негенерализованная жировая дистрофия; Д, Е – прессовое масло семян амаранта: остаточные явления жировой дистрофии

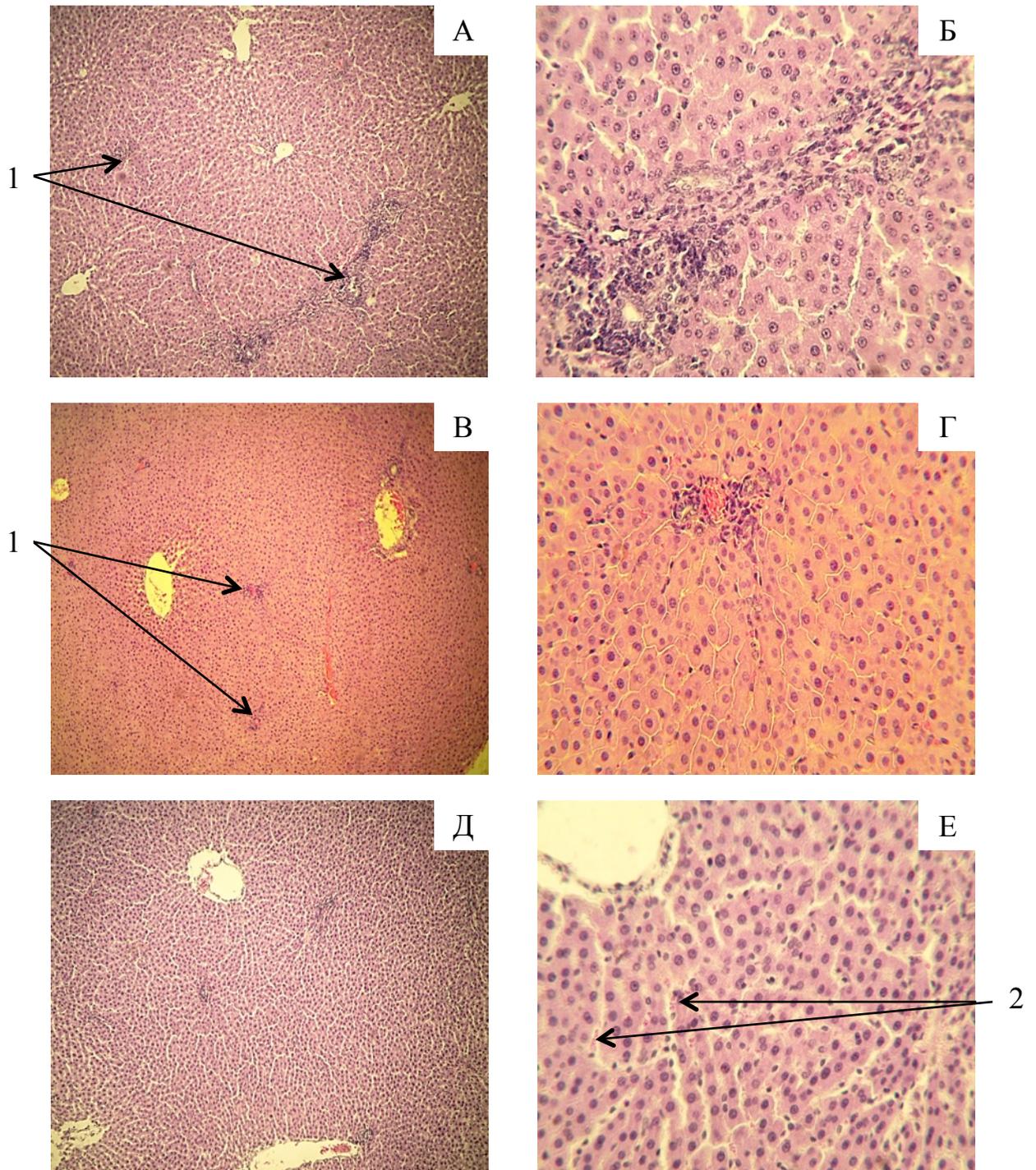


Рис. 5.5. Гистологическая картина печени крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, 14 сутки, окраска – гематоксилин-эозин.

А, В, Д – увеличение  $\times 100$ ; Б, Г, Е – увеличение  $\times 400$ .

А, Б – контроль; В, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов; Д, Е – прессовое масло семян амаранта; 1 – лимфомакрофагальная инфильтрация; 2 – повышение кровенаполнения сосудов

Введение прессового масла семян амаранта с профилактической целью обеспечивало восстановление гистоархитектоники печени, предотвращало развитие дистрофических и некробиотических процессов при однократном введении изониазида и значительно уменьшало их степень при многократном введении. Признаков нарушения микроциркуляторных процессов (повышение сосудистой проницаемости, расслоение стенок кровеносных сосудов, расширение междольковых вен), наблюдаемых в контроле не зафиксировано. В гистохимической картине печени в отличие от контроля, где регистрировали диффузную жировую дистрофию, гепатоциты с жировыми каплями были расположены преимущественно на периферии печеночных балок. Введение прессового масла семян амаранта с лечебной целью к 10-м суткам наблюдения обеспечивало выраженное восстановление гистоархитектоники печени и уменьшало выраженность некробиотических процессов, что согласуется с результатами биохимических исследований.

#### **5.6. Влияние прессового масла семян амаранта на состояние микроциркуляторного русла брыжейки крыс при интоксикации изониазидом**

Исследования выполнены на 114 белых аутбредных половозрелых крысах самцах массой  $210,0 \pm 8,1$  г, которые были разделены случайным образом на следующие группы: контрольная (30 голов), опытные группы, различающиеся схемами введения прессового масла семян амаранта (30 и 12 голов), группы препарата сравнения (30 и 12 голов).

Изменение состояния микроциркуляторного русла брыжейки крыс регистрировали в динамике развития лекарственно-индуцированного поражения печени, которое верифицировали с помощью морфологических и биохимических критериев, описанных ранее. Животных выводил из эксперимента по 6 голов в разные сроки после интоксикации: через 1 и 24 часа после интоксикации, а также на 7, 10 и 14 сутки исследования.

Критерии оценки: наличие кровоизлияний в «окошках» брыжейки (участок между двумя крупными кровеносными сосудами); изменение диаметра микрососудов; наличие внутрисосудистых (реологические расстройства) и сосудистых (изменение проницаемости стенок микрососудов, диapedез форменных элементов крови, микрокровоизлияния) нарушений; количество капилляров и занимаемая ими площадь ( $\text{мм}^2$ ); отношение функционирующих и выключенных из кровотока за счет стаза капилляров (в %).

При наружном осмотре «окошек» брыжейки тонкой кишки выживших животных через 1 час после однократного введения изониазида было выявлено наличие в области собирающих вен и питающих артерий кровоизлияний диаметром 4-5 мм, в среднем  $0,11 \pm 0,33$  штук на 1 «окошко» (рис. 5.6).

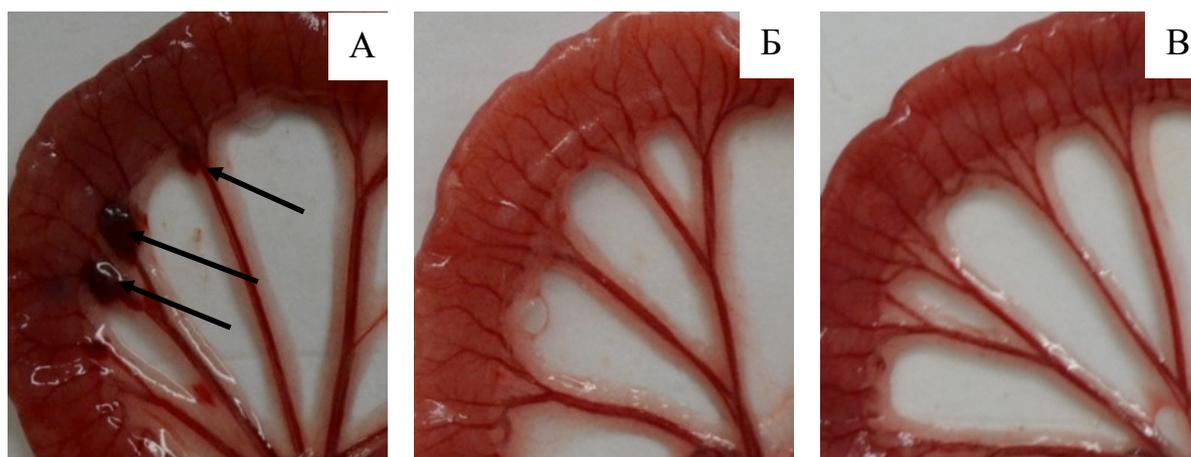


Рис. 5.6. Брыжейка тонкой кишки крыс при введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, 1 час после интоксикации: А – контроль; Б – препарат эссенциальных фосфолипидов; В – прессовое масло семян амаранта; стрелками показаны кровоизлияния

При биомикроскопии вдоль венул и в непосредственной близости от них – интенсивный диapedез форменных элементов крови (рис. 5.7А), в метартериолах – локальные зоны агрегации форменных элементов крови и признаки стаза; в прекапиллярах и капиллярах – сладж-синдром. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $18,2 \pm 0,5$  баллов (показатель в интакте  $20,0 \pm 0,0$ ). Морфометрия выявила

увеличение относительно интакта диаметра посткапилляров и венул соответственно на 30,2% и 13,9% ( $p < 0,05$ ).

Через 24 часа после интоксикации при визуальном осмотре брыжейки кровоизлияний не обнаружено, что согласуется с результатами патологоанатомического исследования. При биомикроскопии в 40% наблюдений капилляры были выключены из кровотока за счет стаза (рис. 5.7Б), в перфузируемых наблюдалось визуальное замедление скорости движения крови, в связи с чем, в поле зрения было отмечено увеличение количества артерио-венозных анастомозов, что свидетельствует о функциональном перераспределении капиллярного кровотока. Среднее количество капилляров и занимаемая ими площадь на  $1 \text{ мм}^2$  площади брыжейки были соответственно на 56,2% и 69,4% ( $p < 0,01$ ) больше показателя в группе интактных животных. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $18,5 \pm 0,5$  баллов (см. Приложение 7, табл. 13). Кровоизлияний обнаружено не было, что согласуется с результатами визуального осмотра брыжейки.

Шестикратное введение изониазида на 7-е сутки наблюдения сопровождалось наличием кровоизлияний в «окошках» брыжейки диаметром 4-5 мм (в среднем  $0,67 \pm 0,87$  штук на 1 «окошко»). Наряду с этим, при биомикроскопии микроциркуляторное русло было развито преимущественно у стенок тонкой кишки. В данном поле зрения, в отдельных прекапиллярах, были обнаружены локальные зоны агрегации эритроцитов, признаки стаза. В посткапиллярах и венулах выявлены локальные зоны адгезии на стенках сосудов эритроцитов. Кроме того, в области посткапилляров и венул и в непосредственной близости от них наблюдали интенсивный диапедез форменных элементов крови, приводящий к обширным сливным геморрагиям (рис. 5.8А). Среднее количество капилляров на  $1 \text{ мм}^2$  площади брыжейки было меньше показателя интактных животных в 1,8 раза ( $p < 0,01$ ), при этом более 50% капилляров было выключено из кровотока за счет стаза. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло

17,0±1,25 баллов. Площадь, занимаемая капиллярами на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки, была в 1,6 раз ( $p<0,01$ ) меньше показателя в группе интактных животных. Морфометрия выявила увеличение относительно показателя интактной группы диаметра артериол на 42% ( $p<0,05$ ) при неразвитости микроциркуляторного русла; увеличение диаметра посткапилляров и венул соответственно на 41,0% ( $p<0,05$ ) и 25,0% ( $p<0,01$ ).

На 10-е сутки исследования при наружном осмотре «окошек» брыжейки по сравнению с 7-и сутками количество кровоизлияний уменьшилось в 2 раза и составило в среднем  $0,33\pm 0,50$  штук на 1 «окошко» брыжейки. При биомикроскопии микроциркуляторное русло также, как и на 7-е сутки, было развито преимущественно у стенки тонкой кишки. В 50% наблюдений в прекапиллярах были выявлены локальные зоны стаза (рис. 5.8Б). Среднее количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки было меньше показателя интактных животных в 2,3 раза ( $p<0,01$ ), а площадь, занимаемая капиллярами на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки – в 1,7 раз ( $p<0,01$ ), при этом в 50% перфузируемых капилляров наблюдалось замедление скорости движения крови, в 10% – признаки стаза.

К 14-м суткам наблюдения при визуальном осмотре «окошек» брыжейки кровоизлияний не выявлено. При биомикроскопии микроциркуляторное русло развито хорошо. Вдоль артериол и венул, а также в непосредственной близости от них обнаружен интенсивный диапедез форменных элементов крови. Кроме того, у стенок прекапилляров и капилляров были выявлены диапедезные кровоизлияния площадью  $1,9\times 10^{-3}$ - $9,9\times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup> (рис. 5.9А). В 20% наблюдений в метартериолах и венулах определялись адгезия и эритроцитарные агрегаты, в 20% наблюдений отдельные зоны сосудов были выключены из кровотока за счет стаза. В капиллярах – признаки сладж-синдрома. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $19,0\pm 0,4$  баллов. Выявленные изменения в целом свидетельствуют о нарастании сосудистых, внутрисосудистых и внесосудистых изменений микроциркуляторного русла. Вместе с тем, наряду с незначительным уменьшением количества

перфузируемых капилляров (табл. 5.9) отмечалось увеличение открытия артериоло-венозных анастомозов, что очевидно носит адаптивный характер.

Таким образом, в результате исследования установлено, что введение изониазида сопровождалось внутрисосудистыми и сосудистыми нарушениями в брыжейке тонкой кишки, морфологическим проявлением которых являлись внутрисосудистая агрегация эритроцитов, стазирование и деструктивные изменения стенок магистральных и микрососудов, сопровождающиеся интенсивным диапедезом форменных элементов крови и кровоизлияниями. При этом следует отметить, что нарушения микроциркуляторных процессов, сопровождающиеся замедлением движения крови, сохранялись на протяжении 8-и суток после прекращения введения изониазида. Последствием замедления кровотока является недостаточная перфузия микрососудов, сопровождающаяся развитием гипоксии, а при полном стазе – аноксии тканей [167], что ведет к нарушению тканевого обмена и усугублению тяжести интоксикации.

При биомикроскопии брыжейки животных опытной группы, получавших с профилактической целью ЭФЛ через 1 час после однократного введения изониазида в 10% наблюдений в прекапиллярах и капиллярах – обнаружены сладж-синдром и стазирование. Через 24 часа в области метартериол было выявлено наличие кровоизлияний площадью  $7,9 \times 10^{-3}$ - $13,0 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup> (рис. 5.7Г), что не наблюдалось в контроле. Среднее количество капилляров и площадь, занимаемая ими на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки, были ниже контроля и соответствовали показателям здоровых животных интактной группы (табл. 5.9), однако 20% капилляров было выключено из кровотока, а в перфузируемых капиллярах визуальное течение крови замедлено. Морфометрия выявила увеличение относительно интакта и контроля диаметра прекапилляров на 23,4% и 32,8% соответственно ( $p < 0,01$ ), и диаметра венул относительно показателя интактной группы на 12,5% ( $p < 0,01$ ).

На 7-е сутки наблюдения микроциркуляторное русло брыжейки было развито преимущественно у стенки тонкой кишки в области магистральных сосудов, что не отличалось от показателей биомикроскопии в контрольной

группе и свидетельствует об отсутствии улучшений патологических изменений в брыжейке крыс, вызываемых введением в желудок токсических доз изониазида. В области посткапилляров и венул наблюдали выход форменных элементов крови за пределы сосудистой стенки (рис. 5.8 В). В отдельных прекапиллярах были выявлены локальные зоны сладжа и стазирования. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $18,7 \pm 0,6$  баллов (показатель в интакте  $20,0 \pm 0,0$ ). Морфометрия выявила уменьшение относительно контроля диаметра артериол на 21,0% ( $p < 0,05$ ), однако диаметр был на 12,2% ( $p < 0,01$ ) больше показателя интактной группы (табл. 5.10).

Таблица 5.9

Изменение количества и площади, занимаемой капиллярами при введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом

Группа животных	Период наблюдения				
	1 час	24 часа	7 сутки	10 сутки	14 сутки
Количество капилляров на $1 \text{ мм}^2$ , шт.					
Интактная	$80,0 \pm 11,2$				
Контроль	$62,5 \pm 14,4$	$125,0 \pm 20,1^{**}$	$43,7 \pm 23,9^{**}$	$35,0 \pm 13,69^{**}$	$62,5 \pm 13,6$
ЭФЛ	$75,0 \pm 17,7$	$72,5 \pm 15,0^{++}$	$50,0 \pm 17,7$	$60,0 \pm 13,7$	$65,0 \pm 13,7$
АМ	$85,0 \pm 22,4$	$74,0 \pm 13,4^{++}$	$80,0 \pm 12,5$	$83,3 \pm 12,9^{++}$	$106,2 \pm 12,5^{**++\bullet\bullet}$
Площадь, занимаемая капиллярами на исследуемом сегменте в $1 \text{ мм}^2$ , $\text{мм}^2$					
Интактная	$0,36 \pm 0,08$				
Контроль	$0,28 \pm 0,07$	$0,61 \pm 0,12^{**}$	$0,23 \pm 0,01^{**}$	$0,21 \pm 0,04^{**}$	$0,26 \pm 0,08$
ЭФЛ	$0,37 \pm 0,14$	$0,30 \pm 0,09^{++}$	$0,26 \pm 0,12$	$0,27 \pm 0,10$	$0,30 \pm 0,11$
АМ	$0,36 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,08^{++}$	$0,41 \pm 0,15$	$0,53 \pm 0,16^{**+\bullet\bullet}$	$0,54 \pm 0,025^{**+\bullet\bullet}$

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента:  $^{**}$  -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой;  $^{+}$  -  $p < 0,05$ ;  $^{++}$  -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем;  $^{\bullet\bullet}$  -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

На 10-е сутки исследования микроциркуляторное русло, так же, как и в группе контроля было развито преимущественно у стенки тонкой кишки в области магистральных сосудов. При этом диаметр артериол оставался выше показателя интактной группы (табл. 5.10). В 50% сетевых сосудов были выявлены локальные зоны сладжа, снижение скорости движения крови.

Таблица 5.10

Изменение диаметра микрососудов брыжейки крыс при введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом

Группа животных	Диаметр микрососудов, мкм				
	Артериолы	Прекапилляры	Капилляры	Посткапиллярные венулы	Венулы
Интактная	41,7±1,5	12,8±1,2	7,1±1,0	19,5±0,7	44,0±1,8
<i>профилактическая схема введения</i>					
<i>1 час после интоксикации</i>					
Контроль	40,1±1,2	14,5±0,5	6,4±1,2	25,4±1,9*	50,1±1,2*
ЭФЛ	41,4±1,4	12,4±1,0++	7,2±0,4	20,6±1,5++	42,6±1,0+
АМ	41,6±2,0	12,8±0,8++	7,4±0,2	19,7±1,1++	44,2±1,4+
<i>24 часа после интоксикации</i>					
Контроль	37,8±1,4	11,9±1,7	8,2±0,3	20,7±1,9	46,5±2,4
ЭФЛ	41,3±0,9++	15,8±0,4***++	6,25±1,1++	19,1±0,4	49,5±0,9*
АМ	41,1±1,4++	14,7±0,2++	8,2±1,0	20,1±0,9	52,4±0,1*++
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	59,2±1,5*	13,8±1,2	6,5±0,9	27,5±1,4*	55,0±5,9**
ЭФЛ	46,8±1,9***+	12,7±1,0	7,0±0,5	20,2±1,0+	44,2±0,9++
АМ	42,1±1,8+	13,0±1,2	8,4±0,3++	19,4±0,8+	52,4±0,4*
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	54,5±2,7*	10,7±1,3	6,8±0,6	20,8±0,6	45,2±1,4
<i>профилактическая схема введения</i>					
ЭФЛ	48,1±2,4***++	12,9±1,2	6,5±0,6	20,0±0,6	46,4±1,8
АМ	42,3±1,2+	12,9±1,0	9,2±0,4***+	19,4±0,9	51,2±0,8*+
<i>лечебная схема введения</i>					
ЭФЛ	39,4±0,7+	11,5±3,4	5,5±0,65	20,2±0,8	50,0±4,7
АМ	40,7±0,7+	13,0±0,5++	8,6±1,0	21,4±1,0	51,0±1,1*+
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	38,0±2,2	13,3±1,1	6,2±1,25	20,4±1,1	45,0±1,1
<i>профилактическая схема введения</i>					
ЭФЛ	38,1±1,8	13,7±0,4	7,1±0,6	21,2±1,0	47,8±2,6
АМ	42,1±1,2++	13,4±2,5	8,3±0,8	20,8±0,4	46,2±1,4
<i>лечебная схема введения</i>					
ЭФЛ	37,2±1,4	13,8±0,8	6,0±0,9	19,0±0,5	45,7±1,8
АМ	40,1±2,2	12,7±0,9	9,6±0,6***++	20,1±0,4	49,6±1,0*+

Примечание: ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + - p<0,05; ++ - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с контролем

При оценке по балльной шкале на 10-е сутки исследования, состояние микроциркуляторных процессов составляло 19,0±0,3 баллов (см. Приложение 8, табл. 13). На 14-е сутки наблюдалось сохранение тока крови во всех звеньях

микроциркуляторного русла. В области метартериол и прекапилляров в 20% наблюдений было выявлено наличие кровоизлияний площадью  $10,3 \times 10^{-3} \text{мм}^2$  -  $21,8 \times 10^{-3} \text{мм}^2$  (рис. 5.9А). При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $19,3 \pm 0,2$  баллов (показатель в интакте  $20,0 \pm 0,0$ ).

Таким образом, применение с профилактической целью ЭФЛ при интоксикации изониазидом по данным биомикроскопии не сопровождалось значительным улучшением микроциркуляторных процессов, однако следует отметить, что в отличие от контрольной группы на протяжении всего периода исследования при наружном осмотре «окошек» брыжейки кровоизлияний выявлено не было (рис. 5.6Б), что согласуется с данными патологоанатомических исследований.

В опытной группе животных, получавших с профилактической целью пресовое масло семян амаранта, в отличие от показателей контроля и препарата сравнения, через 1 час после однократного введения изониазида при визуальном осмотре и биомикроскопии не было выявлено признаков нарушений микроциркуляторных процессов (рис. 5.6В, 5.7Д). Через 24 часа только в 10% наблюдений в капиллярах были выявлены признаки сладжа. Результаты морфометрии выявили увеличение относительно интактной группы и контроля диаметра венул соответственно на 19,0% ( $p < 0,05$ ) и 12,7% ( $p < 0,01$ ). При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $20,0 \pm 0,0$  баллов, что соответствовало показателям нормы у здоровых животных интактной группы.

К 7-м суткам наблюдения микроциркуляторное русло брыжейки было хорошо выражено. Капиллярное русло представлено мелкопетливой равномерной сетью, в единичных капиллярах сохранялись локальные зоны сладжа. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $20,0 \pm 0,0$  баллов. Диаметр венул был на 19,0% ( $p < 0,05$ ) выше интакта (табл. 5.10).

На 10-е сутки наблюдения среднее количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> площади брыжейки было в 2,4 раза ( $p < 0,01$ ) больше контроля. Площадь, занимаемая капиллярами, превышала показатель интакта и контроля в 1,45 раза ( $p < 0,01$ ) и 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно (табл. 5.9). Морфометрия выявила увеличение относительно показателя интактной группы и контроля диаметра капилляров соответственно на 29,5% ( $p < 0,01$ ) и 35,3% ( $p < 0,05$ ), венул соответственно на 16,4% и 13,3% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует об увеличении емкости кровеносного русла. На 14-е сутки на фоне введения прессового масла семян амаранта наблюдалось визуальное увеличение количества анастомозов и капилляров с ускоренным током крови, при этом количество капилляров на 1 мм<sup>2</sup> было больше ( $p < 0,01$ ) показателя интактной группы, контроля и препарата сравнения соответственно на 32,7%, 69,9% и 63,4%, а площадь, занимаемая капиллярами, превышала показатели этих групп соответственно в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ), 2 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,8 раза ( $p < 0,01$ ). Кроме того, на протяжении всего периода исследования, в отличие от контрольной группы при наружном осмотре «окошек» брыжейки кровоизлияний не было выявлено.

Таким образом, введение прессового масла семян амаранта с профилактической целью предотвращало развитие внутрисосудистых и деструктивных нарушений и способствовало увеличению емкости кровеносного русла в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ).

При введении с лечебной целью ЭФЛ на 10-е сутки наблюдения в 50% наблюдений в метартериолах был слабый маятникообразный ток крови, синхронный с перистальтическими волнами кишечника, а в прекапиллярах и капиллярах – выявлены локальные зоны сладжа и стаза, наряду с чем, в 10% случаев в области прекапилляров и капилляров отмечено наличие кровоизлияний площадью  $8,8 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>.

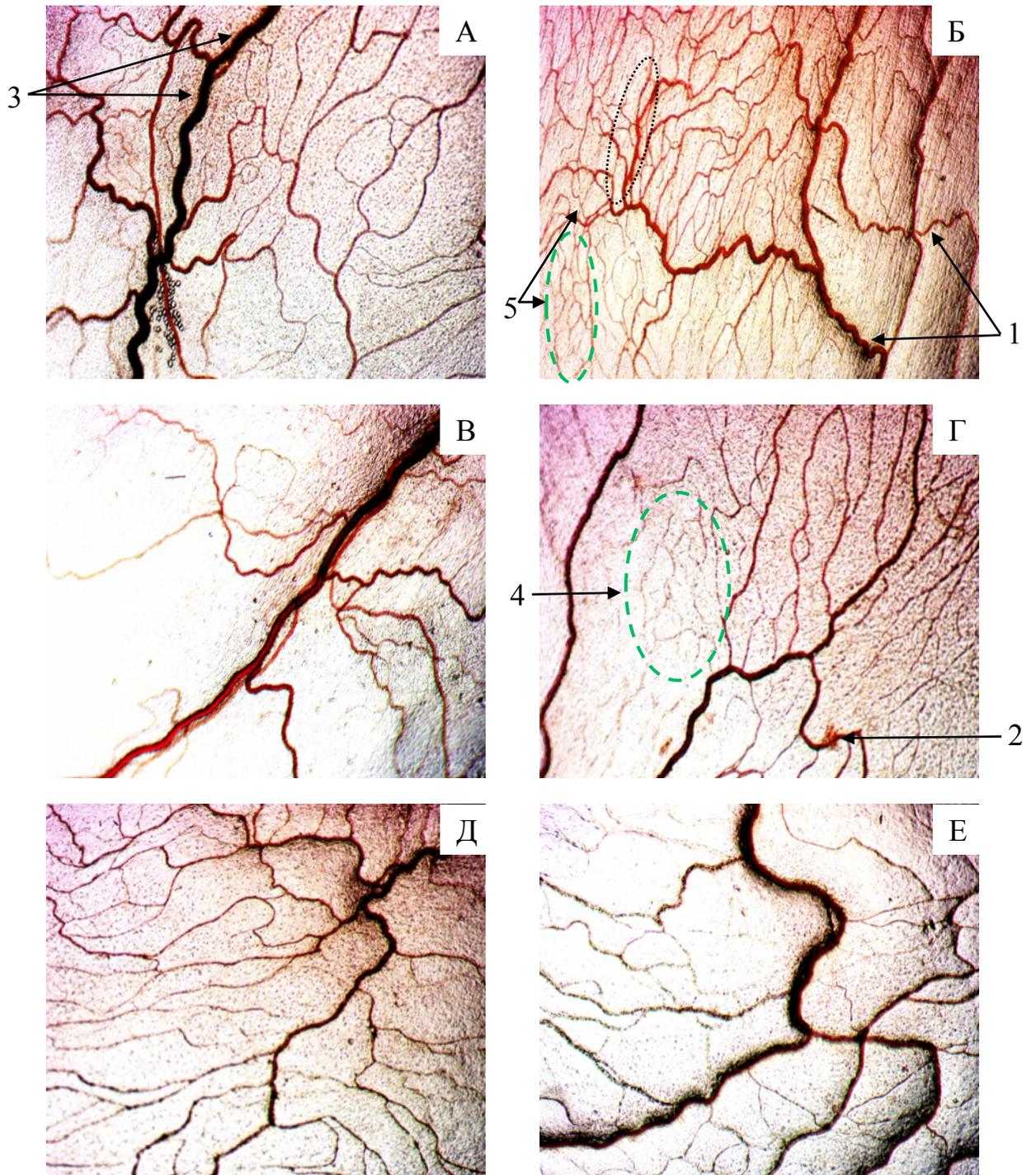


Рис. 5.7. Микроциркуляторное русло брыжейки тонкой кишки крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом. Биомикроскопия, ув.×40. А – контроль, через 1 час; Б – контроль, через 24 часа; В – препарат эссенциальных фосфолипидов, через 1 час; Г – препарат эссенциальных фосфолипидов, через 24 часа; Д – прессовое масло семян амаранта, через 1 час; Е – прессовое масло семян амаранта, через 24 часа. 1 – увеличение извитости контуров микрососудов; 2 – кровоизлияния; 3 – выход форменных элементов крови за пределы сосудистой стенки; 4 – замедление тока крови (сладж-синдром); 5 – локальные зоны стаза; 6 – разрастание околососудистого капиллярного русла

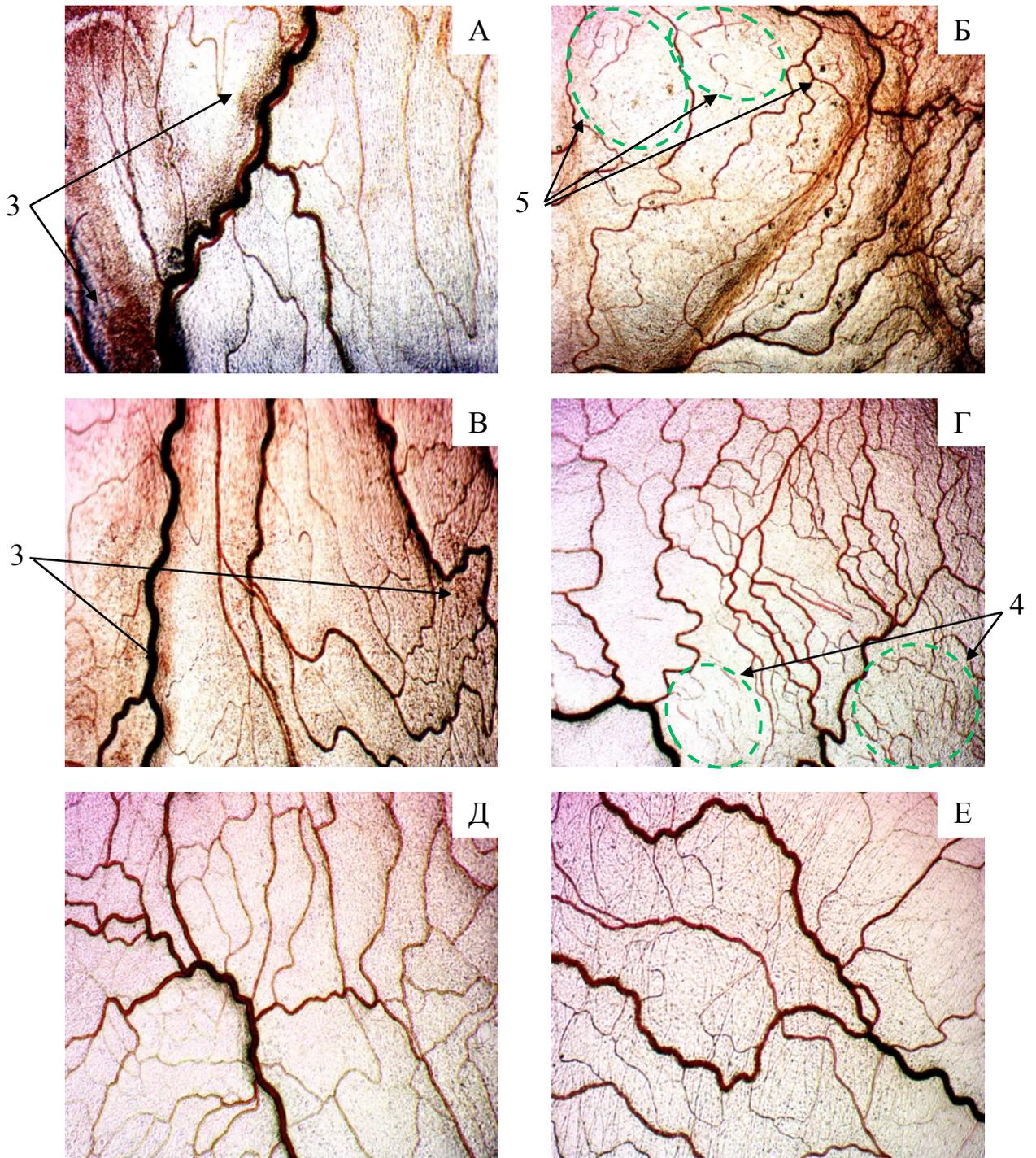


Рис. 5.8. Микроциркуляторное русло брыжейки тонкой кишки крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом. Биомикроскопия, ув.×40.

А – контроль, 7 сутки; Б – контроль, 10 сутки; В – препарат эссенциальных фосфолипидов, 7 сутки; Г – препарат эссенциальных фосфолипидов, 10 сутки; Д – прессовое масло семян амаранта, 7 сутки; Е – прессовое масло семян амаранта, 10 сутки.

1 – увеличение извитости контуров микрососудов; 2 – кровоизлияния; 3 – выход форменных элементов крови за пределы сосудистой стенки; 4 – замедление тока крови (сладж-синдром); 5 – локальные зоны стаза

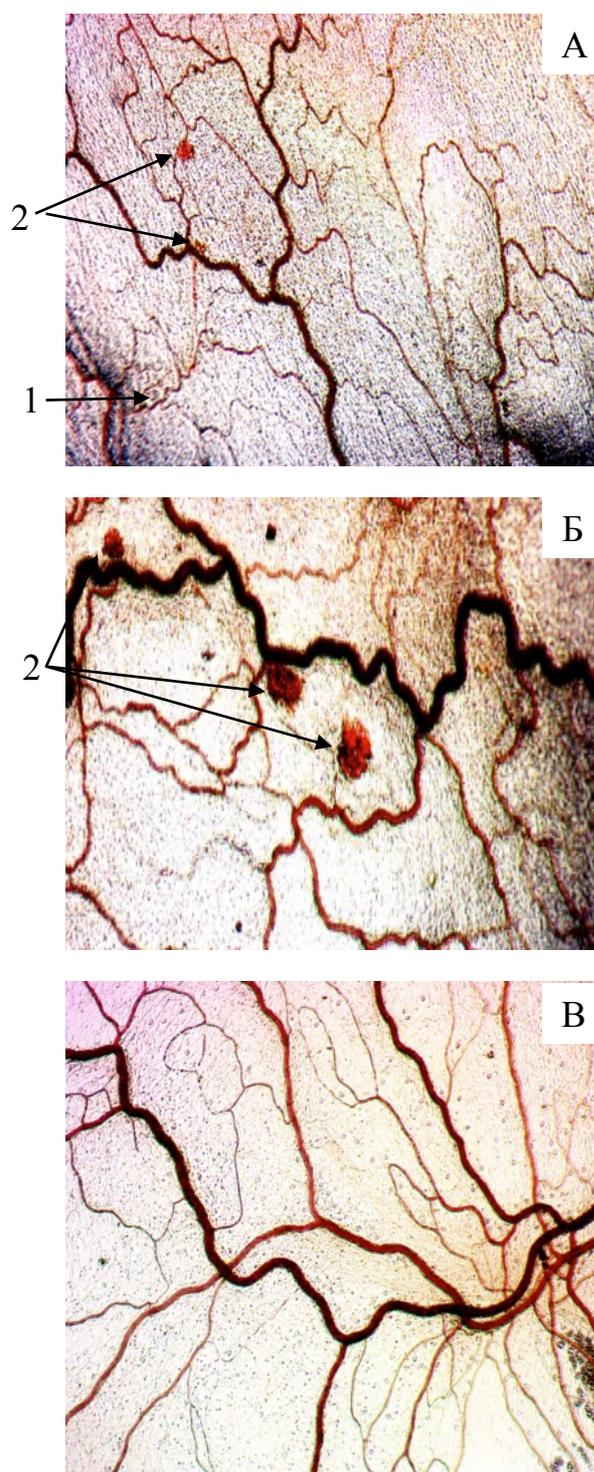


Рис. 5.9. Микроциркуляторное русло брыжейки тонкой кишки крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом. Биомикроскопия, ув.×40.

А – контроль, 14 суток; Б – препарат эссенциальных фосфолипидов, 14 суток;

В – прессовое масло семян амаранта, 14 суток.

1 – увеличение извитости контуров микрососудов; 2 – кровоизлияния; 3 – выход форменных элементов крови за пределы сосудистой стенки; 4 – замедление тока крови (сладж-синдром); 5 – локальные зоны стаза

При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $19,1 \pm 0,2$  баллов (см. Приложение 7, табл. 13). Следует отметить, что в отличие от контрольной группы при наружном осмотре «окошек» брыжейки кровоизлияний выявлено не было. На 14-е сутки введение ЭФЛ с лечебной целью сопровождалось выходом форменных элементов крови за пределы сосудистой стенки. В прекапиллярах – локальные зоны сладжа и стазирования.

На фоне введения прессового масла семян амаранта на 10-е сутки наблюдения в отличие от контроля микроциркуляторное русло было хорошо выражено, признаков деструктивных нарушений магистральных и микрососудов не выявлено. При оценке по балльной шкале, состояние микроциркуляторных процессов составляло  $20,0 \pm 0,0$  баллов, что соответствовало показателям нормы у здоровых животных интактной группы. Морфометрия выявила увеличение относительно интакта и контроля диаметра венул соответственно на 16,0% и 12,8% ( $p < 0,05$ ). Среднее количество капилляров на площади исследуемого сегмента в  $1 \text{ мм}^2$  составляло  $70,30 \pm 11,2$  шт. на  $1 \text{ мм}^2$  против  $35,0 \pm 13,69$  шт. на  $1 \text{ мм}^2$  в контроле. На 14-е сутки исследования диаметр капилляров превышал показатели интактной и контрольной групп соответственно на 35,2% ( $p < 0,01$ ) и 54,8% ( $p < 0,01$ ), а венул соответственно на 12,7% и 10,2% ( $p < 0,05$ ) (табл. 5.10). Вазодилатация сопровождалась заполнением резервных капилляров ( $93,7 \pm 12,5$  шт. на  $1 \text{ мм}^2$  при показателе в контроле  $62,5 \pm 0,08$  шт. на  $1 \text{ мм}^2$  при  $p < 0,01$ ) и увеличением занимаемой ими площади в 1,3 раза ( $0,46 \pm 0,02 \text{ мм}^2$  при показателе в интактной группе  $0,36 \pm 0,08 \text{ мм}^2$  и показателе в контроле  $0,26 \pm 0,08$  при  $p < 0,01$ ). В целом выявленные изменения свидетельствуют об увеличении емкости кровеносного русла.

Таким образом, установлено, что интоксикация изониазидом вызывает выраженные нарушения микроциркуляторных процессов, такие как внутрисосудистая агрегация эритроцитов, стазирование, деструктивные изменения стенок сосудов, диapedез, кровоизлияния. В целом, выявленные

изменения ведут к нарушению тканевого обмена и усугублению тяжести интоксикации и имеют определенное значение для объяснения механизмов патогенеза повреждений, индуцированных изониазидом.

Введение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью, в отличие от контроля и препарата сравнения, предотвращало развитие деструктивных нарушений магистральных и микрососудов, способствовало восстановлению кровотока, а также достоверно увеличивало емкость кровеносного русла в 1,3–1,5 раза.

### **Заключение**

На модели интоксикации изониазидом доказана способность прессового масла семян амаранта, вводимого с профилактической целью в дозе 600 мг/кг уменьшать вероятность развития клонико-тонических судорог и гибель животных. Использование теста «эвристические решения» так же позволило доказать, что применение прессового масла семян амаранта уменьшает выраженность патологических симптомов со стороны ЦНС. Выявленные изменения вероятно обусловлены улучшением общего клинического состояния животных вследствие предотвращения повреждающего действия изониазида и его метаболитов на ЦНС и периферическую иннервацию, а также с улучшением антитоксической функции печени.

Выявлена способность прессового масла семян амаранта уменьшать выраженность нарушений функциональной активности сердца, вызываемых введением высоких доз изониазида.

Установлено, что введение прессового масла семян амаранта уменьшало степень выраженности нарушений со стороны ЖКТ, сопровождающихся в контрольной группе животных вздутием желудка и переполнением непереваренными пищевыми массами, отсутствием дефекаций, что вероятно обусловлено прокинетическим действием, характерным для растительных масел.

При лекарственно-индуцированном поражении печени, вызываемом изониазидом, введение прессового масла семян амаранта тормозило процессы липопероксидации (концентрация ТБК-активных продуктов ниже контроля на 15-19%) и сопровождалось уменьшением по сравнению с контролем и препаратом сравнения активности АлАТ соответственно на 33% и 26% с последующим возвращением к норме через 24 часа, что свидетельствует об уменьшении степени выраженности повреждения цитоплазматической мембраны гепатоцитов и позволяет предположить, что одним из основных механизмов гепатопротекторного действия прессового масла семян амаранта является мембранопротекторная активность. При применении масла семян амаранта с профилактической целью активность АсАТ нормализовалась к 10 суткам, АлАТ – к 14 суткам, а при введении с лечебной целью активность аминотрансфераз соответствовала показателям интактной группы на 10 сутки, тогда как в контрольной группе возвращение данных показателей к исходной величине не зафиксировано на протяжении всего периода наблюдения. По эффективности влияния на данные показатели действие прессового масла семян амаранта было сопоставимо с препаратом ЭФЛ.

Так же введение масла семян амаранта способствовало достоверному снижению содержания общего холестерина в сыворотке крови в диапазоне от 22 до 35% относительно контроля с нормализацией на 10 сутки наблюдения. На протяжении всего периода исследования при применении прессового масла семян амаранта регистрировали достоверное уменьшение показателя протромбинового времени, максимально на 7 сутки – на 35% относительно контроля, что в целом может свидетельствовать о лучшей сохранности белоксинтезирующей функции печени, согласуется с другими биохимическими маркерами цитолиза и подтверждается данными гистологических исследований, выявивших уменьшение некробиотических процессов.

Впервые (Заявка на патент РФ № 2015134658 «Средство для улучшения микроциркуляторных процессов в организме и способ его использования») при помощи оригинального метода, позволяющего проводить прижизненную

микроскопию сосудов тонкой кишки крыс, доказано, что введение прессового масла семян амаранта предотвращает развитие деструктивных нарушений стенок магистральных и микрососудов в брыжейке крыс, вызываемых введением высоких доз изониазида, способствует восстановлению кровотока на 7-е сутки (при введении с профилактической целью) и на 10-е сутки (при введении с лечебной целью). Предотвращение, в отличие от контроля, развития внутрисосудистой агрегации эритроцитов в микрососудах брыжейки вероятно обусловлено увеличением текучести мембран клеток и нормализацией их проницаемости за счет восстановления процессов липидного обмена, что согласуется результатами биохимических и гистохимических исследований. Учитывая, что характер установленных нарушений в брыжейке тонкой кишки животных контрольной группы в определенной степени согласуется с изменениями состояния сосудистого русла в печени, наблюдаемых при гистологическом исследовании, выявленная способность прессового масла семян амаранта улучшать микроциркуляторные процессы, наряду с доказанной гепатопротекторной и мембранопротекторной активностью является его важным преимуществом по сравнению с известными гепатопротекторами.

## ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы в литературе появились данные о широком спектре фармакологической активности жирного масла, содержащегося в семенах амаранта и эффективности его применения в комплексной терапии различных заболеваний. По имеющимся сведениям, подавляющее большинство исследований посвящено изучению свойств масла семян амаранта, полученного с использованием методов экстракции органическими растворителями. Извлечение масла экстракцией – трудоемкий многостадийный процесс, что значительно повышает себестоимость полученного продукта и не исключает присутствия остаточного количества растворителей [77], что совершенно очевидно нельзя считать оптимальным с точки зрения экономической и технологической целесообразности. Решением данной проблемы является применение метода холодного прессования, обеспечивающего сохранение биологически активных веществ в неизменном виде, что позволяет прогнозировать отсутствие раздражающего и канцерогенного действия, а также, значительно удешевить производство масла. Таким образом, масло семян амаранта, получаемое методом холодного прессования, имеет ряд технологических, экономических и фармакотоксикологических преимуществ. Анализ литературных данных свидетельствует о высокой биологической активности веществ, входящих в состав масла, а наличие антиоксидантного, гастро-, гепато- и кардиопротекторного действия создает предпосылки для изучения фармакологических свойств прессового масла семян амаранта и обоснования возможности его применения для профилактики и лечения осложнений, индуцированных изониазидом, что являлось целью данного диссертационного исследования.

В результате экспериментальной оценки гепатопротекторной активности на модели острого поражения печени, индуцированного ТХМ, доказана способность прессового масла семян амаранта, вводимого с профилактической

целью в дозах 300 мг/кг и 600 мг/кг препятствовать развитию некротических, дистрофических и дискомплексаторных нарушений, уменьшать относительно контроля выраженность синдрома цитолиза (уменьшение активности АлАТ), нормализовать показатели свободнорадикального окисления (снижение концентрации ТБК-активных продуктов и нормализация содержания свободных SH-групп), что свидетельствует о наличии гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта. Увеличение дозы до 1200 мг/кг – сопровождалось ухудшением гистологической картины печени, из чего следует, что оптимальной следует считать дозу 600 мг/кг и согласуется с результатами исследования других авторов [58, 126].

Известно, что гепатотоксическое действие ТХМ опосредуется, прежде всего, повреждением мембран гепатоцитов, которое связано с воздействием на липидные компоненты. Многими авторами доказана корреляция между изменениями, происходящими в мембранах паренхиматозных органов с изменениями мембран эритроцитов, что позволяет использовать эритроциты в качестве объекта для оценки тяжести патологических процессов в печени на клеточном уровне [35]. На модели кислотного гемолиза доказано повышение резистентности мембран эритроцитов к повреждающему действию ТХМ и кислотного гемолитика при профилактическом введении животным прессового масла семян амаранта в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 1200 мг/кг. Выявленные изменения вероятно связаны с антиоксидантной активностью и способностью прессового масла семян амаранта изменять структурно-функциональные свойства мембран, что реализуется за счет взаимодействия с белково-липидными комплексами и приводит к снижению проницаемости мембран для ионов  $H^+$ . Полученные данные позволили предположить, что влияние на структурно-функциональные свойства и проницаемость мембран является одним из вероятных механизмов гепатопротекторной активности прессового масла семян амаранта и послужили основанием для дальнейшего исследования его влияния на функциональное состояние печени при интоксикации ксенобиотиками. Важной мотивацией для изучения гепатопротекторной

активности прессового масла семян амаранта являлось наличие в его составе фосфолипидов (8%), среди которых преобладающим компонентом является фосфатидилхолин (до 30%) [58]. Роль дестабилизации мембран гепатоцитов и процессов перекисного окисления липидов в патогенезе токсических поражений печени обуславливает целесообразность введения в организм экзогенных фосфолипидов с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, которые, как известно способны восстанавливать структуру и функции клеточных мембран, активировать мембранные фосфолипидзависимые ферменты и транспортные белки, что способствует поддержанию обменных процессов в клетках печени, повышает ее детоксикационный и экскреторный потенциал [138].

ТХМ является широко используемым в промышленности соединением с известными гепатотоксическими свойствами и применяется для создания классической модели токсического гепатита в эксперименте. Отравление экспериментальных животных ТХМ по биохимическим показателям и морфологической характеристике близко к острым поражениям печени различной этиологии, наблюдаемым у человека [93]. Несмотря на то, что частота острых интоксикаций данным соединением в клинической практике не превышает 5%, смертность достигает 20-96% [37].

Изониазид вызывает острый гепатоцеллюлярный некроз с возможным развитием фульминантной печеночной недостаточности и исходом в цирроз печени [10].

Воспроизведенные модели интоксикации (ТХМ и изониазидом) характеризовались сходными выраженными нарушениями со стороны центральной и периферической нервной системы, сердечно-сосудистой и гепатобилиарной систем, желудочно-кишечного тракта, а также микроциркуляторного русла.

Интоксикация ТХМ сопровождалась гибелью 10% особей в течение первых 4-х суток наблюдения. Изониазид в первые часы интоксикации в 100% случаев вызывал повышение нервно-мышечной возбудимости (клоники-

тонические судороги) и гибель животных в 33% случаев. На фоне введения прессового масла семян амаранта с профилактической целью клонико-тонические судороги (при интоксикации изониазидом) и гибель животных не зафиксированы, что вероятно обусловлено предотвращением повреждающего действия ТХМ и изониазида и их метаболитов на нейроны ЦНС за счет изменения текучести и подвижности фосфолипидной мембраны нейронов под действием экзогенных фосфолипидов.

Наряду с предупреждением гибели, введение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью нивелировало нарушения функциональной активности сердца, уменьшало выраженность симптомов интоксикации, способствуя сокращению в 1,5-2 раза периода нормализации регистрируемых показателей общего клинического состояния животных: при интоксикации ТХМ на 3-и сутки при введении с профилактической целью и 7-е сутки при введении с лечебной целью, против 14-х суток в контроле; при интоксикации изониазидом – на 7-е сутки при введении с профилактической целью и на 10-е сутки при введении с лечебной целью, против 14-х суток в контроле.

Необходимо подчеркнуть, что введение прессового масла семян амаранта с профилактической и лечебной целью уменьшало выраженность симптомов интоксикации, выявленных с использованием эвристической модели процесса поиска животными решения задачи по спасению из эмоционально-физической экстремальной ситуации, предотвращало снижение психомоторной активности и нарушение функции скелетных мышц, развивающиеся вследствие повреждающего действия ТХМ и изониазида на ЦНС и периферическую иннервацию [37, 113]. Уменьшение выраженности нейротоксических осложнений, наряду с предполагаемым влиянием на конформационные свойства мембраны, вероятно обусловлено улучшением общего клинического состояния животных и детоксицирующей функции печени. Следует отметить, что по действию на регистрируемые показатели общего клинического состояния (изменение массы тела и ректальной температуры) эффективность

прессового масла семян амаранта была сопоставима, а по отдельным показателям (динамика потребления корма и воды, СОЭ, при  $p < 0,05$ ) превосходила эффективность препарата ЭФЛ.

Вместе с тем, при применении прессового масла семян амаранта наблюдалось увеличение скорости психомоторной реакции и двигательной активности животных, что по сравнению с показателями препарата ЭФЛ являлось отличительной особенностью масла. Выявленные изменения вероятно связаны с антиоксидантной и антигипоксантажной активностью прессового масла семян амаранта и характеризуются улучшением параметров аэробного метаболизма и адаптационного потенциала, известной по данным клинических исследований у спортсменов [206].

Наличием прокинетического действия, характерного для растительных масел, вероятно обусловлено уменьшение степени выраженности нарушений со стороны ЖКТ, сопровождающихся в контрольной группе животных вздутием желудка и переполнением неперевааренными пищевыми массами, отсутствием дефекаций.

По данным биохимических исследований, интоксикация ТХМ и изониазидом вызывала фульминантное повреждение клеток печени, характеризующееся увеличением уже в 1-е часы после интоксикации активности аминотрансфераз, что свидетельствует о повреждении мембран гепатоцитов, повышении их проницаемости и гибели, вследствие чего наблюдался выход внутриклеточных субстанций в кровь. При этом следует отметить, что воспроизведенные модели интоксикации сопровождались повреждением как мембранных структур гепатоцитов, о чем свидетельствует увеличение в 2 раза ( $p < 0,05$ ) активности аланинаминотрансферазы – фермента, характеризующегося цитоплазматической локализацией, так и внутриклеточных структур, что характеризовалось увеличением более чем в 2 раза ( $p < 0,05$ ) активности аспартатаминотрансферазы, имеющей митохондриально-цитоплазматическую локализацию. Выявленные изменения свидетельствуют о развитии некротических процессов в печени и согласуются с

изменениями в гистологической картине печени, где уже через 24 часа после интоксикации наблюдались дискомплексаторные и дистрофические изменения паренхимы органа, некробиотические, а на фоне интоксикации ТХМ – некротические (множественные очаги колликвационного некроза) изменения.

Дальнейшее прогрессирующее снижение ферментативной активности в контрольной группе протекало на фоне выраженных изменений липидного обмена в печени, о чем свидетельствует увеличение в 1,5-2 раза ( $p < 0,05$ ) содержания общего холестерина на протяжении 7-и суток при интоксикации ТХМ и 10-и суток при интоксикации изониазидом, и в целом свидетельствует о наличии жировой дистрофии печени, которая в дальнейшем (на протяжении 14-и суток при интоксикации ТХМ и 10-и суток при интоксикации изониазидом) была подтверждена гистохимическими исследованиями. Повышение содержания билирубина в 17 раз ( $p < 0,05$ ) на фоне увеличения активности ЩФ на 87,7% ( $p < 0,05$ ) при интоксикации ТХМ, позволило констатировать развитие синдрома внутрипеченочного холестаза.

Введение с профилактической целью прессового масла семян амаранта в первые часы интоксикации ТХМ и изониазидом предотвращало развитие синдрома цитолиза гепатоцитов (уменьшение относительно контроля активности АлАТ на 25-33%; АсАТ на 34%) и достоверно уменьшало его выраженность через 24 часа, о чем свидетельствует нормализация регистрируемых показателей при интоксикации изониазидом и достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение относительно контроля активности АлАТ и АсАТ соответственно в 2,3 раза и 1,5 раза при интоксикации ТХМ. Полученные данные согласуются со значимым уменьшением в гистологической картине печени степени выраженности некроза (при интоксикации ТХМ) и некробиоза гепатоцитов (при интоксикации изониазидом).

Вместе с тем, на фоне применения прессового масла семян амаранта с профилактической целью увеличение активности щелочной фосфатазы через 24 часа после интоксикации ТХМ свидетельствует о наличии синдрома холестаза и согласуется с литературными данными о способности фосфолипидов

индуцировать развитие холестаза при назначении в фазу острого активного гепатита [24], однако возвращение через 72 часа активности щелочной фосфатазы к норме, наряду с выраженным снижением концентрации билирубина, свидетельствует о последующем уменьшении синдрома холестаза, что согласуется с данными других авторов [133].

Полная нормализация активности аминотрансфераз при интоксикации ТХМ наблюдалась к 10-м суткам исследования при введении с профилактической целью и к 7-м (АлАТ) и 10-м суткам (АсАТ) при введении с лечебной целью, тогда как в контрольной группе возвращение к исходной величине активности АлАТ наблюдалось на 10-е сутки, а АсАТ – не зафиксировано на протяжении всего периода наблюдения, который составил 14 суток. При интоксикации изониазидом активность АсАТ нормализовалась к 10-м, а АлАТ – к 14-м суткам наблюдения при профилактическом введении прессового масла семян амаранта, и к 10-м суткам при введении с лечебной целью, тогда как в контрольной группе возвращение к исходной величине данных показателей зафиксировано не было. Вместе с тем, параллельно с улучшением биохимических показателей в гистологической картине печени под действием прессового масла семян амаранта наблюдалось выраженное восстановление гистоархитектоники, а эффективность прессового масла семян амаранта была сопоставима с действием препарата ЭФЛ.

На уменьшение выраженности печеночно-клеточной недостаточности при применении прессового масла семян амаранта указывали и патологоанатомические исследования. Так, опираясь на данные литературы можно высказать предположение о том, что выявленные при проведении патологоанатомического исследования на фоне интоксикации ТХМ и изониазидом массивные кровоизлияния в области магистральных сосудов брыжейки тонкой кишки крыс являлись следствием нарушения процессов синтеза факторов свертывания крови и в частности, согласно результатам наших исследований – протромбина, который, как известно, синтезируется преимущественно в печени. Уменьшение показателя протромбинового времени

при применении прессового масла семян амаранта относительно контроля на 25-40% ( $p < 0,05$ ) вероятно являлось следствием уменьшения степени некробиотических изменений [114] и согласуется с данными гистологических исследований.

Наряду с этим, одним из вероятных механизмов, позволяющих объяснить биохимические изменения в сыворотке крови на фоне интоксикации, является уменьшение активности процессов перекисного окисления липидов. Согласно полученным данным, применение прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации ТХМ и изониазидом способствовало достоверному относительно контроля снижению в сыворотке крови концентрации вторичных продуктов липопероксидации, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в острый период интоксикации (через 1 час), и предотвращало нарастание ТБК-активных продуктов в более поздние сроки, что подтверждает наличие антиоксидантных свойств и согласно литературным данным, связано со способностью масла семян амаранта снижать образование активных форм кислорода и ограничивать процессы перекисного окисления, предотвращая образование наиболее токсичных и стабильных продуктов липопероксидации [126]. По эффективности влияния на данный показатель прессовое масло семян амаранта превосходило препарат ЭФЛ, что вероятно свидетельствует об отсутствии у прессового масла семян амаранта в исследуемой дозе прооксидантного действия и обусловлено наличием липофильных антиоксидантов, таких как токоферолы, каротиноиды и сквален, которые потенцируют эффект фосфолипидов и повышают антиоксидантную активность. Кроме того, следует подчеркнуть, что токоферолы в масле семян амаранта содержатся в редкой токотриенольной форме, которая обуславливает более высокие антиоксидантные свойства [123].

Таким образом, полученные данные о способности прессового масла семян амаранта уменьшать выраженность синдрома цитолиза, свидетельствующего о повреждении цитоплазматической и митохондриальной мембран гепатоцитов, позволяют предположить, что одним из основных

механизмов гепатопротекторного действия прессового масла семян амаранта является ранее доказанная на модели кислотного гемолиза мембранопротекторная активность. Кроме того, одним из вероятных механизмов действия является антитоксическая активность прессового масла семян амаранта, что подтверждается полученными в результате исследования данными о способности прессового масла семян амаранта укорачивать длительность сна, вызываемого гексеналом, и возможно характеризует его способность являться индуктором ферментов микросомальной монооксигеназной системы гепатоцитов семейства цитохрома P450 подсемейства CYP1A, осуществляющего метаболизм барбитуратов [67]. Наряду с этим, по имеющимся литературным данным, входящий в состав масла семян амаранта сквален, достоверно увеличивает скорость выведения хлорсодержащих соединений [190], что так же может обуславливать уменьшение токсического действия ТХМ на организм животных.

Кроме того, необходимо обратить внимание на результаты исследований, выполненных при помощи биомикроскопии брыжейки тонкой кишки крыс. Полученные данные позволили выявить способность прессового масла семян амаранта предотвращать на фоне интоксикации ТХМ и изониазидом нарушения микроциркуляторных процессов, сопровождающихся внутрисосудистой агрегацией эритроцитов, стазированием, деструктивными изменениями стенок микрососудов, диапедезом и наличием кровоизлияний.

Наблюдаемые в контроле при биомикроскопии на фоне интоксикации внутрисосудистые нарушения и стазирование вероятно обусловлены изменениями функциональных свойств эритроцитарной мембраны вследствие сдвига в липидном обмене и согласуются с литературными данными об изменениях на фоне токсического поражения печени содержания различных фракций фосфолипидов во внутреннем и внешних слоях мембраны эритроцитов, что характеризуется уменьшением проницаемости мембраны и усилением ее жесткости [8, 35]. Исходя из этого, можно предположить, что предотвращение выявленных нарушений на фоне применения прессового масла

семян амаранта с профилактической и лечебной целью вероятно связано с изменением эластичности мембран и, соответственно их конформационных свойств за счет восстановления процессов липидного обмена (снижение в сыворотке крови концентрации общего холестерина на 22-35%,  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ), что согласуется со снижением степени и распространенности жировой дистрофии печени.

Поскольку микроциркуляторное звено реагирует как целостная система, то по изучению отдельных областей в определенной мере можно судить о состоянии микроциркуляторных процессов в организме в целом [13]. Подтверждением этого является выявленная под действием прессового масла семян амаранта способность предупреждать нарушения микроциркуляции и кровоснабжения в печени, характеризующиеся отсутствием, в отличие от контроля, признаков расслоения стенок кровеносных сосудов, повышения сосудистой проницаемости, расширения междольковых вен и пространства Диссе.

При этом обращает на себя внимание достоверное увеличение в брыжейке крыс под действием прессового масла семян амаранта на фоне интоксикации ТХМ и изониазидом количества функционирующих капилляров и занимаемой ими площади в 1,3-1,5 раза, что на фоне вазодилатации микрососудов, в частности веноулярного звена микроциркуляции, свидетельствует об увеличении емкости кровеносного русла и улучшении процессов оксигенации. Полученные данные согласуются с результатами исследования на здоровых животных при местном нанесении прессового масла семян амаранта на брыжейку крыс, что в целом, может являться косвенным механизмом антигипоксантажной активности масла.

По результатам экспериментальной оценки острой токсичности установлено, что прессовое масло семян амаранта является малотоксичным (IV класс токсичности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76), что характеризует его важные фармакотоксикологические преимущества в отношении безопасности.

Таким образом, в результате проведенных исследований доказано гепатопротекторное действие прессового масла семян амаранта, сопоставимое по выраженности с эффективностью препарата эссенциальных фосфолипидов, выявлены мембранопротекторные, антиоксидантные и ангиопротекторные свойства, что позволило впервые предложить использование масла семян амаранта для коррекции лекарственно-индуцированных поражений печени, снижения выраженности нейровегетативных, метаболических и микроциркуляторных нарушений при химиотерапии изониазидом.

### **ВЫВОДЫ**

1. Прессовое масло семян амаранта при введении в дозе 600 мг/кг укорачивает длительность гексеналового сна; обладает гепатопротекторным действием (уменьшает выраженность цитолиза в 1,8 раза) и проявляет мембранопротекторную активность (замедляет развитие кислотного гемолиза в 1,5 раза) при интоксикации тетрахлорметаном.
2. Введение прессового масла семян амаранта в дозе 600 мг/кг с профилактической и лечебной целью при интоксикации изониазидом (в дозе 542 мг/кг в течение 6 суток) предупреждает возникновение судорог, нарушения функциональной активности сердца и гибель животных, значительно уменьшает выраженность патологических изменений со стороны центральной и периферической нервной системы, способствует нормализации функции пищеварения и клинического состояния животных на 7 сутки при введении с профилактической целью и на 10 сутки – при введении с лечебной целью.
3. При лекарственно-индуцированном поражении печени, вызываемом изониазидом, прессовое масло семян амаранта в дозе 600 мг/кг снижает степень выраженности синдрома цитолиза (активность АлАТ через 1 час после введения изониазида ниже контроля на 33%), способствуя полной нормализации активности аминотрансфераз на 14 сутки (активность АсАТ ниже контроля на 27%), обеспечивает уменьшение выраженности некробиотических процессов и восстановление гистоархитектоники печени, тормозит процессы

липопероксидации (снижает концентрацию ТБК-активных продуктов на 15-19%), нормализует липидный обмен (снижает содержание общего холестерина на 22-35%), и по эффективности сопоставимо с действием препарата эссенциальных фосфолипидов.

4. Введение прессового масла семян амаранта в дозе 600 мг/кг предотвращает развитие в брыжейке крыс деструктивных нарушений стенок магистральных и микрососудов, выраженно уменьшает образование в микрососудах агрегатов клеток крови и локальных зон стаза на 7 сутки течения интоксикации изониазидом при введении с профилактической целью и на 10 сутки при введении с лечебной целью, вызывает заполнение резервных капилляров и достоверное увеличение занимаемой ими площади в 1,3-1,5 раза.

5. Доказано, что прессовое масло семян амаранта относится к малотоксичным соединениям (IV класс токсичности).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Обоснована возможность использования масла семян амаранта, полученного холодным прессованием зародышей и оболочек семян амаранта, для профилактики и коррекции лекарственно-индуцированных поражений печени, снижения выраженности нейровегетативных, метаболических и микроциркуляторных нарушений при химиотерапии изониазидом, расчетная суточная доза для человека – 600 мг.

## ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- АлАТ – аланинаминотрансфераза
- АсАТ – аспартатаминотрансфераза
- ЛИПП – лекарственно-индуцированные поражения печени
- МКБ – международная классификация болезней
- ПОЛ – перекисное окисление липидов
- ПТП – противотуберкулезные препараты
- СОД – супероксиддисмутаза
- УДХК – урсодезоксихолевая кислота
- ГОСТ – государственный отраслевой стандарт
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- МПД – максимальная переносимая доза
- ООО – общество с ограниченной ответственностью
- РФ – Российская Федерация
- СОЭ – скорость оседания эритроцитов
- ТБК-активные продукты – продукты свободно-радикального окисления, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой
- ТХМ – тетрахлорметан,  $CCl_4$ , син. четыреххлористый углерод
- ТУ – технические условия
- ТР – технический регламент
- ХЧ – химически чистый
- ЦНС – центральная нервная система
- ЧСС – частота сердечных сокращений
- ЩФ – щелочная фосфатаза
- ЭКГ – электрокардиограмма
- ЭФЛ – эссенциальные фосфолипиды
- СУР – цитохром Р450, цитохром Р450-зависимая монооксигеназа
- Т°С – температура, градусы Цельсия

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Астахова А.В. Лекарства. Неблагоприятные побочные реакции и контроль безопасности / А.В. Астахова, В.К. Лепяхин. – 2-е изд. – Москва : Эксмо, 2008. – 256 с.
2. Бакумцева Л.С. Сравнительная оценка тропонина 1 и сердечного белка, связывающего жирные кислоты, в диагностике поражения миокарда у больных туберкулезом легких: дис. ... канд. мед. наук / Л.С. Бакумцева ; Астраханская гос. мед. акад. – Астрахань, 2011. – 115 с.
3. Батищева Г.А. Мониторирование показателей фармакодинамики и клиническая эффективность эссенциальных фосфолипидов в комплексной терапии больных ИБС : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Г.А. Батищева ; Воронежская гос. мед. акад. им. Н.Н. Бурденко. – Москва, 1996. – 24 с.
4. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Ленинград : Государственное издательство медицинской литературы, 1963. – 152 с.
5. Березовская И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях / И.В. Березовская // Токсикологический вестник. – 2010. – № 5 (104). – С. 17-22.
6. Богадельникова И.В. Антибактериальная терапия туберкулеза легких: Учебное пособие / И.В. Богадельникова, М.И. Перельман. – Москва : ММА им. И.М. Сеченова. – 1997. – 80 с.
7. Борзакова С.Н. Лекарственные поражения печени у детей, больных туберкулёзом / С.Н. Борзакова, В.А. Аксёнова, А.Р. Рейзис // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 8. – С. 3-12.
8. Боровская М.К. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцитов и её изменения при патологиях разного генеза / М.К. Боровская, Э.Э. Кузнецова, В.Г. Горохова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 3. – С. 334-354.

9. Буеверов А.О. Возможности лечения лекарственных поражений печени в условиях необходимости продолжения приема гепатотоксичных препаратов / А.О. Буеверов // Леч. врач. – 2009. – № 2. – С. 40-42.
10. Буеверов А.О. Лекарственные поражения печени / А.О. Буеверов // РМЖ – 2012. – № 3. – С. 107-110.
11. Влияние масла амаранта на антиоксидантный и иммунный статус у больных ишемической болезнью сердца и гиперлиппротеидемией / К.В. Гонор [и др.] // Вопросы питания. – 2006. – № 6. – С. 30-33.
12. Влияние масла амаранта на показатели липидного обмена у больных ишемической болезнью сердца и гиперлиппротеидемией / К.В. Гонор [и др.] // Вопросы питания. – 2006. – № 3. – С. 17-21.
13. Влияние соединения РГПУ-147 на микроциркуляцию в условиях хронической алкогольной интоксикации / В.Н. Перфилова и [др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2006. – № 2. – С. 78-81.
14. Возможности использования углеродминерального энтеросорбента СУМС-1 в пульмонологии и фтизиатрии: Библиотека практического врача / М.А. Колпаков и [др.]. – Новосибирск : ИД «Манускрипт», 2003. – 32 с.
15. Возненко А.А. Опыт применения Урсосана в качестве гепатопротекторного средства у больных туберкулезом органов дыхания / А.А. Возненко, В.А. Аксёнов, В.С. Одинец // Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии. – 2011. – № 5. – С. 26-32.
16. Возненко А.А. Лекарственно-индуцированные поражения печени у больных туберкулезом органов дыхания и пути их преодоления : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.А. Возненко ; Ставропольская гос. мед. акад. – Москва, 2012. – 26 с.
17. Волынкина А.П. Клиническая эффективность лечения сахарного диабета 2 типа в сочетании с артериальной гипертонией включением в терапию масел на основе амаранта и подсолнечника: дис. ... канд. мед. наук / А.П. Волынкина ; Воронежская гос. мед. акад. им. Н.Н. Бурденко. – Воронеж, 2008. – 145 с.

18. Вольф С.Б. Применение лечебно-профилактического комплекса у больных туберкулезом с риском развития побочных реакций на противотуберкулезные препараты / С.Б. Вольф // Журнал ГрГМУ. – 2008. – № 4. – С. 81-84.
19. Вплив озонованої олії амаранту на мікрофлору гнійно-нікротических уражень стопи у хворих на цукровий діабет / В.С. Заремба [та ін.] // Фітотерапія. – 2008. – № 2. – С. 25-28.
20. Высочина Г.И. Амарант (*Amaranthus L.*): химический состав и перспективы использования / Г.И. Высочина // Химия растительного сырья. – 2013. – № 2. – С. 5-14.
21. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение : руководство для врачей / под ред. А.В. Калинина. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : МЕДпресс-информ, 2011. – 864 с.
22. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – Москва : Медицина, 1974. – 131 с.
23. Гепатопротекторные эффекты тиофана при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном / В.И. Смольякова [и др.]. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – № 8. – С. 37-40.
24. Гепатопротекторы / С.В. Оковитый [и др.]. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 112 с.
25. Герок В. Заболевания печени и желчевывделительной системы / В. Герок, Х. Блюм. ; пер. с нем. ; под общ. ред. В.Т. Ивашкина, А.А. Шептулина. – Москва : Медпресс-информ, 2009. – 200 с.
26. Гонор К.В. Оценка эффективности масла амаранта в диетотерапии больных ишемической болезнью сердца и гиперлипотеидемией : автореф дис. ... канд. мед. наук ; ГУ НИИ ПИТАНИЯ РАМН. – Москва, 2007. – 26 с.
27. Государственная Фармакопея Российской Федерации XII издание, часть 1. – Москва : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.

28. Государственная Фармакопея Российской Федерации XII издание, часть 2. – Москва : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2010. – 600 с.
29. ГОСТ 32644-2014 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности. – Москва : Стандартинформ, 2015. – 15 с.
30. Гланс С. Медико-биологическая статистика / С. Гланс. – Москва : Практика, 1998. – 459 с.
31. Давыдова В.М. Лекарственные поражения печени у детей / В.М. Давыдова, Г.Ш. Шансурова // Практическая медицина. – 2012. – № 3. – С. 65-71.
32. Демографический ежегодник России, 2014 : стат. сб. / Федер. служба гос. статистики (Росстат). – Москва : Росстат, 2014. – 263 с.
33. Дзюба В.Ф. Биофармацевтические аспекты разработки мази с маслом амаранта для лечения ожоговых и инфицированных ран / В.Ф. Дзюба [и др.] // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2007. – № 1. – С. 142-146.
34. Дзюба В.Ф. Биофармацевтические исследования лекарственных форм с маслом амаранта / В.Ф. Дзюба, Е.Ф. Сафонова, И.В. Фролова // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2007. – № 2. – С. 145-149.
35. Есауленко Е.Е. Гепатопротекторные свойства и метаболические эффекты липофильных продуктов растительного происхождения в эксперименте: дис. ... д-ра биол. наук / Е.Е. Есауленко ; Кубанский гос. мед. университет. – Краснодар, 2014. – 277 с.
36. Ефективність олії з насіння амаранту в комплексному лікуванні пептичної виразки дванадцятипалої кишки (за клініко морфологічними параметрами та варіабельністю ритму серця) / О.О. Абрагамович [та ін.] // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 6 (50). – С. 54-61.
37. Забродский П.Ф. Иммунопатология острой интоксикации тетрахлорметаном (четырёххлористым углеродом). Фармакологическая коррекция / П.Ф. Забродский, С.В. Балашов. – Саратов, 2012. – 157 с.

38. Заремба В.С. Корекція метаболічних порушень у хворих із синдромом діабетичної стопи шляхом проведення голкорексфлексотерапії та вживання олії амаранту / В.С. Заремба // Запорозж. мед. журн. – 2007. – № 5. – С. 85-89.
39. Застосування олії амаранту для лікування шкірних уражень при системних автоімунних захворюваннях / Є.Х. Заремба [та ін.] // Фітотерапія. Часопис. – 2007. – № 4. – С. 22-25.
40. Застосування олії амаранту у кардіологічній практиці / Є.Х. Заремба [та ін.] // Фітотерапія. Часопис. – 2010. – № 1. – С. 15-18.
41. Иванова Д.А. Нежелательные побочные реакции при лечении больных туберкулезом / Д.А. Иванова // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 6. – С. 60-69.
42. Иванова Д.А. Побочные реакции при лечении впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания / Д.А. Иванова, С.Е. Борисов // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – Т. 88, № 4. – С. 161.
43. Иванова Д.А. Частота и риск развития тяжелых нежелательных реакций при лечении впервые выявленных больных туберкулезом / Д.А. Иванова, С.Е. Борисов, А.М. Рыжов // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 12. – С. 15-22.
44. Изучение фосфолипидного состава амарантового масла / В.Ф. Селеменев [и др.] // Новые и нетрадиционные растения и перспектива их использования : материалы 4-го Международного симпозиума. – Москва, Пущино. – 2001. – С. 99-101.
45. Калягин А.Н. Лекарственные поражения печени: роль медицинской сестры / А.Н. Калягин, Е.И. Поблинкова // Альманах сестринского дела. – 2012. – Т. 5, № 1-2. – С. 7-11.
46. Кардиотоксический эффект изониазида / Н.С. Гриценко [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2009. – Т. 4. – № 2. – С. 131-134.
47. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования / Н.Н. Каркищенко. – Москва : Межакадемическое изд-во ВПК, 2004. – 607 с.
48. Клиническая биохимия / А.Я. Цыганенко [и др.]. – Москва : Триада-Х, 2002. – 504 с.

49. Клиническая фармакогенетика : учебное пособие / под ред. В.Г. Кукеса, Н.П. Бочкова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 248 с.
50. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты : руководство / под. ред. В.Г. Кукеса. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 432 с.
51. Клиническое значение лечебно-диетической коррекции белково-энергетической недостаточности у детей, подростков и взрослых, больных туберкулезом органов дыхания / В.А. Аксенова [и др.] // Пульмонология. – 2010. – № 3. – С. 73-78.
52. Клочков А.Е. Клинико-диагностические особенности лекарственного панкреатита, развившегося при лечении туберкулеза легких / А.Е. Клочков, Н.Б. Губергриц // Сучасна гастроентерологія. – 2012. – Т. 66, № 4. – С. 31-36.
53. Козярин И.П. Амарант хвостатый – ценное пищевое и лекарственное растение / И.П. Козярин, Г.Н. Липкан // Фітотерапія. Часопис. – 2009. – № 3. – С. 60-63.
54. Колла В.Э. Дозы лекарственных средств и химических соединений для лабораторных животных / В.Э. Колла, Б.Я. Сыропятов. – Москва : Медицина, 1998. – 263 с.
55. Колпакова Т.А. Осложнения антибактериальной терапии у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующими заболеваниями : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Т.А. Колпакова ; Новосибирская гос. мед. акад. – Новосибирск, 2002. – 38 с.
56. Колпакова Т.А. Проблемы коморбидности в клинике легочного туберкулеза / Т.А. Колпакова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 2. – С. 48-51.
57. Комплексна оцінка впливу олії з насіння амаранту на функціонально-метаболічний резерв у хворих на цукровий діабет 1-го типу / О.П. Єлісеєва [та ін.] // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2007. – Вип. 44. – С. 135-145.
58. Коренская И.М. Фармакогностическое изучение семян различных сортов амаранта печального (*Amaranthus hypochondriacus* L.): дис. ... канд. фарм. наук / И.М. Коренская ; Воронежский гос. университет. – Пермь, 2013. – 203 с.

59. Королева М.В. Гепатопротекторные свойства и фармакодинамика лекарственных средств, влияющих на метаболические процессы, у больных с экзогенно-токсическими поражениями печени: дис. ... д-ра мед. наук / М.В. Королева ; Волгоградский гос. мед. университет. – Волгоград, 2015. – 353 с. [Электронный ресурс]
60. Коррекция дисбиоза кишечника у больных туберкулезом детей раннего и дошкольного возраста в процессе комплексной химиотерапии / А.Н. Юсубова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 8. – С. 26-28.
61. Коршунов Д.А. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на метаболические процессы при экспериментальном повреждении печени потенциально гепатотоксическими лекарственными средствами : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д.А. Коршунов; Сибирский гос. мед. университет. – Томск, 2010. – 26 с.
62. Куприянов В.В. Микроциркуляторное русло / В.В. Куприянов, Я.Л. Караганов, В.И. Козлов. – Москва : Медицина, 1975. – 216 с.
63. Куценко С.А. Основы токсикологии : учебное пособие / С.А. Куценко. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2002. – 395 с.
64. Кучерявый Ю.А. Гепатопротекторы: рациональные аспекты применения : учебное пособие / Ю.А. Кучерявый, С.В. Морозов. – Москва : Форте Принт, 2012. – 36 с.
65. Кучменко О.Б. Вплив амарантової олії на активність тромбопластину серця за умов іммобілізаційного стресу / О.Б. Куменко // Мед. хімія. – 2004. – № 1. – С. 19-22.
66. Кьяра Де Люка. Сквален как акцептор прооксидантных воздействий на кожу человека: дис. ... канд. биол. наук / Де Люка Кьяра ; Российский гос. мед. университет. – Москва, 2002. – 108 с.
67. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – Москва : Новая волна, 2014. – 1216 с.
68. Меркулов Г.В. Курс патогистологической техники / Г.В. Меркулов. – Ленинград : Медгиз, 1968. – 339 с.

69. Меркулов С.А. Лекарственно-индуцированные поражения печени у больных туберкулезом легких: оптимизация лечения и профилактики: дис. ... канд. мед. наук / С.А. Меркулов ; Волгоградский гос. мед. университет. – Волгоград, 2014. – 196 с.
70. Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: Руководство для врачей / В.Г. Кукес [и др.]. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 304 с.
71. Методы клинических лабораторных исследований / под ред. проф. В.С. Камышникова. – 6-е изд., перераб. – Москва : МЕДпресс-информ, 2013. – 736 с.
72. Методы морфологических исследований : метод. пособие / С.М. Сулейманов [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – Воронеж : ВГАУ, 2012. – 103 с.
73. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия) / под ред. И.В. Саноцкого. – Москва : Медицина, 1970. – 342 с.
74. Микроскопическая техника : руководство / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – Москва : Медицина, 1996. – 544 с.
75. Мирошниченко Л.А. Влияние амарантового и подсолнечного масел, используемых в диетотерапии больных сахарным диабетом типа 2 на показатели углеводного и липидного обмена / Л.А. Мирошниченко [и др.] // Вопросы питания. – 2008. – Т. 77, № 6. – С. 53-57.
76. Мирошниченко Л.А. Влияние диетотерапии с использованием подсолнечного масла и масла амаранта на показатели иммунной реактивности у больных сахарным диабетом типа 2 / Л.А. Мирошниченко [и др.] // Вопросы питания. – 2009. – Т. 78, № 4. – С. 30-36.
77. Мирошниченко Л.А. Физиолого-биохимические аспекты онтогенеза амаранта (*amaranthus L*) при возделывании в центрально-черноземном регионе: дис. ... канд. биол. наук / Л.А. Мирошниченко ; Воронежский гос. университет. – Воронеж, 2008. – 163 с.
78. Мишин В.Ю. Медикаментозные осложнения комбинированной химиотерапии туберкулеза легких / В.Ю. Мишин. – Москва : МИА, 2007. – 248 с.

79. Мишин В.Ю. Оптимизация лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких на основе принципов доказательной медицины / В.Ю. Мишин // *Consilium medicum*. – 2008. – № 3. – С. 20-25.
80. Мишин В.Ю. Побочное действие противотуберкулезных препаратов при стандартных и индивидуализированных режимах химиотерапии / В.Ю. Мишин. – Москва : Изд-во «Компьютербург», 2004. – 208 с.
81. Мордык А.В. Кардиотоксические реакции при химиотерапии туберкулеза: клинические проявления, патогенез / А.В. Мордык, В.Т. Долгих // *Туберкулез и болезни легких*. – 2010. – № 11. – С. 43-48.
82. Мордык А.В. Клинико-рентгенологические характеристики и эффективность лечения больных инфильтративным туберкулезом лёгких с различными изменениями вегетативного гомеостаза / А.В. Мордык, О.Г. Иванова // *Туберкулез и болезни лёгких*. – 2010. – № 5. – С. 31-34.
83. Мордык А.В. Патогенез и обоснование способов коррекции кардиотоксического действия противотуберкулезных препаратов : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.В. Мордык ; Омская гос. мед. акад.. – Омск, 2010. – 43 с.
84. Мордык А.В. Частота и патогенез неблагоприятных побочных реакций на противотуберкулезные препараты / А.В. Мордык // *Вестник современной клинической медицины*. – 2010. – Т. 3, № 1. – С. 16-21.
85. Мохирева Л.В. Эффективность применения комбинированных противотуберкулезных препаратов у больных впервые выявленным туберкулезом легких: дис. ...д-ра мед. наук / Л.В. Мохирева; ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» РАМН. – Москва, 2014. – 277 с.
86. Мухаммед А.А. Исследование гипополидемических свойств веществ природного происхождения на основе чеснока, растительных масел и пищевых волокон: дис. ... канд. фарм. наук / А.А. Мухаммед ; Первый московский гос. мед. университет имени И.М. Сеченова. – Волгоград, 2014. – 165 с.

87. Нечаева О.Б. Мониторинг и оценка изменений эпидемиологических показателей по туберкулезу в Российской Федерации / О.Б. Нечаева // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 8. – С. 16-22.
88. Нигматуллина А.В. Изменение микроциркуляторного русла печени при острой интоксикации в эксперименте / А.В. Нигматуллина, Х.С. Бикмухаметова, Э.И. Дашкина // Микроциркуляторное русло соединительнотканых образований : сб. науч. тр. – Уфа, 1988. – С. 92.
89. Никитин И.Г. Гепатопротекторы: мифы и реальные возможности / И.Г. Никитин // Фарматека. – 2007. – № 13. – С. 14-18.
90. Новые возможности диагностики и перспективы лечения поражений печени у детей / Ю.В. Лобзин [и др.] // Журнал инфектологии. – 2010. – № 2. – С. 6-13.
91. О побочных нейротоксических реакциях при химиотерапии туберкулеза и их лечении / А.В. Лысов [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2006. – № 9. – С.45-48.
92. Определение сквалена в семенах некоторых растений семейства *Amaranthaceae* / Л.А. Дейнека [и др.] // Химия растительного сырья. – 2008 – № 4. – С. 69-74.
93. Особенности регуляторных механизмов компенсации диффузного поражения печени при токсическом воздействии четыреххлористого углерода и полигексаметиленгуанидингидрохлорида / С.Ю. Медведева и [др.] // Клиническая токсикология. – 2014. – № 5. – С. 366-380.
94. Особливості впливу олії з насіння амаранта на стан антиоксидантної системи печінки та крові мишей за розвитку в них злоякісної лімфоми / О.П. Єлісеєва [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2006. – Т. 78, № 1. – С. 117-123.
95. Особливості кореляційних зв'язків між параметрами аеробного метаболізму та варіабельністю серцевого ритму у пацієнтів з різних функціональних груп: теоретичні та практичні аспекти / О.П. Єлісеєва [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 82-83.
96. Офицеров Е.Н. Комплексная переработка семян растений рода *Amaranthus* L. / Е.Н. Офицеров // Вестник биотехнологии. – 2007. – № 4. – С 41-52.

97. Оценка значимости побочных реакций противотуберкулезных препаратов при лечении туберкулеза / Ю.И. Фещенко [и др.] // Укр. Мед. Часопис. – 2008. – Т. 3(65), № 5/6. – С. 117-125.
98. Павловський М.П. Вплив олії амаранту, насиченої синглетним киснем, на характер загальних адаптаційних реакцій у хворих із синдромом діабетичної стопи / М.П. Павловський, В.С. Заремба, Ю.А. Котик // Фітотерапія. – 2007. – № 3. – С. 3-9.
99. Пат. 114147 Российской Федерации, МПК G01B 5/26. Палетка для планиметрических измерений объектов в биологии и медицине / А.В. Бузлама, Ю.Н. Чернов, А.И. Сливкин. ; заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО ВГУ. – № 2010135853/28 ; заявл. 26.08.2010, опубл. 10.03.2012, Бюл. № 7. – 2 с.
100. Пат. 2170096 Российской Федерации, МПК А61К35/78. Иммуностимулирующее средство / Н.Е. Чернеховская [и др.] ; заявитель и патентообладатель Чернеховская Н.Е. – № 2000128729/14 ; заявл. 17.11.2000 ; опубл. 10.07.2001.
101. Пат. 2214264 Российской Федерации, МПК А61К35/78. Лечебный препарат «Амафор-250» / А.Е. Медведев ; заявитель и патентообладатель ООО «АМАФОР». – № 2002118860/14 ; заявл. 17.07.2002 ; опубл. 20.10.2003.
102. Пат. 2312667 Российской Федерации, МПК А61К35/30, А61Р43/00. Способ лечения побочных нейротоксических реакций, вызванных противотуберкулезными препаратами / А.В. Лысов, А.В. Мордык, А.В. Кондря ; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия. – №2006118088/14 ; заявл. 25.05.2006 ; опубл. 20.12.2007 // Бюл. № 35. – 7 с.
103. Пат. 2353360 Российской Федерации, МПК А61К31/4409, А61К31/4412, А61Р25/00. Способ лечения лекарственных полинейропатий, вызванных противотуберкулезными препаратами / А.В. Лысов [и др.] ; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия. – № 2007108214/14 ; заявл. 05.03.2007 ; опубл. 27.04.2009 // Бюл. № 12. – 7 с.

104. Пат. 2354371 Российской Федерации, МПК А61К31/415, А61Р11/00. Способ коррекции психовегетативных дисфункций и профилактики нейро- и кардиотоксических реакций полихимиотерапии у больных туберкулезом / А.В. Лысов [и др.] ; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия. – № 2007143725/14 ; заявл. 26.11.2007 ; опубл. 10.05.2009 // Бюл. №13. – 8 с.
105. Пат. 2362558 Российской Федерации, МПК А61К31/4412, А61Р43/00. Способ профилактики побочных нейро-, кардио- и гепатотоксических реакций на противотуберкулезные препараты / А.В. Лысов [и др.] ; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия. – № 2007140838/14; заявл. 02.11.2007 ; опубл. 27.07.2009 // Бюл. № 21. – 6 с.
106. Пат. 2209233 Российской Федерации, МПК С11В1/00, С11В1/06. Способ переработки семян амаранта с извлечением масла, получением белкового и крахмального продуктов / М.В. Калиничева ; заявитель и патентообладатель М.В. Калиничева, Л.А. Мирошниченко, В.Т. Сироткин. – № 2002119680/13 ; заявл. 24.07.2002 ; опубл. 27.07.2003.
107. Пат. 2169734 Российской Федерации, МПК С07F9/09. Способ разделения фосфолипидов / В.Ф. Селеменев [и др.] ; заявитель и патентообладатель Воронежский государственный университет. – № 99125174/04 ; заявл. 30.11.1999 ; опубл. 27.06.2001.
108. Патогенетичне обґрунтування застосування олії амаранту в клінічній практиці / Є.Х. Заремба [та ін.] // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2010. – Вип. 4. – С. 19-32.
109. Петров В.И. Клиническая фармакология лекарственных средств, применяемых при заболеваниях печени, желчевыводящих путей и поджелудочной железы / В.И. Петров, А.В. Сабанов, М.Ю. Фролов // Клиническая фармакология: национальное руководство / под ред. Ю.Б. Белоусова [и др.] – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – С. 831-875.

110. Петров В.И. Клиническая фармакология и фармакотерапия в реальной врачебной практике. Мастер-класс : учебник / В.И. Петров. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 880 с.
111. Плотичер С.М. Лабораторные диагностические исследования / С.М. Плотичер. – Киев : Здоров'я, 1965. – 515 с.
112. Плохинский Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский. – Москва : Издательство Московского университета, 1970. – 367 с.
113. Побочные действия противотуберкулезных препаратов и методы их устранения : учебное пособие / Г.С. Баласанянц, Д.С. Суханов, Д.Л. Айзиков. – 2-е изд., доп. – Санкт-Петербург : Изд-во «Тактик-Студио», 2011. – 88 с.
114. Подымова С.Д. Болезни печени / С.Д. Подымова. – Москва : Медицина, 2005. – 768 с.
115. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг [и др.]. – Москва : Медицина, 1978. – 176 с.
116. Полунина Т.В. Медикаментозные гепатиты / Т.В. Полунина, И.В. Маев // Фарматека. – 2006. – № 12(127). – С. 63-71.
117. Постановление Правительства Российской Федерации от 1 декабря 2004 г. № 715 Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и заболеваний, представляющих опасность для окружающих.
118. Практикум по биофизике / В.Г. Артюхов [и др.]. – Воронеж : Изд-во ВГУ, 2001. – С. 147–161.
119. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21.03.2003 № 109 О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации.
120. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 26 апреля 2006 г. № 316 О внесении изменений в Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 5 августа 2003 г. № 330 О мерах по совершенствованию лечебного питания в лечебно-профилактических учреждениях Российской Федерации.

121. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 21 июля 2006 г. № 572 Об утверждении стандарта медицинской помощи больным туберкулезом.
122. Применение амарантового масла в терапевтической стоматологии / К.М. Резников [и др.] // Актуальные проблемы создания новых лекарственных средств : тезисы докладов Всероссийской научной конференции. – Санкт-Петербург, 1996. – С. 155.
123. Применение масла амаранта в диетотерапии сердечно-сосудистых заболеваний : методические рекомендации – 2-е изд., стереотипное / под. ред. В.А. Тутельяна. – Воронеж, 2011. – 32 с.
124. Регенерационные и противоопухолевые свойства амарантового масла / А.М. Макеев [и др.] // Новые и нетрадиционные растения и перспектива их использования : материалы III международного симпозиума. – Москва, 1999. – С. 100-103.
125. Рейзис А.Р. Современные проблемы лекарственных поражений печени при туберкулезе / А.Р. Рейзис, С.Н. Борзакова, В.А. Аксенова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2009. – № 4. – С. 3-8.
126. Роль процессов свободнорадикального окисления в механизме гепатопротекторного действия масла из семян амаранта / Г.Н. Блинецова [и др.] // Биомедицина. – 2006. – № 2. – С. 105-112.
127. Российская энциклопедия биологически активных добавок к пище : учебное пособие / под общ. ред. В.И. Петрова, А.А. Спасова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1056 с.
128. Рубина Х.М. Количественное определение SH-групп в цельной и депротеинизированной крови спектрофотометрическим методом / Х.М. Рубина, Л.А. Романчук // Вопр. мед. химии. – 1961. – № 7(6). – С. 652-655.
129. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях : учебное пособие / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – Москва : Профиль, 2010. – 358 с.

130. Руководство по лечению туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью / под ред. А.Д. Пасечникова, М.Р. Рич. – М. : Partners in Health, 2003. – 173 с.
131. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1. / под ред. А.Н. Миронова. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
132. Сабадаш Е.В. Таурин: возможности использования в лечении туберкулеза / Е.В. Сабадаш // Актуальные вопросы лечения туберкулеза различных локализаций : материалы всерос. науч.-практ. конф. / под ред. Ю.Н. Левашева. – Санкт-Петербург, 2008 – С. 73-75.
133. Салей А.П. Амарантовое масло снижает уровень холестаза у крыс, индуцированный тетрахлорметаном / А.П. Салей, М.Ю. Мещерякова, Л.В. Карташова // Физиология и психофизиология мотивации : сб. науч. тр. – Воронеж, 2005. – С. 53-55.
134. Салей А.П. Лейкограмма и лейкоцитарные индексы при действии амарантового масла на организм / А.П. Салей // Физиология и психофизиология мотивации : сб. науч. тр. – Воронеж, 2005. – С. 55-59.
135. Сафонова Е.Ф. Выделение и изучение фосфолипидов масла семян амаранта : автореф. дис. ... канд. хим. наук / Е.Ф. Сафонова; Воронежский гос. университет. – Москва, 2004. – 28 с.
136. Сепетлиев Д.А. Статистические методы в научных медицинских исследованиях / Д.А. Сепетлиев. – Москва : Медицина, 1968. – 420 с.
137. Середенин С.Б. Лекции по фармакогенетике / С.Б. Середенин. – Москва : МИА, 2004. – 304 с.
138. Скрипник И.Н. Эссенциальные фосфолипиды в лечении и профилактике медикаментозных поражений печени / И.Н. Скрипник // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 4. – С. 22-31.
139. Сливкин А.И. Соединения с противотуберкулезной активностью: синтез, структура, механизм действия / А.И. Сливкин. – Воронеж : Издательство Воронежского государственного университета, 2000. – 264 с.

140. Смирнова Е.А. Протекторное действие глипролинов и семакса на стрессогенные нарушения микроциркуляции в брыжейке крыс: дис. ... канд. биол. наук / Е.А. Смирнова ; МГУ им. М.В. Ломоносова. – Москва, 2004. – 124 с.
141. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – Москва : Медицина, 1977. – 392 с.
142. Сравнительное изучение гепатопротекторных препаратов «Эссенциале Форте Н», «Фосфоглив», «Эссливер Форте» / И.А. Василенко [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2010. – № 6. – С. 352-354.
143. Столяров Г.В. Лекарственные психозы и психотомиметические средства / под ред. В. М. Банникова. – Москва : Медицина, 1964. – 455 с.
144. Суханов Д.С. Гепатопротекторные средства в терапии поражений печени противотуберкулезными препаратами : учебное пособие / Д.С. Суханов, С.В. Оковитый – Санкт-Петербург : Издательство Тактик-Студио, 2012. – 64 с.
145. Суханов Д.С. Фармакотерапия лекарственных поражений печени при туберкулезе (экспериментально-клиническое исследование) : дис. ... д-ра мед. наук / Д.С. Суханов ; Северо-западный гос. мед. университет им. И.И. Мечникова. – Санкт–Петербург, 2014. – 273 с.
146. Терехова Т.С. Качественное и количественное определение сквалена в маслах и реакционных смесях методом ВЭЖХ / Т.С. Терехова, А.В. Фурсова, Е.Н. Офицеров // Успехи в химии и химической технологии. – 2013. – Т. 27, № 4(144). – С. 84-89.
147. Технический регламент таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».
148. Технический регламент таможенного союза 024/2011 «Технический регламент на масложировую продукцию»
149. Титюхина М.В. Коррекция метаболических нарушений у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующими заболеваниями / М.В. Титюхина, Ф.А. Батыров, З.Х. Корнилова // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 2. – С. 49-53.

150. Ткач С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины / С.М. Ткач // Здоровье Украины. – 2009. – № 6. – С.7-10.
151. Туберкулез в Российской Федерации 2011 г. Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской Федерации и в мире. – Москва, 2013. – 280 с.
152. Туберкулез. Руководство для врачей / под ред. А.Г. Хоменко. – Москва : Медицина, 1996. – 496 с.
153. Удлинение интервала Q-T на фоне приема изониазида (описание случая и обзор литературы) / Л.М. Макаров [и др.] // Терапевтический архив. – 2003. – № 12. – С. 54-58.
154. Удут В.В. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на процессы апоптоза при экспериментальной патологии печени, вызванной изониазидом и парацетамолом / В.В. Удут, А.И. Венгеровский, А.М. Дыгай // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 11. – С. 568-572.
155. Удут В.В. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на перекисное окисление липидов печени и содержание цитокинов крови при экспериментальной патологии, вызванной изониазидом / В.В. Удут [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2012. – № 6. – С. 47-52.
156. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Выпуск XV. – Москва : «Эхо», 2013. – 1020 с.
157. Фетисов Ю.И. Изучение механизмов возникновения эндотоксикоза при различных формах туберкулеза легких до и после лечения : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю.И. Фетисов. – Новосибирск, 1997. – 23 с.
158. Фонофорез амарантового масла при лечении некоторых заболеваний слизистой оболочки полости рта / С.Н. Панкова [и др.] // Новые и нетрадиционные растения и перспектива их использования : матер. 2-го Международного симпозиума – Москва ; Пущино, 1997. – Т. 1. – С. 152-153.

159. Химиотерапия туберкулеза: проблемы и перспективы / И.А. Васильева [и др.] // Вестник РАМН. – 2012. – № 11. – С. 9-14.
160. Химический состав растений рода *Amaranthus* L. / Е.Н. Офицеров и [др.] // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования : материалы I Международного симпозиума. – Москва ; Пущино, 1995. – Т. 1. – С. 28-29.
161. Хомерики С.Г. Лекарственные поражения печени: Учебное пособие для врачей / С.Г. Хомерики, Н.М. Хомерики. – Москва : Форте Принт, 2012. – 40 с.
162. Частота неблагоприятных реакций химиопрепаратов при лечении туберкулеза у детей и подростков с выделением доли кардиотоксических реакций и факторы, влияющие на их развитие / А.В. Мордык [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 1. – С. 39-43.
163. Частота, характер и факторы риска лекарственно-индуцированного поражения печени при лечении впервые выявленных больных туберкулёзом / Д.А. Иванова и [др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – Т. 90, № 11. – С. 25–31.
164. Чернов А.О. Опыт применения гепатопротектора «Эссливер форте» для коррекции побочных эффектов противотуберкулезной терапии / А.О. Чернов // Русский медицинский журнал. – 2003. – № 22. – С. 1238-1239.
165. Чернов Ю.Н. Патологические изменения клеточных мембран при ишемической болезни сердца и возможные пути фармакологической коррекции / Ю.Н. Чернов, М.В. Васин, Г.А. Батищева // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1994. – Т. 57, № 4. – С. 67-72.
166. Чернов Ю.Н. Экспериментальная модель эвристических решений в опытах на крысах для фармакологического скрининга / Ю.Н. Чернов, М.В. Васин, С.Н. Комарова // Фармакология и токсикология. – 1989. – Т. 52, № 4. – С. 96—99.
167. Чернух А.М. Микроциркуляция / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.В. Алексеев. – Москва : Медицина, 1975. – 456 с.
168. Чиркова Т.В. Амарант – культура XXI века / Т. В. Чиркова // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 10 (47). – С. 22-27.

169. Щербакова Е.М. Заболеваемость туберкулезом и ВИЧ-инфекцией сравнивались / Е.М. Щербакова // Демоскоп Weekly. – 2015. – № 637-638 [Электронный ресурс].
170. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / В.А. Волчегорский [и др.]. – Челябинск : ЧГПУ, 2000. – 167 с.
171. Экспериментальная фармакология – принципы, модели, анализ / А.В. Бузлама [и др.]. – Воронеж : ИПЦ ВГУ, 2013. – 363 с.
172. Эластография в клинической гепатологии (частные вопросы) / А.В. Борсуков и [др.]. – Смоленск : Смоленская городская типография, 2011. – 276 с.
173. Энтеросорбция / под ред. Н.А. Белякова. – Ленинград, 1991. – 336 с.
174. Эссенциальные фосфолипиды в терапии неалкогольных стеатогепатитов / Л.Б. Лазебник [и др.] // Consilium medicum. – 2007. – № 7. – С. 23-28.
175. Activity of oil isolated from Amaranth seeds on energetic functions of rat liver mitochondria after adrenaline introduction / T.V. Sirota // Ukr. Biokhim. Zh. – 2007. – Vol. 79, № 5. – P. 196-203.
176. Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension / D.M. Martirosyan [et al.] // Lipids in Health and Disease. – 2007. – Vol. 6, № 1. – P. 1476-1511.
177. Amaranth squalene reduces serum and liver lipid levels lipid rats fed a cholesterol diet / D.H. Shin [et al.] // Br. J. Biomed. Sci. – 2004. – Vol. 61, № 1. – P. 11-14.
178. Becker R. Preparation, composition and Nutritions of Amaranth Seed Oil / R. Becker // Cereal Food (CFW). – 1989. – Vol. 34, № 11. – P. 950-953.
179. Boice J. Late effects following izoniazid therapy / J. Boice, J. Fraumeni // Am. J. Public Health. – 1980. – Vol. 70. – P. 987-989.
180. Carotenoids, tocopherols and thiols as biological singlet molecular oxygen quenchers / P. DiMarsio [et al.] // Biochem. Soc. Tran. – 1990. – Vol. 6. – P. 1054-1056.

181. Cholesterol lowering properties of amaranth gram and oil in hamsters / A. Berger [et al.] // *Inl. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2003. – Vol. 73, № 1. – P. 39-47.
182. Dietary squalene increases high density lipoprotein-cholesterol and paraoxonase 1 and decreases oxidative stress in mice / C. Gabás-Rivera [et al.] // *Plos One.* – 2014. – Vol. 9, № 12. – P. 1-8.
183. Einfluence of dyetotherapy with amaranth and sunflower oil sonthe lipid and carbohydrate exchange of diabetic patients with obesity / V.I. Zoloedov [et al.] // *Functional Foods for Chronic Diseases.* – 2009. – Vol. 4. – P. 55-66.
184. Eminzade S. Silymarin protects liver against toxic effects of anti-tuberculosis drugs in experimental animals / S. Eminzade, F. Uras, F.V. Izzettin // *Nutr. Metab. (Lond).* – 2008. – Vol. 18, № 5. – P. 1–8.
185. Heidari R. Cytoprotective effect soft taurine against toxicity induced by isoniazid and hydrazine in isolate drat hepatocytes / R. Heidari, H. Babaei, M.A. Eghbal // *Arh. Hig. Rada Toksikol.* – 2013. – Vol. 64, № 2. – P. 15–24.
186. In vitro antioxidant effect and inhibition of o-atnilase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds / F. Conforti [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* – 2005. – Vol. 28, № 6. – P. 1098-1102.
187. Incidence of serious side effects from first-line anti tuberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis / D. Yee [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 167, № 11. – P. 1472-1477.
188. Isoniazid-induced recurrent pancreatitis / S. Mattioni [et al.] // *JOP.* – 2012. – Vol. 13, № 3. – P. 314-316.
189. Kelly G.S. Squalene and its potential clinical uses / G.S. Kelly // *Altern. Med. Rev.* – 1999. – Vol. 4. – P. 29–36.
190. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol / Y. Kohno [et al.] // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1995. – Vol. 1256, № 1. – P. 52–56.
191. Klimczak I. Antioxidant activity of ethanolic extractus of amaranth seeds / I. Klimczak, M. Malecka, B. Pacholek // *Nahrung.* – 2002. – Vol. 46, № 3. – P. 184-186.

192. Konyk U.V. Metabolic effect of amaranth oil and impulse hypoxic training under chronic fluoride intoxication and small doses of ionizing radiation / U.V. Konyk, M.P. Hzhchots'kyi, S.M. Koval'chuk // *Fiziol. Zh.* – 2002. – Vol. 48, № 6. – P. 80-85.
193. Niki E. Lipid oxidation in the skin / E. Niki // *Free Radic. Res.* – 2015. Vol. 49, № 7. – P. 827-834.
194. Olive oil in cancer prevention and progression / E. Escrich [et al.] // *Nutrition Reviews.* – 2006. – Vol. 64, № 10. – P. 40-52.
195. Pandey A.S. Isoniazid-induced recurrent acute pancreatitis / A.S. Pandey, A. Surana // *Trop. Doct.* – 2011. – Vol. 41, № 4. – P. 249-250.
196. Paumgartner G. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited / G. Paumgartner, U. Beuers // *Hepatology.* – 2002. – Vol. 36, № 3. – P. 525–531.
197. Qureshi A.A. Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female chickens / A.A. Qureshi, I.W. Lehmann, D.M. Peterson // *Journal of Nutrition.* – 1996. – Vol. 126, № 8. – P. 1972-1978.
198. Recurrent acute pancreatitis after isoniazid / K.M. Chow [et al.] // *Neth. J. Med.* – 2004. – Vol. 62, № 5. – P. 172-174.
199. Richter P. The effect of squalene on the absorption of dietary cholesterol by the rat / P. Richter, S.G. Schafer // *Res. Exp. Med.* – 1982. – Vol. 180. – P. 189-191.
200. Role of oxidative stress and nitric oxide in the protective effects of alpha-lipoic acid and aminoguanidine against isoniazid-rifampicin-induced hepatotoxicity in rats / E.I. Saad [et al.] // *Food Chem Toxicol.* – 2010. – Vol. 48, № 7. – P. 1869–1875.
201. Secular increase in the incidence rate of drug-induced hepatitis due to anti-tuberculosis chemotherapy including isoniazid and rifampicin / N. Nagayama [et al.] // *Kekkaku.* – 2003. – Vol. 78, № 4. – P. 339-346.
202. Sherwin E.R. Antioxidants for vegetable oils / E.R. Sherwin // *J. Amar. Oil Chem. Soc.* – 1976. – Vol. 53, № 6. – P. 430-436.
203. Squalene – natural resources and applications / I. Popa [et al.] // *Farmacia.* – 2014.–Vol. 62, № 5. – 840-863.

204. Study of Aerobic Metabolism Parameters and Heart Rate Variability and Their Correlations in Elite Athletes: a Modulatory Effect of Amaranth Oil / O. Yelisyeyeva [et al.] // *Cemed.* – 2009. – Vol. 3, № 2. – P. 293-307.
205. Synchronized Analysis of FTIR Spectra and GCMS Chromatograms for Evaluation of the Thermally Degraded Vegetable Oils / S.F. Sim [et al.] // *J. of Analytical Methods in Chemistry.* – 2014. – P. 1-9.
206. The effect of Amaranth oil on monolayers of artificial lipids and hepatocyte plasma membranes with adrenalin-induced stress / O.P. Yelisyeyeva [et al.] // *Food Chemistry.* – 2014. – Vol. 147. – P. 152-159.
207. The WHO 2014 global tuberculosis report-further to go / A. Zumla [et al.] // *Lancet Glob. Health.* – 2015. – Vol. 3, № 1. – P. 10-12.
208. Tikekar R.V. Processing stability of squalene in amaranth and antioxidant potential of amaranth extract / R.V. Tikekar, R.D. Ludescher, M.V. Karwe // *J. Agric. Food Chem.* – 2008. – Vol. 56. – P. 10675-10678.
209. Use of molecular simulation for mapping conformational CYP2E1 epitopes / M. Vidali [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 49. – P. 50949-50955.
210. Victorrajmohan C. Influence of silymarin administration on hepatic glutathione-conjugating enzymes system in rats treated with antitubercular drugs / C. Victorrajmohan, K. Pradeep, S. Karthikeyan // *Drugs R. D.* – 2005. – Vol. 6, T 6. – P. 395-400.
211. Waterman E. Active components and clinical applications of olive oil / E. Waterman, B. Lockwood // *Altern. Med. Rev.* – 2007. – Vol. 12. – P. 331-342.
212. Watkins P.B. Drug-induced liver injury: summary of a single topic clinical research conference / P.B. Watkins, L.B. Seeff // *Hepatology.* – 2006. – Vol. 43. – P. 618-631.

## Приложения

### Приложение 1

#### Динамика потребления животными корма и воды при интоксикации тетрахлорметаном и изониазидом

Таблица 1

Динамика потребления корма и воды при введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ	ЭФЛ	АМ
потребление корма, г/гол./сутки					
Исходные данные	21,4±0,7	22,2±1,1	22,4±0,9	22,4±0,7	21,6±1,5
1 сутки исследования	9,7±1,9**	11,3±1,0*	7,3±0,6**●	-	-
3 сутки исследования	4,3±2,5**	17,0±0,6+	19,6±0,5+●	21,6±0,4+	22,8±0,4+●●
7 сутки исследования	20,1±1,5	17,5±1,5	22,6±0,9●	22,1±0,6	23,0±0,5++
10 сутки исследования	19,7±1,4	22,9±1,5	22,2±1,5++	22,1±1,1	22,9±0,5++
14 сутки исследования	21,2±1,1	23,6±0,9++	23,7±0,5++	21,9±0,4	24,5±0,5+●
потребление воды, мл/гол./сутки					
Исходные данные	15,8±2,5	15,5±2,1	16,0±1,0	16,0±1,0	17,0±2,5
1 сутки исследования	34,0±0,5*	23,3±0,7	11,2±1,0	-	-
3 сутки исследования	20,0±1,1	28,3±1,0*	19,6±3,2●●	30,5±0,5*+	22,2±0,9**
7 сутки исследования	40,8±0,9*	25,0±1,0*+	16,5±0,9●+	25,0±0,9*+	15,0±1,4+●
10 сутки исследования	25,8±1,1*	20,0±0,7	13,5±0,5	20,6±0,5*++	10,0±0,5**●
14 сутки исследования	27,5±0,9*	20,0±0,5	11,5±1,0	30,0±0,7*++	17,5±0,78+●

Примечание: здесь и далее – ЭФЛ – препарат эссенциальных фосфолипидов; АМ – масло семян амаранта; t-критерий Стьюдента: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с исходным; + - p<0,05; ++ - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с контролем; ● - p<0,05; ●● - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Таблица 2

Динамика потребления корма и воды при введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ	ЭФЛ	АМ
потребление корма, г/гол./сутки					
Исходные данные	22,0±0,9	22,0±0,5	21,6±1,5	21,8±0,5	22,1±0,7
1 сутки исследования	9,3±0,7**	13,6±0,5*	18,0±1,0+●	-	-
3 сутки исследования	6,3±1,0**	18,6±0,7+	18,3±0,4+	-	-
7 сутки исследования	2,0±1,1**	14,3±0,9	21,6±0,5++●	-	-
10 сутки исследования	2,4±1,1**	22,7±0,5++	23,1±0,4++	22,9±0,6+	23,4±0,6++
14 сутки исследования	13,3±0,9*	22,6±0,7+	22,8±0,5+	21,9±0,5+	23,6±0,6+●
потребление воды, мл/гол./сутки					
Исходные данные	16,0±1,1	15,8±1,0	16,1±1,0	16,0±1,0	15,9±0,6
1 сутки исследования	28,3±1,0	28,0±0,7*	21,7±0,9*●	-	-
3 сутки исследования	10,8±2,0*	16,7±1,1 <sup>+</sup>	34,2±1,0*+●	-	-

Продолжение таблицы 2

7 сутки исследования	7,5±0,9 <sup>**</sup>	23,3±1,1 <sup>*+</sup>	30,0±0,7 <sup>*++•</sup>	–	–
10 сутки исследования	7,4±2,0 <sup>*</sup>	36,7±0,4 <sup>*++</sup>	48,3±2,5 <sup>*++•</sup>	21,7±1,3 <sup>*++</sup>	49,2±0,9 <sup>**++•</sup>
14 сутки исследования	25,0±2,5 <sup>*</sup>	21,7±1,0 <sup>*</sup>	23,3±0,9 <sup>*</sup>	26,7±1,0 <sup>*</sup>	20,8±0,6 <sup>•</sup>

Примечание: t-критерий Стьюдента: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с исходным; + - p<0,05; ++ - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с контролем; • - p<0,05; •• - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Приложение 2

Динамика массы тела крыс при интоксикации тетрахлорметаном и изониазидом

Таблица 3

Динамика массы тела крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, г

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ	ЭФЛ	АМ
Среднее по группам	206,4±4,8				
Исходные данные	206,3±7,9	207,2±4,8	208,5±3,8	208,5±5,7	209,4±8,25
1 сутки исследования	193,8±8,7	202,0±5,0	205,0±5,5	–	–
3 сутки исследования	188,8±10,4	191,8±2,3 <sup>*</sup>	192,25±5,9	188,0±6,3	192,8±6,4 <sup>**</sup>
7 сутки исследования	181,6±6,8	188,0±3,5 <sup>*</sup>	200,7±4,9	189,5±7,1	195,2±4,2
10 сутки исследования	194,0±9,1	202,0±7,4	205,0±7,3	201,3±7,7	204,8±4,5
14 сутки исследования	189,6±8,6	205,5±6,6	209,5±6,2	207,3±8,6	206,8±7,4

Примечание: t-критерий Стьюдента: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01 – достоверность различий при сравнении с исходным

Таблица 4

Динамика массы тела крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, г

Время наблюдения	Исследуемая группа		
	Контроль	ЭФЛ	АМ
Среднее по группам	204,9±5,2		
Исходные данные	204,57±6,8	205,33±11,9	205,0±7,8
1 сутки исследования	196,14±8,7	210,67±11,1	198,5±7,6
3 сутки исследования	214,29±6,9	201,67±10,2	197,50±8,1
7 сутки исследования	200,86±6,8	199,1±11,0	195,3±9,1
10 сутки исследования	195,43±6,6	194,67±11,3	203,5±8,2
14 сутки исследования	185,71±7,1	197,67±13,6	194,5±8,4

Примечание: t-критерий Стьюдента: \* - p<0,05 – достоверность различий при сравнении с исходным

Динамика ректальной температуры крыс при интоксикации тетрахлорметаном  
и изониазидом

Таблица 5

Динамика ректальной температуры крыс при профилактическом введении прессового  
масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, °С

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ	ЭФЛ	АМ
Среднее по группам	37,7±0,5				
Исходные данные	37,5±0,4	37,2±0,3	37,9±0,4	37,5±0,6	38,0±0,6
1 час после интоксикации	36,2±0,5*	37,1±0,2+	37,3±0,4**+	–	–
24 часа после интоксикации	35,9±1,3*	37,1±0,3	37,4±0,5	–	–
72 часа после интоксикации	36,7±0,2	38,0±0,3	37,8±0,4	37,3±0,5	37,3±0,6
7 сутки исследования	37,6±0,4	37,0±0,6	37,8±0,5	37,5±0,7	37,2±0,4**
10 сутки исследования	38,2±0,7	37,1±1,1	37,4±0,5	37,2±0,4+	37,4±0,9
14 сутки исследования	36,3±0,8*	37,3±0,6	37,4±0,5	37,9±0,6+	37,9±0,3+

Примечание \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с исходным (критерий Вилкоксона); + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Таблица 6

Динамика ректальной температуры крыс при профилактическом введении прессового  
масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, °С

Время наблюдения	Группа животных				
	Контроль	Профилактическая схема		Лечебная схема	
		ЭФЛ	АМ	ЭФЛ	АМ
Среднее по группам	38,1±0,39				
Исходные данные	38,2±0,41	38,2±0,2	38,1±0,30	38,1±0,3	38,1±0,6
1 час после интоксикации	37,1±1,06	35,3±1,1*+	37,4±0,2*	–	–
24 часа после интоксикации	36,9±0,65*	37,1±0,6*	37,9±0,7+	–	–
72 часа после интоксикации	36,8±0,89*	36,8±0,7*	37,9±0,2+	–	–
7 сутки исследования	37,3±0,69*	35,7±0,7*+	37,3±0,4*	–	–
10 сутки исследования	36,5±0,80*	36,5±0,8*	38,1±0,3+	36,8±1,1	36,9±0,9**
14 сутки исследования	36,9±0,86*	37,2±0,4*	38,3±0,5+	38,0±0,2	37,2±0,8

Примечание: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с исходным (критерий Вилкоксона); + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

## Влияние интоксикации тетрахлорметаном и изониазидом на показатели ЭКГ

Таблица 7

## Влияние прессового масла семян амаранта на показатели ЭКГ при интоксикации тетрахлорметаном

Группа	ЧСС, уд/мин	P, сек	PQ, сек	QRS, сек	QT, сек
Интактная	600,00±0,00	0,020±0,001	0,045±0,006	0,016±0,004	0,059±0,003
профилактическая схема введения					
<i>1 час после интоксикации</i>					
Контроль	660,00±69,28	0,015±0,006	0,040±0,018	0,019±0,001	0,050±0,012
ЭФЛ	630,00±60,00	0,020±0,00	0,045±0,06	0,018±0,005	0,058±0,05
АМ	585,67±35,11	0,020±0,00	0,047±0,012	0,015±0,005	0,060±0,00
<i>24 часа после интоксикации</i>					
Контроль	450,00±0,00	0,020±0,00	0,040±0,00	0,030±0,00*	0,080±0,00*
ЭФЛ	638,50±100,44+	0,020±0,00	0,043±0,00	0,015±0,006+	0,058±0,005+
АМ	578,50±43,00+	0,020±0,00	0,043±0,005	0,020±0,001+	0,063±0,005+
<i>72 часа после интоксикации</i>					
Контроль	565,60±47,10	0,022±0,004	0,044±0,005	0,019±0,001	0,060±0,007
ЭФЛ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,043±0,006	0,019±0,001	0,059±0,001
АМ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,043±0,006	0,020±0,00	0,060±0,065
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	640,00±60,00	0,020±0,001	0,043±0,012	0,017±0,004	0,059±0,008
профилактическая схема введения					
АМ	630,00±60,00	0,020±0,00	0,040±0,007	0,019±0,051	0,060±0,065
ЭФЛ	634,29±58,55	0,020±0,00	0,043±0,006	0,018±0,005	0,060±0,00
введение с лечебной целью					
ЭФЛ	640,00±69,28	0,020±0,00	0,040±0,00	0,017±0,006	0,060±0,006
АМ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,043±0,02	0,017±0,006	0,060±0,065
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	624,00±53,67	0,022±0,005	0,047±0,008	0,014±0,005	0,052±0,009
профилактическая схема введения					
ЭФЛ	557,00±49,65	0,020±0,00	0,045±0,006	0,018±0,005	0,068±0,013
АМ	600,00±0,00	0,020±0,001	0,043±0,00	0,015±0,005	0,059±0,065
введение с лечебной целью					
ЭФЛ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,038±0,008	0,020±0,00+	0,060±0,010
АМ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,040±0,00	0,018±0,003	0,060±0,065
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	630,00±60,00	0,020±0,00	0,043±0,005	0,010±0,00*	0,058±0,005
профилактическая схема введения					
ЭФЛ	660,00±69,28	0,020±0,00	0,043±0,005	0,010±0,00*	0,050±0,008
АМ	672,00±65,73	0,016±0,005	0,046±0,005	0,010±0,00*	0,055±0,065
введение с лечебной целью					
ЭФЛ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,043±0,005	0,015±0,006	0,055±0,006
АМ	600,00±0,00	0,018±0,006	0,043±0,006	0,017±0,006+	0,057±0,006

Примечание: t- критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Таблица 8

Влияние прессового масла семян амаранта на показатели ЭКГ при интоксикации  
изониазидом

Группа	ЧСС, уд/мин	P, сек	PQ, сек	QRS, сек	QT, сек
Интактная	600,00±0,00	0,020±0,001	0,045±0,006	0,016±0,004	0,059±0,003
профилактическая схема введения					
<i>1 час после интоксикации</i>					
Контроль	600,00±0,00	0,020±0,001	0,040±0,019	0,019±0,001	0,050±0,006**
ЭФЛ	585,67±35,11	0,022±0,004	0,042±0,004	0,018±0,004	0,064±0,007+
АМ	605,67±65,73	0,020±0,004	0,043±0,004	0,017±0,004	0,063±0,006+
<i>24 часа после интоксикации</i>					
Контроль	660,00±65,73	0,020±0,001	0,040±0,00	0,011±0,003	0,048±0,01
ЭФЛ	600,00±0,00	0,021±0,002	0,040±0,00	0,014±0,005	0,068±0,004*+
АМ	624,00±53,67	0,021±0,002	0,041±0,002	0,019±0,002+	0,062±0,006++
<i>72 часа после интоксикации</i>					
Контроль	617,14±45,36	0,021±0,004	0,043±0,005	0,018±0,057	0,059±0,007
ЭФЛ	640,00±61,97	0,026±0,008	0,044±0,005	0,013±0,005+	0,063±0,005
АМ	600,00±0,00	0,021±0,002	0,040±0,00	0,017±0,004	0,069±0,065+
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	600,00±0,00	0,020±0,00	0,040±0,00	0,020±0,001	0,054±0,008
ЭФЛ	571,33±44,41	0,023±0,005	0,043±0,005	0,020±0,00	0,063±0,005++
АМ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,042±0,004	0,016±0,005	0,064±0,06+
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	600,00±0,00	0,020±0,00	0,040±0,00	0,018±0,004	0,060±0,00
профилактическая схема введения					
ЭФЛ	582,80±38,46	0,020±0,00	0,046±0,009	0,012±0,004+	0,064±0,009++
АМ	600,00±0,00	0,020±0,001	0,042±0,004	0,016±0,004	0,056±0,065
введение с лечебной целью					
ЭФЛ	531,20±38,46*+	0,026±0,005	0,050±0,007	0,019±0,002	0,070±0,018++
АМ	600,00±0,00	0,020±0,00	0,042±0,004	0,017±0,004	0,063±0,065
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	624,00±53,67	0,020±0,00	0,040±0,00	0,018±0,004	0,046±0,009
профилактическая схема введения					
ЭФЛ	585,67±31,11	0,022±0,004	0,042±0,004	0,017±0,005	0,068±0,006**+
АМ	620,00±48,99	0,022±0,004	0,042±0,004	0,015±0,005	0,057±0,065++
введение с лечебной целью					
ЭФЛ	620,00±48,99	0,022±0,004	0,043±0,008	0,017±0,005	0,057±0,008
АМ	575,43±41,96	0,022±0,004	0,046±0,010	0,017±0,008	0,062±0,011+

Примечание: t- критерий Стьюдента: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Результаты патологоанатомического исследования при интоксикации  
тетрахлорметаном и изониазидом

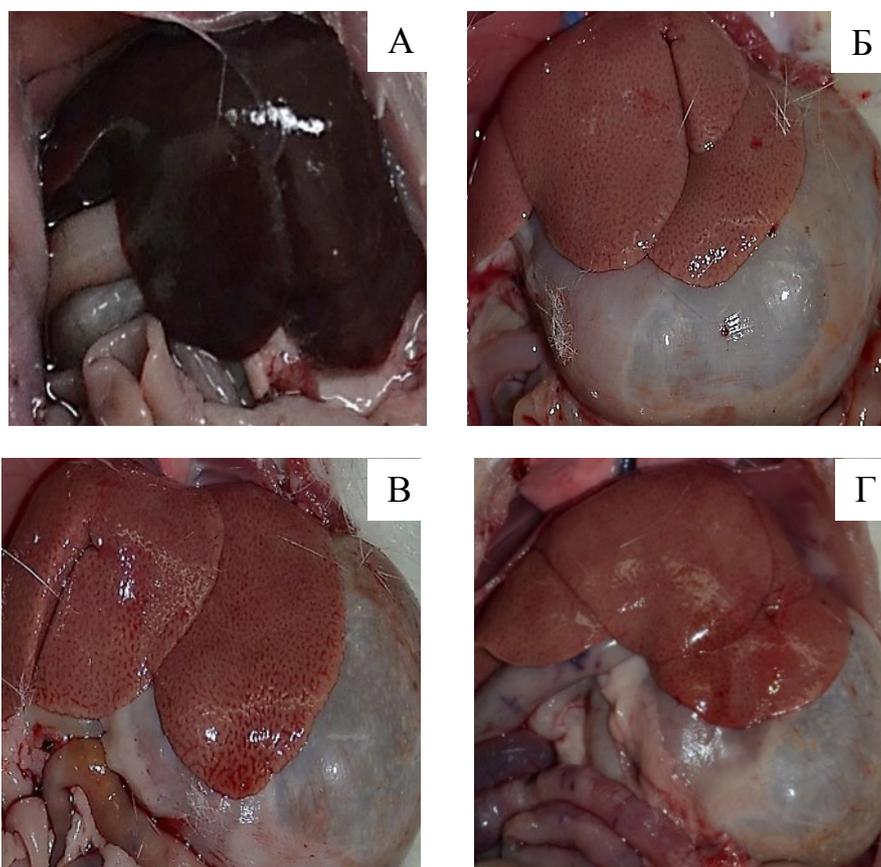


Рис. 1. Желудок крыс при профилактическом введении прессового масла семян амаранта при интоксикации тетрачлорметаном, 1 сутки исследования.

А – интактная группа: желудок нормальной формы, содержимое желудка однородное; Б – контроль: желудок вздут, переполнен не переваренными пищевыми массами, при вскрытии – резкий запах тетрачлорметана; В – препарат эссенциальных фосфолипидов: желудок вздут, переполнен непереваренными пищевыми массами; Г – прессовое масло семян амаранта: желудок: желудок вздут, переполнен непереваренными пищевыми массами

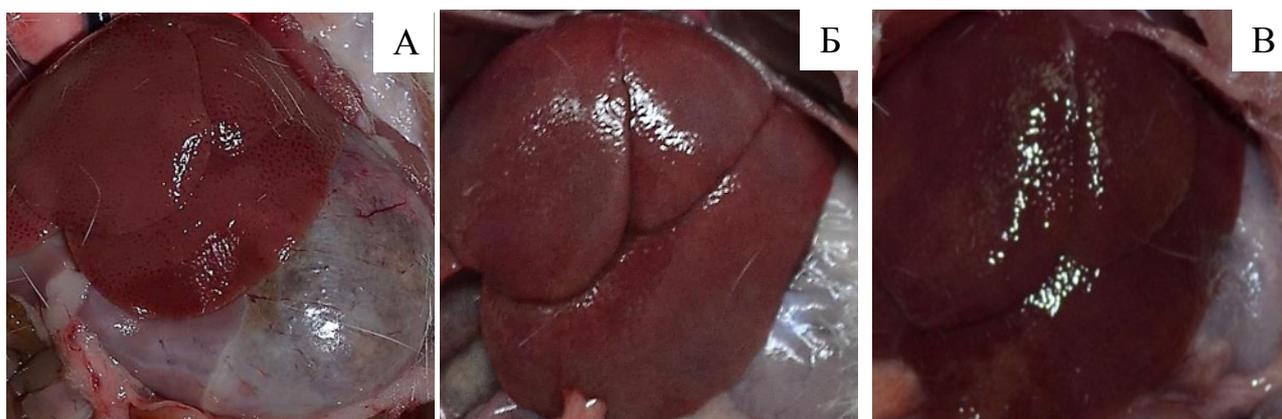


Рис. 2. Желудок крыс при профилактическом введении масла семян амаранта при интоксикации тетрахлорметаном, 3 сутки исследования.

А – контроль: желудок вздут, переполнен неперевавшими пищевыми массами; Б – препарат эссенциальных фосфолипидов: желудок нормальной формы, содержимое желудка однородное; В – прессовое масло семян амаранта: желудок нормальной формы, содержимое желудка однородное

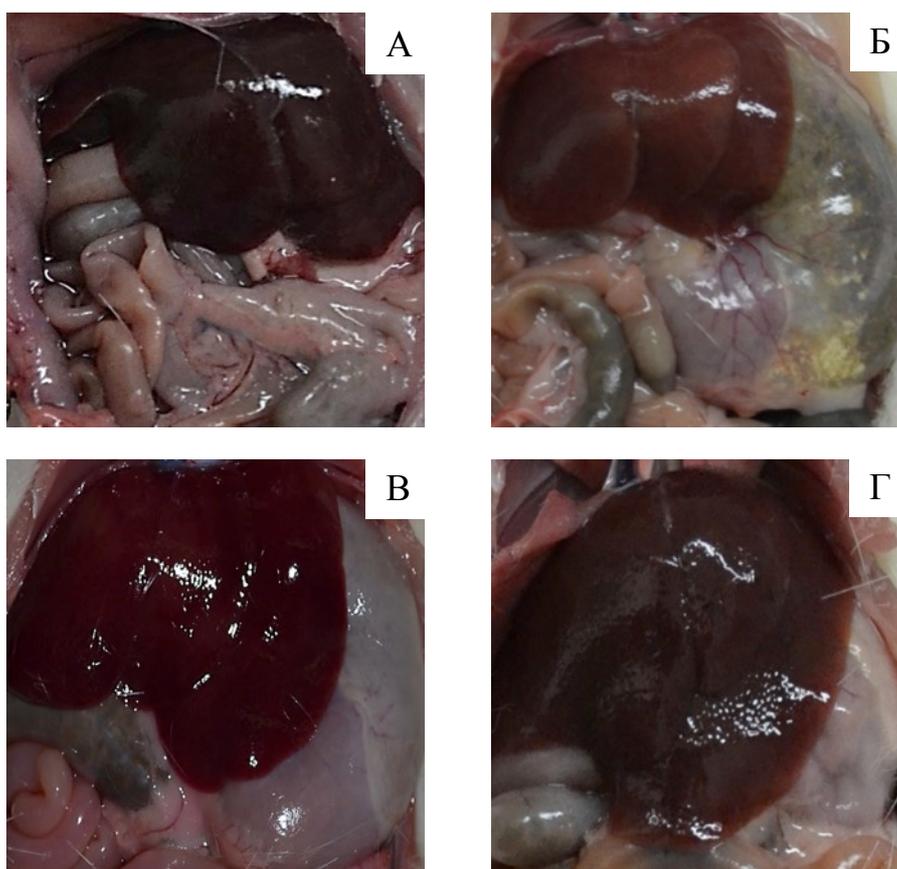


Рис. 3. Желудок крыс при профилактическом введении масла семян амаранта при интоксикации изониазидом, 3 сутки исследования.

А – интактная группа: желудок нормальной формы, содержимое желудка однородное; Б – контроль: желудок вздут, переполнен неперевавшими пищевыми массами; В – препарат эссенциальных фосфолипидов: желудок незначительно вздут; Г – масло семян амаранта: желудок нормальной формы

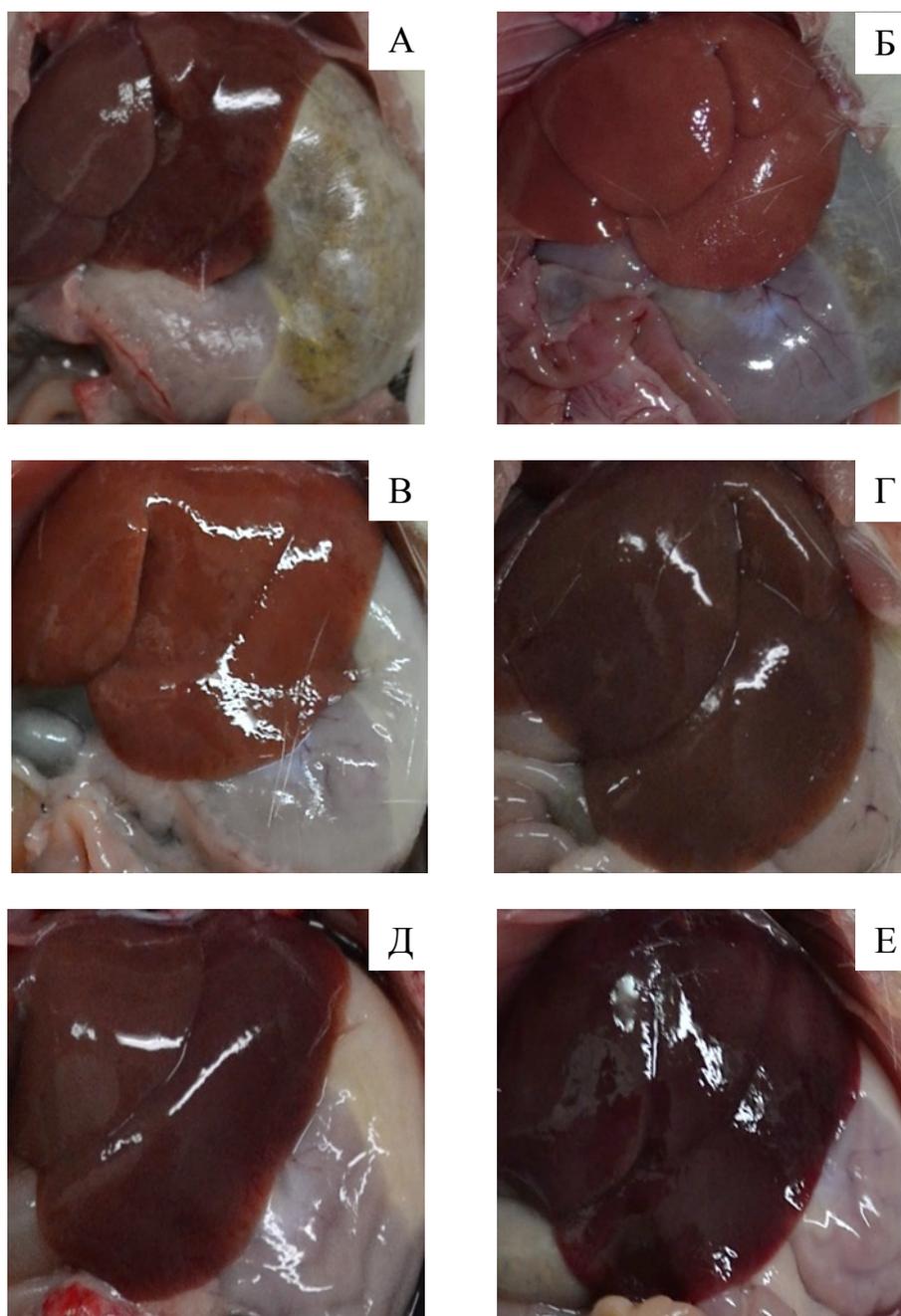


Рис. 4. Желудок крыс при профилактическом введении масла семян амаранта при интоксикации изониазидом.

А, В, Д – 7 сутки исследования; Б, Г, Е – 10 сутки исследования.

А – контроль, 7 сутки, Б – контроль, 10 сутки: желудок вздут, переполнен неперевавшими пищевыми массами; В – препарат эссенциальных фосфолипидов, 7 сутки, Г – препарат эссенциальных фосфолипидов, 10 сутки: желудок нормальной формы; Д – масло семян амаранта, 7 сутки, Е – масло семян амаранта, 10 сутки: желудок нормальной формы

Изменение массы внутренних органов при интоксикации тетрахлорметаном и изониазидом

Таблица 9

Изменение массы внутренних органов при применении прессового масла семян амаранта с профилактической целью при интоксикации, индуцированной тетрахлорметаном

Группа животных	Орган				
	Печень	Селезенка	Сердце	Почки	Надпочечники
Интактная	31,27±0,84	4,36±0,92	3,33±0,54	5,95±0,20	0,16±0,02
<i>24 часа после интоксикации</i>					
Контроль	39,45±0,30*	2,93±0,67	2,90±0,15	6,22±0,44	0,16±0,05
ЭФЛ	38,60±2,99*	2,61±0,34	3,87±1,82	6,06±0,40	0,16±0,05
АМ	35,72±2,40+	2,52±0,14	3,43±0,02+	6,11±0,27	0,16±0,05
<i>72 часа после интоксикации</i>					
Контроль	37,15±2,81*	2,81±0,96	3,03±0,40	6,16±0,50	0,11±0,02
ЭФЛ	32,37±0,98	3,67±0,36	2,86±0,06	6,37±0,14*	0,12±0,07
АМ	33,44±4,72	2,99±0,34	2,94±0,29	6,68±0,67	0,11±0,04
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	28,02±4,83	3,42±0,90	3,66±0,51	7,25±1,09	0,19±0,03
ЭФЛ	27,19±2,24	3,25±0,80	3,57±0,37	5,76±0,10	0,17±0,00
АМ	28,93±2,97	3,69±0,71	3,34±0,52	6,41±0,49	0,17±0,01

Примечание: критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Таблица 10

Динамика изменения массы внутренних органов при введении прессового масла семян амаранта животным с интоксикацией тетрахлорметаном

Группа животных	Орган				
	Печень	Селезенка	Сердце	Почки	Надпочечники
Интактная	31,27±0,84	4,36±0,92	3,33±0,54	5,95±0,20	0,16±0,02
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	28,10±0,85*	3,12±3,40	3,40±0,27	7,09±0,17*	0,16±0,02
ЭФЛ	30,44±4,16+	2,68±0,34	3,03±0,40	6,68±0,50	0,17±0,03
АМ	30,59±5,32+	2,55±0,16*+	3,09±0,55	6,24±1,14	0,18±0,02
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	28,20±0,37*	3,32±0,41	3,60±0,40	6,60±0,86*	0,16±0,02
ЭФЛ	31,62±0,51+	3,45±0,31	3,76±0,30	6,97±0,30*	0,15±0,02
АМ	30,92±4,42	3,89±0,68	3,48±0,18	6,55±0,29**	0,15±0,03

<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	28,02±4,83	3,42±0,90	3,66±0,51	7,25±1,09	0,19±0,03
ЭФЛ	28,92±1,98	4,21±0,77	3,87±0,18	6,31±0,54	0,21±0,01*
АМ	29,28±1,38	3,31±0,46	3,52±0,25	6,21±0,13	0,13±0,01+●

Примечание: критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с контролем; ● -  $p < 0,05$  – достоверность различий при сравнении с препаратом сравнения

Таблица 11

Изменение массы внутренних органов при применении прессового масла семян амаранта при интоксикации изониазидом

Группа животных	Орган				
	Печень	Селезенка	Сердце	Почки	Надпочечники
Интактная	31,27±0,84	4,36±0,92	3,33±0,54	5,95±0,20	0,16±0,02
профилактическая схема введения					
<i>1 сутки исследования</i>					
Контроль	29,16±1,60	2,55±0,62**	3,33±0,56	5,86±0,75	0,16±0,02
ЭФЛ	31,35±1,21	3,05±0,56	3,26±0,45	5,88±0,48	0,17±0,03
АМ	31,84±0,56	2,75±0,64	3,22±0,08	6,21±0,72	0,17±0,01
<i>7 сутки исследования</i>					
Контроль	41,20±1,70**	3,20±0,50	3,31±0,13	7,36±0,15*	0,28±0,03*
ЭФЛ	36,82±2,20**	2,31±0,32**+	3,29±0,35	7,96±0,59*	0,34±0,07*
АМ	37,43±1,41**++	2,88±0,66	3,06±0,41	7,37±0,66*	0,28±0,06*
<i>10 сутки исследования</i>					
Контроль	38,07±2,59**	2,50±0,15**	3,22±0,40	6,96±0,77**	0,30±0,05*
лечебная схема введения					
ЭФЛ	32,49±3,93	2,22±0,04**++	2,60±0,49+	6,22±0,86	0,18±0,02++
АМ	31,71±6,11++	2,66±0,13	2,46±0,13**	6,36±0,26	0,14±0,02+
<i>14 сутки исследования</i>					
Контроль	27,21±1,84**	3,81±1,04	4,13±0,34	6,84±0,49*	0,21±0,04
профилактическая схема введения					
ЭФЛ	32,21±3,01	3,97±1,07	3,55±0,38	6,86±0,55**	0,19±0,03
АМ	30,19±1,06+	4,20±0,92	3,47±0,24	6,59±0,36**	0,16±0,02
лечебная схема введения					
ЭФЛ	31,33±0,64++	3,53±0,19	3,26±0,17+	6,60±0,42**	0,19±0,06
АМ	31,78±1,41++	4,38±0,83	3,23±0,35+	6,98±0,90**	0,17±0,03

Примечание: критерий Ньюмена-Кейлса с поправкой Бонферрони: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с интактной группой; + -  $p < 0,05$ ; ++ -  $p < 0,01$  – достоверность различий при сравнении с контролем

Изменение интенсивности кровотока в микрососудах брыжейки крыс при  
применении прессового масла семян амаранта на фоне интоксикации  
тетрахлорметаном

Группа животных	Артериолы	Метартериолы	Прекапилляры	Капилляры	Венулы	Сумма баллов
Интактная	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
профилактическая схема введения						
<i>1 час после интоксикации</i>						
Контроль	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	3,8±0,4	4,0±0,0	19,8±0,1
ЭФЛ	3,8±0,4	3,8±0,4	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	19,7±0,1
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	3,8±0,4	4,0±0,0	19,8±0,1
<i>24 часа после интоксикации</i>						
Контроль	4,0±0,0	3,3±0,5	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	19,3±0,3
ЭФЛ	4,0±0,0	3,2±0,4	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	19,2±0,4
АМ	4,0±0,0	3,3±0,5	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	19,3±0,3
<i>72 часа после интоксикации</i>						
Контроль	4,0±0,0	1,3±0,5	1,5±0,8	3,0±0,0	3,7±0,5	13,5±1,2
ЭФЛ	4,0±0,0	1,3±0,8	1,7±1,2	4,0±0,0	4,0±0,0	14,0±1,3
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	3,8±0,4	4,0±0,0	19,8±0,1
<i>7 сутки исследования</i>						
Контроль	4,0±0,0	4,0±0,0	3,7±0,5	4,0±0,0	3,8±0,4	19,5±0,1
профилактическая схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
лечебная схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	3,5±0,5	3,5±0,5	4,0±0,0	19,0±0,3
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
<i>10 сутки исследования</i>						
Контроль	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	3,7±0,5	4,0±0,0	19,6±0,1
профилактическая схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	3,8±0,4	4,0±0,0	19,8±0,1
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
лечебная схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	3,7±0,5	3,7±0,5	4,0±0,0	19,3±0,2
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
<i>14 сутки исследования</i>						
Контроль	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
профилактическая схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	3,7±0,5	4,0±0,0	19,6±0,1
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
лечебная схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0

Примечание: 1 балл – более чем 50% сосудов выключено из кровотока за счет стаза/тромбоза; 2 балла – более чем в 80% сосудов кровотоки замедлены вплоть до остановки, эритроциты располагаются в виде «монетного столбика»; 3 балла – более чем в 50% сосудов замедленный кровоток, можно проследить движение отдельных

форменных элементов крови; 4 балла – более чем в 80% микрососудов кровотока нормальный, т.е. при движении эритроциты образуют гомогенную массу

Таблица 13

Изменение интенсивности кровотока в микрососудах брыжейки крыс при применении прессового масла семян амаранта на фоне интоксикации изониазидом

Группа животных	Артериолы	Метартериолы	Прекапилляры	Капилляры	Венулы	Сумма баллов
Интактная	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
профилактическая схема введения						
<i>1 час после интоксикации</i>						
Контроль	4,0±0,0	4,0±0,0	3,2±0,4	3,0±0,6	4,0±0,0	18,2±0,5
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
<i>24 часа после интоксикации</i>						
Контроль	3,8±0,4	4,0±0,0	3,8±0,4	2,83±0,4	4,0±0,0	18,5±0,5
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	3,8±0,4	3,5±0,5	4,0±0,0	19,3±0,2
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
<i>7 сутки исследования</i>						
Контроль	4,0±0,0	4,0±0,0	3,8±0,4	1,17±0,4	4,0±0,0	17,0±1,25
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	2,7±0,5	4,0±0,0	18,7±0,6
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
<i>10 сутки исследования</i>						
Контроль	4,0±0,0	4,0±0,0	3,7±0,5	3,5±0,5	4,0±0,0	19,2±0,2
профилактическая схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	3,5±0,5	3,5±0,5	4,0±0,0	19,0±0,3
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
лечебная схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	3,5±0,5	3,8±0,4	3,8±0,4	4,0±0,0	19,1±0,2
	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
<i>14 сутки исследования</i>						
Контроль	4,0±0,0	3,8±0,4	4,0±0,0	3,2±0,4	4,0±0,0	19,0±0,4
профилактическая схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	3,5±0,5	4,0±0,0	3,8±0,4	4,0±0,0	19,3±0,2
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0
лечебная схема введения						
ЭФЛ	4,0±0,0	4,0±0,0	3,8±0,4	3,8±0,4	4,0±0,0	19,6±0,1
АМ	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	20,0±0,0

Примечание: 1 балл – более чем 50% сосудов выключено из кровотока за счет стаза/тромбоза; 2 балла – более чем в 80% сосудов кровотока замедлен вплоть до остановки, эритроциты располагаются в виде «монетного столбика»; 3 балла – более чем в 50% сосудов замедленный кровоток, можно проследить движение отдельных форменных элементов крови; 4 балла – более чем в 80% микрососудов кровотока нормальный, т.е. при движении эритроциты образуют гомогенную массу.