

**Пятигорский медико-фармацевтический институт-
филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

ДАВЫДОВА ВИКТОРИЯ ВЛАДИМИРОВНА

**ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ
КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО ТРАВЫ (CORIANDRUM SATIVUM L.
HERBA) ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ**

14.03.06- фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

**Научный руководитель: доктор
медицинских наук, профессор,
академик МАИ, Ю.К. Василенко**

Пятигорск, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗЫСКАНИЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ	11
1.1 Механизмы токсической альтерации печени и ее экспериментальные модели... 11	11
1.2 Механизмы фармакологического действия растительных полифенолов и их применение при токсических поражениях печени.....	17
1.3 Растения рода Кориандр (<i>Coriandrum</i>) – химический состав и биологическая активность.....	23
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	25
2.1 Характеристика объектов исследования.....	25
2.2 Исследование химического состава биологически активных соединений в извлечениях из кориандра посевного травы.....	27
2.2.1 Идентификация БАВ извлечений из кориандра посевного травы.....	27
2.2.2 Спектрофотометрический анализ флавоноидов.....	27
2.2.3 Определение содержания антиоксидантов в различных извлечениях из кориандра посевного травы.....	29
2.3 Лабораторные животные.....	30
2.4 Экспериментальные модели поражения печени.....	31
2.5 Постановка опытов и основные экспериментальные серии.....	31
2.5.1 Определение острой токсичности.....	31
2.5.2 Исследование гепатотоксичности.....	32
2.5.3 Обоснование выбора доз исследуемых извлечений и препаратов сравнения при поражении печени тетрахлорметаном.....	33
2.5.4 Определение желчевыделительной функции печени у интактных животных и в условиях острого поражения печени тетрахлорметаном.....	34
2.6 Методы исследования.....	36
2.6.1 Оценка поражения печени по биохимическим показателям.....	36
2.6.2 Оценка про-/антиоксидантного статуса.....	38
2.6.3 Оценка состояния эндогенной антиоксидантной системы (АОС).....	39
2.6.4 Выделение постъядерной фракции печени.....	40
2.7 Гисто–морфологическое исследование печени.....	40
2.8 Статистическая обработка результатов эксперимента.....	41
ГЛАВА 3 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ, ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ, ЭФФЕКТИВНОЙ ДОЗЫ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЖЕЛЧЕВЫДЕЛЕНИЕ	42
3.1 Результаты исследования острой токсичности водного и спиртового извлечений из кориандра посевного травы.....	42
3.2 Результаты исследования гепатотоксичности водного и спиртового извлечений из кориандра посевного травы.....	44
3.3 Результаты определения эффективной терапевтической дозы водного и спиртового извлечений кориандра посевного на модели поражения печени тетрахлорметаном.....	46
3.4 Сравнительное влияние извлечений из кориандра посевного травы на желчевыделительную функцию у интактных животных и в условиях острого поражения печени тетрахлорметаном.....	52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ	58

ГЛАВА 4 ВЛИЯНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО ТРАВЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ, МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ.....60

4.1 Изменение аланинаминотрансферазы в сыворотке крови.....	60
4.2 Изменение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови.....	61
4.3 Изменение содержания общего белка в сыворотке крови.....	62
4.4 Изменение содержания общего билирубина в сыворотке крови.....	63
4.5 Изменение содержания холестерина в сыворотке крови.....	65
4.6 Изменение содержание триглицеридов в сыворотке крови.....	66
4.7 Изменение содержания триглицеридов в печени.....	67
4.8 Изменение содержание гликогена в печени.....	68
4.9 Исследование гисто–морфологической картины печени при остром токсическом поражении тетрахлорметаном.....	69
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ.....	77

ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО ТРАВЫ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ЭТАНОЛОМ.....79

5.1 Изменение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови.....	79
5.2 Изменение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови.....	80
5.3 Изменение содержания общего белка в сыворотке крови.....	81
5.4 Изменение содержания общего билирубина в сыворотке крови.....	82
5.5 Изменение содержания холестерина в сыворотке крови.....	83
5.6 Изменение содержания триглицеридов в сыворотке крови.....	84
5.7 Изменение содержания триглицеридов в печени.....	85
5.8 Изменение содержание гликогена в печени.....	86
5.9 Исследование гисто–морфологической картины печени при остром токсическом поражении этанолом.....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ.....	93

ГЛАВА 6 РОЛЬ СВОБОДНО–РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО ПРИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ.....95

6.1 Влияние извлечений из кориандра посевного травы на показатели прооксидантно–антиоксидантного баланса при токсическом поражении печени тетрахлорметаном.....95

6.2 Влияние водного извлечения из кориандра посевного травы на показатели прооксидантно–антиоксидантного баланса при токсическом поражении печени этанолом.....98

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ.....102

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....102

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....112

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....114

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....115

ПРИЛОЖЕНИЕ А.....144

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

CCl₄ – тетрахлорметан

GSH – глутатион восстановленный

ТРГ – триглицериды

γ- (ГЦС) – γ-глутамилцистеин

ХС – холестерин

8 – (OhdG) – 8-гидроксидезоксигуанозин

ХЭ – холинэстераза

АКМ – активные кислородные метаболиты

ЩФ – щелочная фосфатаза

АлАт – аланинаминотрансфераза

АОА – антиокислительная активность

АОЗ – антиоксидантная защита

АОС – антиоксидантная система

АсАт – аспартатаминотрансфераза

ВИКП – водное извлечение кориандра посевного

ВИКР – водное извлечение кукурузных рылец

Г-6 – ФДГ-глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

Г – S – Т – глутатион-S-трансфераза

ГДГ – глутаматдегидрогеназа

ГП – глутатионпероксидаза

ДК – диеновые конъюгаты

ЛС – лекарственные средства

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ОБ – общий белок

ОБР – общий билирубин

ПБ – прямой билирубин

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЯФ – постъядерная фракция

ПФП - постъядерная фракция печени

СОД – супероксиддисмутаза

СИКП – спиртовое извлечение кориандра посевного

СИКР – спиртовое извлечение кукурузных рылец

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Токсическое поражение печени является одним из самых распространенных этиологических факторов гепатобилиарной патологии. Это обусловлено абсолютным ростом контактов с гепатотоксичными ксенобиотиками: средствами бытовой, промышленной и сельскохозяйственной химии. К настоящему времени известно более 80000 таких соединений. Повреждение печени часто возникает у токсикоманов [125] и при злоупотреблении алкоголем [39, 69], причем доля алкогольного гепатоза составляет 60 – 70% от всех токсических поражений органа [168]. Существенное значение в развитии токсического поражения печени имеет длительное и бесконтрольное применение лекарственных средств, которое является причиной 40% гепатитов у больных старше 40 лет [64, 67, 87, 93, 151]. В этом смысле наибольшую опасность представляют препараты следующих фармакологических групп: антибиотики [24, 45, 138, 248] противотуберкулезные препараты [20, 35, 83, 165], противоопухолевые препараты [43, 44] и НПВС [122, 126].

Указанные экзогенные факторы обладают не только своим специфическим механизмом альтерации, но инициируют в гепатоцитах универсальный и мощный механизм эндогенного повреждения в виде оксидантного стресса [38, 115, 245, 247, 260]. Его продукты – агрессивные и многочисленные кислородные метаболиты являются причиной метаболических расстройств, мембранопатий, функциональных нарушений, мутаций, ускоренного апоптоза и других форм клеточной патологии [1, 75, 84, 112, 139].

Большинство лекарственных препаратов, применяемых при токсических гепатопатиях, действуют достаточно избирательно, обеспечивая главным образом процесс регенерации мембран гепатоцитов (эссенциале, эплир, липостабил) или их паренхимы (цитидин, метилметионинсульфония

хлорид, оротовая кислота, пангамат кальция, метионин, уридин, цианокобаламин). Вместе с тем многофакторность токсических поражений печени требует от лекарственных препаратов наличие многоуровневой защиты, которой обладают лишь немногие гепатопротекторы (легалон, силибор, гепатон) [27, 41, 76, 146, 149, 150, 153, 169]. Характерными свойствами современных гепатопротекторов являются: происхождение из растительного сырья и содержание полифенольных соединений (флавоноидов, флаволигнанов, коричных кислот и др.), обладающих антиоксидантной активностью [7, 8, 10, 54, 94, 154].

В настоящее время доля эффективных отечественных гепатопротекторов на фармацевтическом рынке РФ невелика и составляет лишь 23% от аналогичных зарубежных препаратов [142, 158]. Таким образом, имеется необходимость поиска новых средств, повышающих резистентность печени к токсическому повреждению. При этом предпочтение следует отдать лекарственным средствам растительного происхождения, обладающим как правило низкой токсичностью в сочетании с достаточной эффективностью и широтой терапевтического действия.

Цель и задачи исследования

Целью настоящей работы явилось экспериментальное обоснование гепатопротекторных свойств извлечений из кориандра посевного травы в условиях острого токсического поражения печени тетрахлорметаном и этанолом.

Для реализации поставленной цели мы сочли целесообразным решение *следующих задач:*

1. Изучить острую токсичность водного и 40%-спиртового извлечений из кориандра посевного травы и выявить особенность их влияния на детоксицирующую функцию печени при поражении тетрахлорметаном.
2. Определить эффективную терапевтическую дозу водного и 40%-спиртового извлечений кориандра посевного травы при пероральном введении на модели тетрахлорметанового гепатита.

3. Изучить влияние водного и 40%-спиртового извлечений из кориандра посевного травы на желчевыделительную функцию печени у интактных животных и в условиях тетрахлорметанового гепатита.

4. Провести изучение гепатозащитного действия водного и 40%-спиртового извлечений из кориандра посевного травы при пероральном введении на модели поражения печени тетрахлорметаном по комплексу биохимических показателей и гистологической картине печени в сравнении с Карсилом и Хофитолом, аналогичными извлечениями из кукурузных рылец.

5. Провести изучение гепатозащитного действия водного и 40%-спиртового извлечений из кориандра посевного травы при пероральном введении на модели поражения печени этанолом по комплексу биохимических показателей и гистологической картине печени в сравнении с Карсилом и Хофитолом, водным извлечением из кукурузных рылец.

6. Провести сравнительный анализ влияния водного и 40%-спиртового извлечений из кориандра посевного травы при пероральном введении на активность ферментов АОС печени при ее повреждении тетрахлорметаном и этанолом.

Научная новизна

Впервые проведена сравнительная оценка гепатопротекторной активности извлечений из кориандра посевного (ВИКП и СИКП) в дозах 150 мг/кг на экспериментальных моделях поражения печени тетрахлорметаном и этанолом.

Установлено, что ВИКП при пероральном введении обладает выраженным желчегонным действием, достоверно превышающим влияние извлечений из кукурузных рылец в опытах с интактными животными и сопоставимым с действием Карсила в условиях острого токсического поражения печени тетрахлорметаном.

Доказано, что применение ВИКП оказывает гепатопротекторное действие, превосходящее влияние извлечений из кукурузных рылец и Хофитола, и сопоставимое, или по некоторым показателям превышающее

действие Карсила при токсическом поражении печени тетрахлорметаном и этанолом, о чем свидетельствует гистоморфологическая картина органа.

Выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между степенью гепатопротекции и повышением активности маркеров, характеризующих состояние антиоксидантной системы печени при пероральном введении ВИКП и СИКП.

Установлено, что ВИКП при пероральном введении препятствует развитию окислительного стресса при воздействии тетрахлорметана и этанола, повреждающих печень, снижает интенсивность ПОЛ и вызывает стабилизацию мембран гепатоцитов за счет прямого антиоксидантного действия, что является важным в механизме гепатозащитного действия.

Практическая значимость работы

Результаты проведенных исследований показали наличие выраженной гепатопротекторной и желчегонной активности ВИКП и СИКП. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что восстановление сывороточных и печеночных маркеров достигается не только за счет гепатопротекторного, но и антиоксидантного действия извлечений, повышения активности ферментов АОС, что указывает на приоритет этого механизма в данных условиях повреждения гепатоцитов. Выявленная тесная корреляционная взаимосвязь эффективности защитного действия с повышением активности антиоксидантных маркеров печени подтверждает, что в проявлении гепатопротекторного действия полифенольных соединений кориандра посевногосеющее значение имеет не только ингибирование процессов ПОЛ, но и поддержание активности ферментов АОС. В связи с тем, что ВИКП на моделях тетрахлорметанового и алкогольного гепатитов не только блокирует механизмы свободнорадикального и перекисного повреждения клеток, но и нормализует нарушенный печеночный метаболизм, появляется возможность создания лекарственного средства на его основе, сочетающего гепатопротекторные и желчегонные свойства.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженной гепатопротекторной и антиоксидантной активности ВИКП при токсическом поражении печени на разных экспериментальных моделях, что позволяет обосновать перспективность дальнейших более углубленных доклинических испытаний с целью разработки нового гепатопротекторного средства.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Высокая эффективность гепатопротекторного действия ВИКП, связанная с воздействием на основные звенья патогенетических механизмов повреждения гепатоцитов и выявленная способность обеспечивать защиту печени при токсическом поражении тетрахлорметаном и этанолом, позволяет рекомендовать ВИКП (высушенную фракцию) для дальнейших доклинических испытаний с целью создания различных препаратов для терапии сочетанных поражений печени.
2. Гепатопротекторные свойства ВИКП коррелируют с желчегонным эффектом, достоверно превышающим влияние извлечений из кукурузных рылец в опытах с интактными животными и сопоставимым с действием Карсила и Хофитола в условиях экспериментальной тетрахлорметановой модели.
3. ВИКП при пероральном введении препятствует развитию окислительного стресса при воздействии тетрахлорметана и этанола, повреждающих печень, снижает интенсивность ПОЛ и вызывает стабилизацию мембран гепатоцитов за счет прямого антиоксидантного действия, что является важным в механизме гепатозащитного действия.

Степень достоверности и апробация работы

Степень достоверности полученных результатов базируется на большом экспериментальном материале, полученном на стандартизированных по виду, массе и полу крыс, на использовании современных методов научного эксперимента и его статистической обработке.

Основные результаты диссертационной работы были представлены на 66^й, 67^й, 68^й научных конференциях «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2011–2013гг.). Работа апробирована на расширенном заседании кафедры биологии и физиологии с курсами биологической химии и микробиологии ПМФИ–филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из которых 9 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно осуществлен поиск и анализ зарубежных и отечественных источников литературы. Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований на всех его этапах. При написании диссертационной работы автором собраны первичные данные, проведен анализ, статистическая обработка и обобщение полученных результатов, сформулированы выводы, оформлена рукопись, подготовлены публикации по основным положениям диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 6 глав собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, список литературы, включающий 170 отечественных и 91 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 18 таблицами, 39 рисунками и 8 формулами.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗЫСКАНИЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1.1 Механизмы токсической альтерации печени и ее экспериментальные модели

Помимо биологических факторов, наиболее часто токсическое повреждение печени вызывают средства бытовой, промышленной, сельскохозяйственной и медицинской химии, занимая высокое место в структуре гепатобилиарной патологии [57, 67, 87, 125, 143]. Во многом это обусловлено специфической функцией органа, должного обеспечивать основную нагрузку по детоксикации ксенобиотиков, поступивших в организм. Ксенобиотики могут обладать прямой и непрямой гепатотоксичностью. Первая обусловлена ядовитостью исходного вещества, а вторая – его метаболитами. Из средств бытовой и промышленной химии наиболее опасны бензол и его производные, хлорированные углеводороды, соединения металлов: мышьяка, железа, меди и др. В последние годы существенно увеличилась доля лекарственных поражений печени. Зарегистрировано около 1000 лекарственных препаратов, практически всех фармакологических классов, неправильный прием которых может привести к повреждению гепатоцитов [67, 92, 122]. Классическими гепатотропными ядами являются четыреххлористый углерод (CCl_4 , тетрахлорметан) и алкоголь [40, 143].

В настоящее время выделяют 3 основные клинико-морфологические группы токсических поражений печени: гепатоцеллюлярные, холестатические и смешанные, включающие в себя практически все варианты гепатобилиарных, метаболических и структурных нарушений [124, 139].

По современным представлениям токсические повреждения гепатоцитов в значительной степени реализуются через универсальный эндогенный механизм, связанный с гиперпродукцией активированных

кислородных метаболитов (АКМ): гидроксид-радикал, пероксид водорода, супероксид-анион, синглетный кислород, гипохлорит-анион и др [110].

Многие из АКМ являются свободными радикалами, имея в молекуле один или нескольких непарных электронов, и, благодаря чему, обладают высокой окислительной способностью [1, 115]. «Свободные радикалы» и «активированные кислородные метаболиты» - понятия не идентичные. В первых неспаренный электрон в виде тиольных радикалов глутатиона (GS^{\bullet}) или радикалов мочевой кислоты может локализоваться на атомах углерода, азота, серы и др [75, 163, 190]. Вторые: перекись водорода, гипогалогениты, синглетный кислород – хотя не являются радикалами, но через радикальные механизмы взаимодействуют с органическими молекулами (рисунок 1) [106, 110].

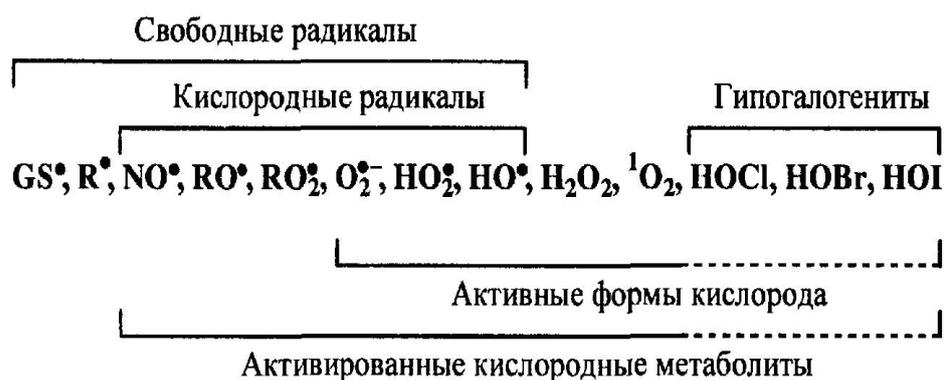


Рисунок 1 – Активированные кислородные метаболиты, активные формы кислорода и радикалы

Участвуя в деятельности цитохрома P_{450} – оксидазной микросомальной системы, функционировании митохондрий, работе лизосомального аппарата и пероксисом, активные метаболиты кислорода обеспечивают практически все процессы жизнеобеспечения клетки: обновления структур, энергетику, транспорт, управление и др [89, 112, 131, 190].

Все радикалы, образующиеся в организме, подразделяют на первичные, вторичные и третичные (рисунок 2) [28].

[59, 62, 89, 90, 139]. АОС клетки тормозит процессы ПОЛ с помощью своей ферментной подсистемы (каталаза, супероксиддисмутаза), восстановления глутатиона, и неферментными системами – витаминной и металлохелаторной.

При нехватке ресурсных механизмов АОС про-/антиоксидантное равновесие сдвигается в сторону усиления окислительных процессов, что обозначается как «оксидантный стресс» и сопровождается окислением клеточных ультраструктур [70, 72, 109].

Таким образом, повреждение клетки инициируется как увеличением продукции агрессивных кислородных радикалов [9, 110, 131], так и несостоятельностью АОС [23, 70, 141], что подтверждается результатами многочисленных исследований токсических поражений гепатоцитов [75, 109, 115].

Результатом избытка короткоживущих агрессивных форм АКМ является патологическая инициация в клетке процессов перекисного окисления белков, нуклеиновых кислот и липидов биомембран [110, 139].

Широко используемое модельное поражение печени экспериментальных животных тетрахлорметаном, обусловлено действием его промежуточных продуктов – трихлорметилпероксильного радикала (CCl_3O_2) и трихлорметильного радикала (CCl_3), образующихся при метаболизме CCl_4 на цитохроме P_{450} . Они ковалентно связываются с молекулами белков и нуклеиновых кислот, модифицируя их и нарушая функции, а также атакуют боковые двойные связи ненасыщенных жирных кислот (НЖК) мембранных фосфолипидов, запуская процесс ПОЛ. Кроме того CCl_4 увеличивает генерацию агрессивных супероксиданиона [97] и пероксинитрита [208]. Под их действием в мембранах образуются кластеры продуктов ПОЛ, вызывающие микроразрывы и формирование неуправляемых ионных каналов [139, 149, 164, 225].

Идентификация экспериментального повреждения печени CCl_4 осуществляется по увеличению содержания продуктов ПОЛ – ТБК-активных продуктов, оснований Шиффа, диеновых конъюгатов, а также по снижению активности системы глутатиона (GSH) и ферментов АОС – СОД и каталазы [172, 187, 229, 232]. В гепатоцитах регистрируется появление маркера повреждения ДНК – 8-гидроксидезоксигуанозина (8-(OHdG)), а в сыворотке крови – маркеров цитолиза: АлАт, АсАт, ЩФ, ЛДГ [211, 219].

Гепатит, вызванный тетрахлорметаном, сопровождается снижением всех функций органа: антитоксической, белковой, АТФ – синтетической и холестатической [40, 132, 140, 169]. С точки зрения большинства исследователей, именно нарушение работы дыхательной цепи митохондрий гепатоцитов, индуцированное CCl_4 – гиперпродукцией АКМ, является ключевым звеном в дальнейшем формировании печеночной патологии [112, 135, 164, 171].

Картина гепатита наиболее ярко проявлена в центрлобулярной зоне печеночной дольки, где максимально выражена активность зависимых от цитохрома P_{450} монооксигеназ, которые собственно и обеспечивают генерацию агрессивных тетрахлорметановых метаболитов [42, 66].

Синдром пероксидации играет немаловажную роль в остром и хроническом поражении печени этанолом. [84, 256, 260]. В частности, его метаболит – ацетальдегид, окисляет или ковалентно связывает SH и NH_2 группы ряда окислительно – восстановительных ферментов, инактивируя их. Подавленная, таким образом, активность глутатион-редуктазы и NADH митохондрий, снижает эффективность АОС, что сопровождается усилением свободнорадикального повреждения клеточных ультраструктур [188, 197, 207, 208, 209, 227].

Хроническое повреждение гепатоцитов этанолом реализуется через оксидантный стресс, за счет продолжающейся генерации супероксид аниона, перокси водорода и гидроксильного радикала \cdot [183, 220], что происходит

при постоянной индукции цитохрома P450 [160, 221, 223, 236, 257]. Кроме того, микросомальный метаболит этанола 1-гидроксиэтильный радикал ингибирует ферменты АОС – глутатионпероксидазу, глутатионредуктазу и супероксиддисмутазу, инактивирует GSH и α -токоферол [123, 228]. Помимо гепатоцитов, источником генерации свободных радикалов могут быть нейтрофильные лейкоциты воспалительных инфильтратов и печеночные макрофаги. В этом случае свободные радикалы реализуют повреждение гепатоцитов через индукцию синтеза в них и последующего экзоцитоза фактора некроза опухолей (TNF- α) [176, 181, 194, 246, 259, 261].

Алкогольное повреждение печени крыс сопровождается развитием лактатацидоза (повышено соотношение лактат/пируват и снижено – NADH/NAD⁺), что характерно для окислительного стресса и гипоксии [111, 144, 234], являющейся самостоятельным фактором свободно-радикального повреждения [79, 109].

Немаловажную роль в повреждении печени этанолом играет индуцирование апоптоза гепатоцитов посредством рецепторных (TNF- α) и цитохром-каспазных механизмов [197, 205, 225]. Этаноловое повреждение печени сопровождается формированием в гепатоцитах жировой (стеатоз) и белковой дистрофий, а также набуханием ультраструктур и развитием внутриклеточного отека [22, 60, 84, 227, 230].

Повышенная генерация свободных радикалов при токсических гепатитах, в том числе CCl₄ и этанол – индуцированных, всегда сопровождается повреждением клеточных элементов (эндотелиоциты, миоциты) сосудов печени и последующими расстройствами гемодинамики и реологических свойств крови [71, 159]. Особенно чувствительны к повреждению эндотелиоциты синусоидов печени [75, 139].

Таким образом, повреждение печени этанолом является процессом многофакторным и включает в себя свободнорадикальные, метаболические, воспалительными и иммунные механизмы [3, 176, 259].

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что в инициации токсических поражений печени, реализуемых по механизмам дистрофий, некроза, апоптоза и воспаления, значительную роль играют продукты оксидантного стресса. Необходимо отметить, что по выздоровлению, достаточно продолжительное время метаболические расстройства могут носить латентный характер. В этих условиях любой повреждающий фактор может спровоцировать рецидив болезни и необходимость применения гепатопротекторной, в том числе и антиоксидантной терапии [10, 105]. Причем, чем разнообразнее препарат корректирует процессы, вызванные пероксидацией, тем на более выраженный защитный эффект можно рассчитывать. Такой широтой комплексного воздействия обладают растительные полифенольные соединения, среди которых могут оказаться перспективные гепатопротекторы.

1.2 Механизмы фармакологического действия растительных полифенолов и их применение при токсических поражениях печени

Полифенольные соединения (флавоноиды, кумарины, производные коричных кислот, хромонов и др.) являются метаболитами растительных клеток и не образуются в животных организмах. Данные соединения, распространены в различных органах пищевых растений, служат источником поступления в организмы животных и человека [13, 16, 78]. На сегодняшний день из растений выделено и охарактеризовано от 5000 до 8000 полифенольных соединений [186, 213, 240].

Полифенолы обладают широким спектром биологической и более 40 видами фармакологической активности: капилляроукрепляющей, противовоспалительной, антиаллергической, антимуtagenной, спазмолитической, антиатеросклеротической, кардиостимулирующей, противовирусной, гепатопротекторной и др [4, 6, 152, 175, 200, 201, 235, 239].

Анализ разнообразия биологических и фармакологических эффектов полифенолов позволяет заключить, что даже при разной патологии, они

реализуются за счет блокады оксидантного стресса [34, 146, 155, 202, 204, 240, 242], активации ряда ферментов, экспрессии клеточных рецепторов [212] и включения в метаболические каскады [192].

По многочисленным данным антиоксидантный эффект полифенолов в клетке осуществляется, как на стадии инициации в водной фазе, где они восстанавливают АКМ, так и в липидной фазе, где они выступают донорами атомов водорода для липидных радикалов $LO\cdot$ и $LOO\cdot$, ингибируя ПОЛ [21, 114]. Они способны также нейтрализовать ряд искусственных стабильных радикалов [175, 178, 203], в том числе и гидроксиэтильный радикал, образующийся при взаимодействии этанола с $OH\cdot$ [256]. Исследования *in vitro* показывают, что наиболее высокая антиоксидантная активность среди полифенолов в водной фазе присуща молекулам флавонолов, имеющих: две -ОН-группы в положениях C_3 и C_4 ; двойную связь между 2 и 3 атомами углерода совместно с карбонильной группой в положении C_4 ; -ОН-группы в положении C_3 и C_5 совместно с карбонильной группой (мирецетин, кверцетин, кверцетагетин) [155, 216, 241, 249, 251].

В условиях гетерофазной среды клетки антиоксидантная активность не подчиняется полностью указанной закономерности строения, но в целом зависит от общего количества и локализации -ОН-групп у ароматического кольца [179, 214].

Ряд данных свидетельствует, что антиоксидантная активность полифенолов (флавоноидов) может быть связана с хелатированием ионов металлов переменной валентности, индуцирующих в клетке образование -ОН-групп и органических перекисей на стадии разветвления цепей процесса ПОЛ (реакция Фентона и Габер-Вайса) [21, 110, 234]. Cotelle, N [186] даже указывает возможные места связывания ионов металлов: между 3-ОН-группой и карбонильной группой С-кольца, между 5-ОН-группой и карбонильной группой С-кольца и между орто-ОН-группами В-кольца. В то же время исследователи подчеркивают, что «гашение» радикалов и

хелатирование металлов являются комбинированными механизмами в антиоксидантном действии полифенолов, причем доминирование какого либо из них, зависит от специфики ПОЛ, инициируемой в разных клеточных метаболических системах [27, 179].

Интересно, что в высоких концентрациях (более 100 мкМ) в присутствии металлов с переменной валентностью флавоноиды способны повышать образование O_2^- , H_2O_2 , $-OH^\cdot$, усиливая ПОЛ [189, 199]. В этих случаях их прооксидантные, цитотоксические свойства связывают не только с самоокислением, но и с образованием вторичных флавоноидных радикалов, способных взаимодействовать с O_2 и восстановленным глутатионом, генерируя хиноны и O_2^- . Далее, согласно классическим процессам, O_2^- в ходе дисмутации превращается в H_2O_2 , а в присутствии Fe^{2+} образуется OH^\cdot [217, 233]. Структурные закономерности в проявлении прооксидантного эффекта оказались примерно такие же, как и антиоксидантного: количество ОН-групп повышает активность, а О-метилование – снижает [244].

Необходимо отметить, что прооксидантное, цитотоксическое действие полифенолов разных классов (антоцианы, халконы, флавонолы, катехины) может реализоваться либо на фоне дефицита восстановленного глутатиона (GSH) и низкой активности глутатион-S-трансферазы (Г-S-T) [131, 196, 234], либо ингибирования глутатионредуктазы и последующего снижения содержания GSH [184, 222]. Так, в работе Kachadourian, R [218] показано, что ряд флавоноидов (гидрохалкон, дигидрохалконы, хризин, апигенин) понижает содержание GSH в раковых клетках на 50–70%, обеспечивая лечебный цитотоксический эффект. По-видимому, противоопухолевая [133], антибактериальная [5, 156, 173, 174], противогрибковая [74, 193, 198] и противовирусная [166, 201] активность многих полифенолов во многом связана с этими механизмами.

Наоборот – цитопротекторное действие полифенолов большинство исследователей связывают с усилением резистентности к оксидантному

стрессу, что проявляется активацией синтеза антиоксидантных ферментов и повышением содержания GSH [191, 229].

Эти позитивные сдвиги в состоянии АОС особенно заметны на фоне уже развившегося оксидантного стресса. Так, применение пикногенола (экстракт, содержащий катехины, процианиды и фенолоксилокси кислоты) в дозе 1 мг/кг в течение месяца у детей с гиперреактивными нарушениями значительно увеличивало содержание восстановленного глутатиона (GSH) и снижало – окисленного (GSGS) [252]. Экстракт, содержащий процианиды в условиях H_2O_2 индуцированного стресса в культуре клеток повышал экспрессию и активность глутатионовых ферментов и супероксиддисмутазы (СОД) [206, 253]. Кверцетин повышал активность глутатионовых ферментов, каталазы и СОД, значительно сниженную у крыс после ультрафиолетового облучения [195]. Фенольнообогащенные экстракты из расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L.) и черноголовки обыкновенной (*Prunella vulgaris* L.) снижали содержание ТБК-активных продуктов и диеновых конъюгатов, повышали содержание GSH в крови и печени, активность ГП, СОД при гипертриглицеридемии, индуцированной диетой [238]. Экстракт зеленого чая тормозил снижение активности СОД печени у мышей после воздействия этанола, 3-метилхолантрена и инфицирования [34, 204].

Исследования механизма индукции полифенолами (экстракт лука, ягодный сок, мирицетин, кверцетин) ферментной АОС на трансгенных мышцах показали, что полифенолы повышают содержание GSH в скелетных мышцах, мозге и печени посредством экспрессии гена γ -глутамилцистеин синтетазы (γ -ГЦС). [182, 205, 229]. По мнению Moskaug, J [243] такая индукция реализуется исключительно самоокисленными формами флавоноидов: 1 – хиноны высвобождают фактор транскрипции Nrf2, который диффундирует в ядро, связывается с антиоксидант-респонсивным элементом (ARE), активирующим транскрипцию гена γ -ГЦС; 2 – окисленные флавоноиды реагируют с GSH, снижая его концентрацию, что по принципу

обратной связи экспрессирует ген γ -ГЦС. Таким образом, спровоцированный самими же флавоноидами оксидантный стресс, сдвигает ферментную АОС в более устойчивое состояние, превентивуя патологию или ее формирование. Поскольку ARE находится не только в промоторах генов ферментов АОС, но и генов ферментов детоксикации, то одновременно обеспечивается обезвреживание электрофильных ксенобиотиков [110, 204, 243].

Одним из механизмов антиоксидантного действия полифенолов является торможение ими митохондриального дыхания [32, 255]. Предполагается, что, проникая в гидрофобный слой мембраны митохондрий, флавоноиды формируют в нем самостоятельную редокс-систему: семихинон-хинон-гидрохинон, которая шунтирует перегруженную электронами дыхательную цепь и, в условиях гипоксии, помогает значительно улучшить работу органоидов [2, 6].

Полифенолы не только напрямую воздействуют на течение свободно-радикальных процессов, но и опосредованно, ингибируя активность многих ферментов, так или иначе участвующих в продукции АКМ. Так они тормозят активность ксантинооксидазы, миелопероксидазы, липооксигеназы, циклооксигеназы, iNO-синтазы, NADH-оксидазы [186, 215].

По мнению ряда авторов, подавление активности липооксигеназы, циклооксигеназы и iNO-синтазы лежит в основе противовоспалительного действия полифенолов [215, 254].

Полифенолы оказывают эндотелийпротективное действие, обеспечивая нормальное кровоснабжение печени, профилактируя в ней расстройства метаболизма [250]. Так показано, что механизм защитного действия проантоцианидов на капилляры обусловлен угнетением образования активных радикалов и ингибированием некоторых ключевых ферментов эндотелия и матрикса микрососудов [202]. Позитивное действие полифенолов связывают также с усилением продукции NO, обеспечивающего вазорелаксацию [200, 250], со снижением капиллярной

проницаемости, адгезивных свойств эндотелия и антитромбогенным эффектом [11, 239].

Известно, что токсические поражения печени сопровождаются нарушениями липидного обмена и рисками развития атеросклероза. На разных моделях дислипидемий показано отчетливое гиполипидемическое и антиатеросклеротическое действие полифенолов из листьев чая [30, 34, 204], изофлавоногена генистеина [15], флавонолов лютеолина и лютеолин-7-глюкозида [31], флавонолов и их гликозидов из чешуи лука [15], кверцетина и суммы флавоноидов из рододендрона желтого и кавказского [96], флавоноидов клевера красного [19, 33], флавононов гесперидина и гесперитина [14], гесперидинхалкона [25], коричных кислот, их структурных аналогов и производных [65].

Токсические поражения печени часто проявляются холестазом, что усугубляет тяжесть патологии из-за сдавливания желчью сосудистой сети и печеночных балок. Как показывают многочисленные данные, многие полифенолы обладают выраженным желчегонным действием: флавоноиды из бессмертника песчаного и листьев скумпии [119], мяты перечной [117], чистецов прямого и заброшенного [63], тысячелистника [157]. Выраженный желчегонный эффект установлен у индивидуальных полифенолов: кверцетина, рутина, катехина чая, акацетина [212], хлорогеновой, кофейной и хинной кислот, феноловых кислот [237].

Исследования по изысканию перспективных гепатопротекторов интенсивно проводились и проводятся на базе ПМФИ. В частности, получены данные о гепатозащитных свойствах индивидуальных и суммарных флавоноидов из кожуры цитрусов [145, 180], суммы флавоноидов из кипрея холодного (*Epilobium algidum*) [66], различных субстанций флавоноидной природы из растений рода Бархатцы (*Tagetes* L.) [61].

Таким образом, на основании литературных данных, можно заключить, что полифенолы, проявляя широкий спектр фармакологических эффектов,

являются перспективными в плане поиска новых и надежных гепатопротекторов.

1.3 Растения рода Кориандр (*Coriandrum*) — химический состав и биологическая активность

Из большого числа культивируемых пищевых растений флоры Кавказа Кориандр посевной (*Coriandrum sativum* L.) семейства зонтичные (*Apiaceae*) (*Umbelliferae*) может быть перспективным источником получения средств, обладающих в полной мере гепатопротекторной активностью.

Кориандр посевной в диком виде произрастает в восточном Средиземноморье, а на Кавказе, в Крыму и Центральной Азии встречается как одичавший. Кориандр возделывают в очень широких масштабах в России, на Украине, в Румынии, Болгарии, Турции, Марокко. Широкие селекционные исследования, проведенные российскими учеными, позволили создать высокоурожайные и продуктивные отечественные сорта кориандра посевного. Траву широко культивируют в специализированных хозяйствах центрально-черноземных и юго-восточных областей европейской части России. Главные районы возделывания - Воронежская область и Краснодарский край [77, 78].

Известно, что плоды этого растения используют как корректирующее вкус средство, а препараты из них, благодаря содержанию эфирного масла, применяют как возбуждающие аппетит и улучшающие пищеварение. Отвар травы применяют при неврастении, а также для лечения заболеваний печени, желчного пузыря, плоды – в составе желчегонных, слабительных и противогемморoidalных сборов [101, 177, 185]. Выраженные антимикробные свойства плодов кориандра, их спазмолитическое и отхаркивающее действие, обусловленные компонентами эфирного масла, используют при лечении и профилактике острых респираторных заболеваний, бронхитов, трахеитов, пневмоний [47, 101]. В народной медицине настойку плодов употребляют в виде капель как успокаивающее средство при повышенной нервной возбудимости, а настой – для полосканий

горла при ангинах, хронических тонзиллитах, полости рта при стоматитах, и как противосудорожное средство [118, 120]. Порошком плодов присыпают гнойные раны и трофические язвы для ускорения их заживления [104, 161].

Проведены исследования [108] по изучению химического состава надземной части травы кориандра посевного, методом ВЭЖХ установлено наличие 43 веществ, из них идентифицировано 21 соединение фенольной природы, которые в основном представлены флавоноидами, кумаринами и фенолкарбоновыми кислотами. В растении идентифицированы такие соединения как апигенин, лютеолин, гиперозид, гесперидин, виценин, диосмин, ориентин, дигидрокверцетин, хризозеиол, катехин, феруловая, галловая, салициловая кислоты, дикумарин, 4-оксикумарин, эскулетин, эскулин, яблочная, винная, янтарная кислоты и арбутин [102]. Было отмечено, что 40% спиртовая фракция суммы флавоноидов в дозе 50 мг/кг обеспечивает сохранение поведенческих и когнитивных функций животных, способствует улучшению мозгового кровообращения [118].

В настоящее время кориандра посевного эфирные масла и листья в составе различных сборов и фитокомплексов используют для лечения различных патологий, в том числе заболеваний печени и желчных путей [119, 120, 177], однако сведений о гепатопротекторном и желчегонном действии отдельно взятого сырья не имеется.

Сопоставляя имеющиеся данные химического состава травы кориандра посевного с результатами фармакологических исследований, следует прийти к заключению о целесообразности глубокого изучения гепатопротекторных свойств веществ сырья кориандра посевного.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика объектов исследования

В качестве объектов исследования использовали кориандра посевного траву (*Coriandrum sativum* L. herba), интродуцированную в условиях ботанического сада ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

Сырье (травя, прикорневые листья - длинночерешковые, трехраздельные, по краю надрезанно-пильчатые; стеблевые короткочерешковые или сидячие, перистораздельные, с линейными дольками) собирали в фазу цветения в июле – августе высушивали в тени, измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 2-3 мм.

В работе [102] исследован химический состав надземной части травы кориандра с помощью спектральных методов, тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), выявлено наличие 43 веществ, из них идентифицировано 21 соединение фенольной природы, которые в основном представлены флавоноидами, кумаринами и фенолкарбоновыми кислотами. В растении идентифицированы такие соединения как апигенин, лютеолин, гиперозид, гесперидин, виценин, диосмин, ориентин, дигидрокверцетин, хризозеиол, катехин, феруловая, галловая, салициловая кислоты, дикумарин, 4-оксикумарин, эскулетин, эскулин, яблочная, винная, янтарная кислоты и арбутин. Изучен элементный и аминокислотный состав – преобладающими являются калий, натрий, кальций, магний и фосфор, из аминокислот – глютамин, аспарагин, аргинин.

В проведенных нами исследованиях извлечения из кориандра посевного травы были получены в соответствии с требованиями ГФ XIII, при использовании экстрагентов воды и спирта этилового 40% [51].

Водную экстракцию из надземной части кориандра посевного травы осуществляли следующим образом:

100г. сухого сырья помещали в колбу объемом 250 мл, с обратным холодильником и экстрагировали водой в соотношении 1:5 на кипящей

водяной бане в течение 1 часа. Полученные извлечения объединяли, охлаждали и проводили экстракцию 3 раза. Полученные извлечения объединяли, фильтровали и подвергали упариванию на водяной бане в выпарительной чашке до густой массы, охлажденную массу в дальнейшем распределяли равномерным тонким слоем на стенках выпарительной чашки, помещали в сушильный шкаф и выдерживали при температуре 60-70°C для удаления влаги в течение 1,5-2 часов. После охлаждения полученную таким образом обезвоженную массу растирали пестиком до образования порошка. Полученный порошок вновь подвергали выдержке в сушильном шкафу при той же температуре в течение 30 минут, после чего помещали в бюкс или склянку с притертой пробкой.

Спиртовую экстракцию осуществляли следующим образом:

100г. сухого сырья, предварительно измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито диаметром 2-3 мм, помещали в колбу объемом 250 мл, с обратным холодильником при нагревании и постоянном перемешивании экстрагировали спиртом этиловым 40%, в соотношении 1:5 (кратность экстракции – 3, время каждой операции – 1 час от начала кипения). Извлечения объединяли, фильтровали и упаривали в вакууме до небольшого объема (концентрирование). Водно-спиртовый остаток при перемешивании выливали в горячую воду (1:10) и продолжали нагревать, до полного удаления этанола. Полученные извлечения объединяли, фильтровали через мелкопористый бумажный фильтр и подвергали упариванию на водяной бане в выпарительной чашке до густой массы. Охлажденную массу в дальнейшем распределяли равномерным тонким слоем на стенках выпарительной чашки, помещали в сушильный шкаф и выдерживали при температуре 70-80°C для удаления влаги в течение 1,5-2 часов. После охлаждения полученную таким образом обезвоженную массу растирали пестиком до образования порошка. Полученный порошок вновь подвергали выдержке в сушильном шкафу при той же температуре в течение 30 минут, после чего помещали в бюкс или склянку с притертой пробкой.

2.2 Исследование химического состава биологически активных соединений в извлечениях из кориандра посевного травы

2.2.1 Идентификация БАВ извлечений из кориандра посевного травы

Полученные извлечения из кориандра использовали для качественного определения состава БАВ методом хроматографии в тонком слое сорбента на пластинках марки «Сорбфил» в системе растворителей н-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:5). В качестве свидетелей использовали стандартные образцы (СО) рутина, кверцетина, гесперидина и лютеолина [13]. После хроматографирования идентифицировали компоненты БАВ, просматривая хроматограмму в видимом и УФ–свете. На уровне свидетелей рутина и кверцетина обнаружены пятна различной окраски (таблица 1).

Таблица 1 - Результаты ТСХ идентификации фенольных соединений в извлечениях из кориандра посевного травы

Объект исследования	Rf	Элюент	Окраска пятна
Спиртовое извлечение 40%	0,685	БУВ (4:1:5)	желто-коричневое
	0,910	БУВ (4:1:5)	желто-зеленое
Водное извлечение	0,663	БУВ (4:1:5)	желто-коричневое
	0,888	БУВ (4:1:5)	желто-зеленое
СО рутин	0,674	БУВ (4:1:5)	желто-коричневое
СО кверцетин	0,921	БУВ (4:1:5)	желто-зеленое

Из данных сравнительного хроматографического анализа извлечений из кориандра посевного травы можно сделать вывод, что они характеризуются близким полифенольным составом.

Установлено, что наиболее четкое разделение компонентов извлечений из кориандра наблюдается в системе растворителей БУВ (4:1:5).

2.2.2 Спектрофотометрический анализ флавоноидов

Для спектрофотометрического определения флавоноидов нами была использована реакция комплексообразования с алюминия хлоридом в среде

спирта этилового 40%. Определение проводили по методике, предложенной ГФ XIII. Полученные спектры позволяют идентифицировать рутин, по наличию максимума поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 415 нм (рисунок 3).

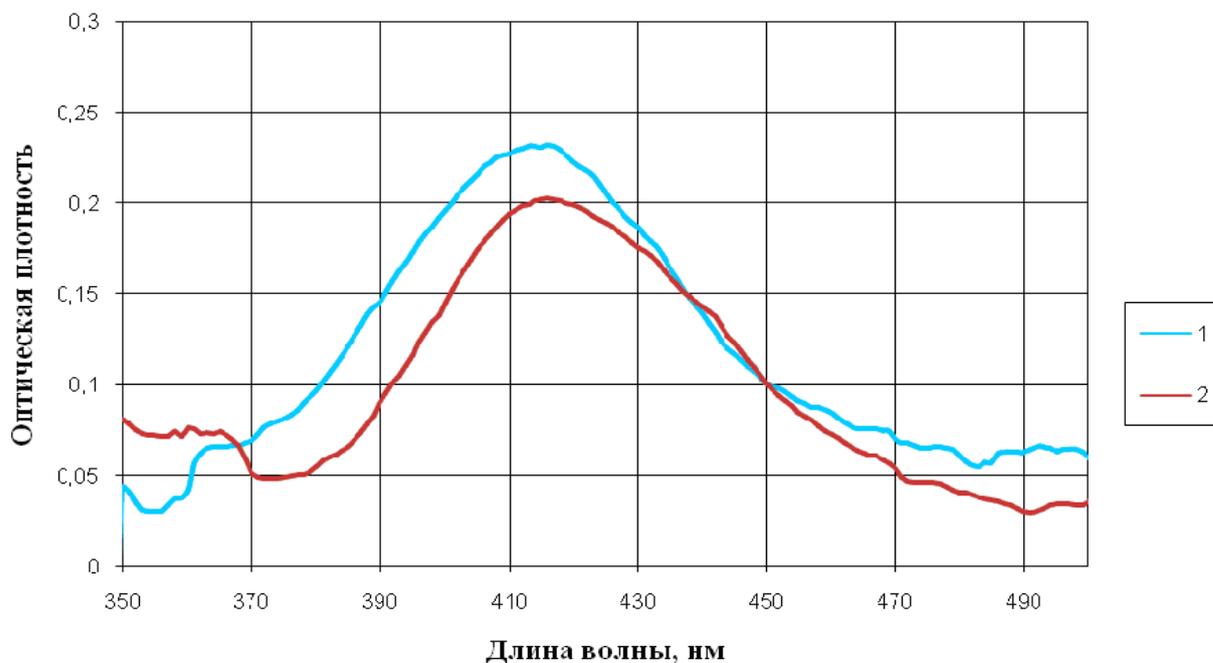


Рисунок 3 – УФ-спектры поглощения комплекса флавоноидов с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида: 1) водное извлечение; 2) 40%-спиртовое извлечение.

Расчет количественного содержания флавоноидов в пересчете на рутин проводили по величине удельного показателя светопоглощения комплекса с реактивом [50, 51]. Результаты представлены в таблице 2.

Содержание суммы флавоноидов в процентах (X_1) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле 1:

$$X_1 = \frac{A \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_{1\%}^{1\text{см}} \cdot a \cdot 5 \cdot (100 - W)} \quad (1)$$

где: A – оптическая плотность исследуемого раствора;

$A_{1\%}^{1\text{см}}$ – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия

хлоридом при длине волны 415 нм, равный 248;

a – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %.

Таблица 2 - Содержание суммы флавоноидов в извлечениях полученных из кориандра посевного травы

Образец	Навеска сырья, г	Оптическая плотность	Сумма флавоноидов, %	Метрологические характеристики
Спиртовое извлечение, 40%	0,3022	0,2025	1,45	$\bar{x} = 1,45$ $S\bar{x} = 0,0077$ $\Delta x = 0,0199$ $E = 1,37 \%$
	0,3014	0,2044	1,47	
	0,3036	0,1998	1,42	
	0,3085	0,2069	1,47	
	0,3046	0,2026	1,44	
	0,3063	0,2054	1,45	
Водное извлечение	0,3065	0,2317	1,64	$\bar{x} = 1,64$ $S\bar{x} = 0,0182$ $\Delta x = 0,0468$ $E = 2,86 \%$
	0,3002	0,2144	1,55	
	0,3050	0,2348	1,67	
	0,3023	0,2292	1,65	
	0,3026	0,2278	1,63	
	0,3041	0,2339	1,67	

Установлено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в спиртовом извлечении в пределах от 1,42 до 1,47% и водном извлечении – 1,55-1,67%. В связи с этим предлагаем установить показатель содержания суммы флавоноидов в сырье не менее 1,4%, при влажности сырья от 1,37% до 2,86%.

2.2.3 Определение содержания антиоксидантов в различных извлечениях из кориандра посевного травы

Суммарное содержание антиоксидантов определяли в водном и 40% спирто – водном извлечениях, полученных из травы кориандра посевного. Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Цвет Яуза-01-АА», где в

качестве стандартного образца использовали кверцетин и/или галловую кислоту, как рекомендовано в инструкции к прибору [121, 170].

Приготовление контрольных растворов кверцетина и градуировочных растворов осуществляли по соответствующей схеме [113].

Суммарную концентрацию антиоксидантов измеряли, используя градуировочный график зависимости выходного сигнала от концентрации кверцетина и/или галловой кислоты [170]. При расчете результата учитывали разбавление пробы.

Массовую концентрацию X , мг/г, определяли по формуле:

$$X = \frac{X_T \cdot V_n \cdot N}{m_n \cdot 1000} \quad (2)$$

где: X_T – массовая концентрация антиоксидантов, найденная по градуировочному графику, мг/л;

V_n – объем раствора (извлечения) анализируемой пробы, мл;

m_n – навеска анализируемого вещества, г;

N – кратность разбавления анализируемого образца.

Установлено содержание антиоксидантов в 40% спиртовом и водном извлечениях. В извлечении из травы кориандра посевного, полученного 40% спиртом этиловым содержание антиоксидантов в пересчете на кверцетин составляет $1,764 \pm 0,023$ мг/г, на галловую кислоту – $1,131 \pm 0,015$ мг/г.

В извлечении из кориандра посевного травы, полученного водой очищенной содержание антиоксидантов в пересчете на кверцетин составляет $1,959 \pm 0,021$ мг/г, на галловую кислоту – $1,261 \pm 0,018$ мг/г.

2.3 Лабораторные животные

Исследования выполнены на 468 половозрелых беспородных белых крысах линии Wistar обоего пола массой 170-280 г. Животные находились в стандартных условиях вивария при естественной смене свето-темнового режима, температуре окружающего воздуха ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), относительной

влажности ($65\pm 5\%$) [80]. Для размещения крыс применялись макролоновые клетки Т-3 со стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. Подстилочным материалом служили древесные опилки. Животные содержались на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к корму (ГОСТ Р 50258–92) и воде. Клетки, подстил, аксессуары менялись еженедельно [48, 49]. Все манипуляции с животными проводились с соблюдением международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях [58]. Кроме того, руководствовались правилами лабораторной практики при проведении научных исследований в РФ (ГОСТ Р- 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики») и Приказом МЗ РФ от 23.08.2010 №708 Н «Правила лабораторной практики».

2.4 Экспериментальные модели поражения печени

Модель острого поражения печени тетрахлорметаном воспроизводили путем перорального введения с помощью металлического атравматического зонда 3 раза через день 50% раствора CCl_4 в вазелиновом масле в дозе 0,15 мл/100 г массы тела [56].

Острое алкогольное поражение печени воспроизводили курсовой алкоголизацией крыс путем двухкратного внутрибрюшинного введения 33% раствора этанола в дозе 0,75 мл/100 г массы тела животного в течение 7 дней. Исследуемые извлечения в дозе 150 мг/кг массы тела животного вводились ежедневно 2 раза в сутки в течение 12 дней внутривентрикулярно (через зонд) - за 5 дней до введения раствора этанола, а затем совместно с ним (7 дней) – за 1 час до введения этанола [143].

2.5 Постановка опытов и основные экспериментальные серии

2.5.1 Определение острой токсичности

Определение острой токсичности исследуемых извлечений проводили согласно методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ [128].

Острую токсичность водного извлечения кориандра посевного (ВИКП) и 40%-спиртового извлечения кориандра посевного (СИКП) изучали на 72 здоровых крысах-самках линии Wistar массой тела 170–190г. по методу Кербера [18]. Животных выдерживали на карантине в течение 14 суток до постановки эксперимента. В каждую опытную группу отбирали по 6 крыс с отклонением в массе тела не более чем на 10% от среднего значения. Острую токсичность определяли при пероральном внутрижелудочном введении через зонд исследуемых извлечений в диапазоне доз – 100 мг/кг до 5500 мг/кг. В связи с технологическими особенностями приготовленных извлечений и учетом максимальных объемов, допустимых для разового перорального введения крысам определенной весовой категории (1мл/100г массы тела), прибегали к дробному введению извлечений в больших дозах с интервалом между введениями в 1 час в течение периода, не превышающего 24 часа. Животные контрольной группы получали идентичный объем воды очищенной. Состояние крыс оценивали: первый день непрерывно, затем однократно каждый день в течение 14 суток.

Критерием оценки служила выживаемость животных, на основании чего рассчитывалась доза LD₅₀. Регистрировалось общее состояние крыс, интенсивность двигательной активности, наличие и характер судорог, координация движений, реакция на болевые, тактильные, звуковые и световые раздражители, частота и глубина дыхательных движений, состояние волосяного и кожного покрова, консистенция фекальных масс, потребление корма и воды. Класс токсичности осуществляли по классификации Ходже и Стернера [17].

2.5.2 Исследование гепатотоксичности

Функциональную активность печени оценивали по продолжительности сна животных [128, 129], отражающего состояние микросомальной системы, метаболизирующей ксенобиотики, в частности, этаминал натрия. Эксперимент проводили на 76 крысах массой 240–260г. по В.В. Гацура [37,

136]. Этаминал натрия вводили внутривенно в дозе 40 мг/кг на 14-й день после курсового введения исследуемых извлечений в разных дозах на фоне токсического поражения печени тетрахлорметаном [56]. Продолжительность сна (по боковому положению) регистрировали в минутах. Результаты статистически обрабатывались и выражались в виде средней арифметической (M) и ее стандартной ошибки (m).

2.5.3 Обоснование выбора доз исследуемых извлечений и препаратов сравнения при поражении печени тетрахлорметаном

Проведенные фармакологические исследования [56, 99, 116, 127, 147, 210] показали, что при изучении гепатозащитной активности различных извлечений, полученных из растительных объектов, чаще всего используются дозы в диапазоне от 100 мг/кг до 200 мг/кг. Исходя из этих данных и рекомендаций [128, 129], для установления эффективной дозы ВИКП и СИКП нами были выбраны: 30, 150, 250 и 500 мг/кг, одна из которых соответствовала рекомендуемой дозе препарата сравнения Силибинина (торговое наименование Карсил) – 100-200 мг/кг [129].

Карсил и Хофитол использованы в качестве эталонных препаратов сравнения, рекомендуемые при изучении эффективности гепатопротекторов растительного происхождения [128, 129]. Дозы препаратов сравнения были рассчитаны исходя из значений суточной дозы для человека, с использованием межвидовых коэффициентов пересчета [128]. В качестве растительного объекта сравнения применили водное извлечение кукурузных рылец и 40%-спиртовое извлечения кукурузных рылец (ВИКР и СИКР), полученные соответственно (гл. 2.1.) [129, 167].

Токсическое поражение печени вызывали тетрахлорметаном (см. гл. 2.4.). Выбор способов введения ВИКП и СИКП основывался на их соответствии и способах применения предполагаемых лекарственных форм (ВИКП и СИКП – для перорального применения) в клинике [128, 129]. Извлечения вводили перорально в виде жидкой суспензии ежедневно в одно и то же время до кормления по лечебно-профилактической схеме: в течение 7

дней до начала введения CCl_4 , а затем на фоне воспроизведения модели (7 дней). В случае совместного применения веществ и CCl_4 , вещества вводили за 1 час до использования гепатотоксина (гл. 2.4). В качестве контроля служила группа животных, получавших такой же объём растворителя (вода очищенная) перорально (CCl_4 +растворитель). Животных декапитировали через сутки после последнего введения тетрахлорметана. Одновременно проводили забой интактных животных.

Об эффективности гепатопротекторного действия судили:

1) по изменению биохимических маркеров, характеризующих токсическое поражение печени: холестаза (содержание ОБР), нарушение белкового обмена (содержание ОБ в сыворотке крови), уровень ПОЛ (содержание ТБК–продуктов в сыворотке крови), жировая дистрофия (содержание ТРГ в печени); 2) по проценту выживших животных; 3) по коэффициенту гепатопротекции.

Определение биохимических показатели описано ниже (гл. 2.6.). Коэффициент гепатопротекции рассчитывали для каждого биохимического показателя, используя формулу:

$$H = \left[1 - \frac{[O - N]}{[K - N]} \right] \times 100\% \quad (3)$$

где, H – коэффициент гепатопротекции,

O – показатель опытной группы,

N – показатель интактной группы,

K – показатель контрольной группы [56].

Приближение величины коэффициента к 100%, свидетельствовало о повышении эффективности гепатозащитного действия.

2.5.4 Определение желчевыделительной функции печени у интактных животных и в условиях острого поражения печени тетрахлорметаном

Оценку желчевыделительной функции печени проводили на 83 крысах – самках линии Wistar 240-280г. на 14-е сутки после курсового введения ВИКП и СИКП в дозах 150 мг/кг интактным животным, и в условиях

токсического поражения печени тетрахлорметаном. В последнем случае исследуемые извлечения вводили в такой же дозе 150 мг/кг в течение 7 дней до начала введения CCl_4 , а затем на фоне воспроизведения модели острого CCl_4 -гепатита (7 дней), как описано (гл. 2.4). В качестве контроля использовали животных, получавших 14 дней растворитель (воду очищенную). Объектами сравнения служили Карсил, Хофитол, ВИКР и СИКР (полученные соответственно схеме в гл. 2.1.) в дозах 150 мг/кг. Интенсивность желчевыделительной функции печени определяли по количеству желчи, выделившейся в течение 3 часов, методом М.Д. Литвинчук и З.И. Новосилец [86]. Суть методики заключалась в формировании у животных, наркотизированных внутривенным введением этаминала натрия в дозе 40 мг/кг, замкнутого «мешочка» 12-перстной кишки за счет перевязки ее выше и ниже отверстия желчного протока. В «мешочек» вставляли канюлю, через которую собирали выделяющуюся желчь в мерную пробирку в течение 3 часов, что и явилось критерием желчевыделительной функции.

В полученном объеме желчи определяли содержание желчных кислот и холестерина по В.П. Мирошниченко [100]. Суть метода заключалась в измерении максимумов спектров поглощения продуктов холестерина (480 нм), а также желчных кислот при нагревании 60°C (380-390 нм), полученных в результате взаимодействия холестерина и желчных кислот с раствором хлорного железа в смеси равных объемов ледяной уксусной и концентрированной серной кислот. Расчет исследуемых компонентов желчи проводили по формулам (4, 5) и выражали в мг%:

$$C_{\text{жк}} = 114 \cdot D_{385} \cdot P \quad (4);$$

$$C_{\text{хс}} = 50 \cdot (D_{480} - 0,04D_{385}) \cdot P \quad (5);$$

$C_{\text{жк}}$ - концентрация желчных кислот, г/л;

$C_{\text{хс}}$ - концентрация холестерина, г/л;

D_{385} , D_{480} , - величины оптических плотностей при соответствующих длинах волн;

P - разведение желчи.

2.6 Методы исследования

2.6.1 Оценка поражения печени по биохимическим показателям

2.6.1.1 *Определение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови*

Активность аланинаминотрансферазы (АлАт) в сыворотке крови определяли методом Reitman S. и Frankel S. [73] с использованием набора реактивов фирмы «Lachema». Принцип метода основан на измерении оптической плотности гидразонов 2- оксоглутаровой и пировиноградной кислот в щелочной среде, полученных катализом фермента (АлАт) реакции между L- аланином и 2- оксоглутаратом. Активность фермента выражали в мккат/л.

2.6.1.2 *Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови*

Активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови определяли методом Bessey O.A., Lowry O.H., Brock M.I. [73] с помощью набора реактивов фирмы «Lachema». Сущность метода состоит в фотометрическом определении 4-нитрофенола – продукта реакции катализа ЩФ субстрата 4-нитрофенилфосфата в N-метил-Д-глюкаминовом буфере. Результаты выражали в Ед/л.

2.6.1.3 *Определение содержания общего белка в сыворотке крови*

Содержание общего белка (ОБ) в сыворотке крови определяли биуретовым методом [73] с помощью набора реактивов ООО «Агат-Мед» Общий белок – АГАТ. Принцип метода заключается в фотометрическом измерении комплекса сине-фиолетового цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации общего белка при длине волны 540 (500-560) нм, образующегося при взаимодействии в щелочной среде ионов меди с пептидными связями белков сыворотки крови. Результаты выражали г/л.

2.6.1.4 Определение содержания общего билирубина в сыворотке крови

Содержание общего билирубина (ОБР) в сыворотке крови определяли методом Йендрашика, Клеггорт, Гроф [73] с использованием набора реактивов фирмы «Lachema». Сущность метода состоит в фотометрическом измерении раствора азокрасителя, образовавшегося в результате реакции азосочетания билирубина с диазотированной сульфаниловой кислотой. Содержание общего билирубина выражали в мкмоль/л.

2.6.1.5 Определение содержания общего холестерина в сыворотке крови

Содержание общего холестерина (ХС) в сыворотке крови определяли фотометрически методом Илька [73] при использовании набора реактивов фирмы «Lachema». Результаты выражали в ммоль/л.

2.6.1.6 Определение содержания триглицеридов в сыворотке крови

Содержание триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови определяли методом Готтфрида и Розенберга [73] с помощью набора реактивов фирмы «Lachema». Принцип метода заключается в следующем: освобожденный в результате щелочного гидролиза ТГ глицерин окисляют до формальдегида с помощью мета-перйодата натрия. Образовавшийся формальдегид дает с ацетилацетоном 3,5- диацетил- 1,4- дигидролүтидин, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию триглицеридов. Результаты выражали в ммоль/л.

2.6.1.7 Определение содержания триглицеридов в печени

Количество триглицеридов в гомогенате печени определяли по Gottfrieds S.P., Rosenberg B. в модификации Сентебовой [134]. Суть модификации заключается в измерении стандартный раствора триолеина, котрый содержит 80% воды, что устраняет ошибки экстрагирования [134]. Гомогенат печени готовили на 0,85% растворе NaCl в соотношении 1:8 или на 100 мМ трис-HCl буфере, рН 7,4 в соотношении 1:7. Результаты выражали в мкмоль/г.

2.6.1.8 Определение содержания гликогена в печени

Содержание гликогена в печени определяли после его щелочного гидролиза по реакции с реактивом – фенолом в кислой среде – фотометрически и выражали в г/кг массы печени [226].

2.6.2 Оценка про-/антиоксидантного статуса

2.6.2.1 Определение содержания ТБК-активных продуктов в сыворотке крови

Содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой с использованием диагностического набора "Агат-Мед". Сущность метода состоит в фотометрическом измерении окрашенного комплекса, образовавшегося в результате реакции продуктов ПОЛ в присутствии ортофосфата с тиобарбитуровой кислотой, интенсивность которого, после экстрагирования бутанолом, при длинах волн 535 и 570 нм, пропорциональна концентрации МДА [36, 258], с учетом использования коэффициента молярной экстинкции МДА ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Результаты выражали в мкмоль МДА /л.

2.6.2.2 Определение содержания ТБК-активных продуктов в гомогенате печени

ТБК – активные продукты в печени определяли по методу Ohkawa и соавт [231]. Гомогенат печени готовили на 0,85% растворе NaCl в соотношении 1:8 или на 100 mM трис-HCl буфере в соотношении 1:7. Метод заключается в превращении гидроперекисей ПОЛ в малоновый диальдегид, который окрашивается в последующем с тиобарбитуровой кислотой. Спектры окрашенных бутанольных экстрактов измеряли при 535 нм и 520 нм на СФ-46. Расчет производили по разности экстинкций, используя коэффициент молярной экстинкции МДА ($-1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Результаты выражали в нмоль на 1 мг белка в реакционной смеси. Белок определяли по методу Лоури в модификации Миллера [224].

2.6.3 Оценка состояния эндогенной антиоксидантной системы (АОС)

2.6.3.1 Определение активности супероксиддисмутазы (СОД)

Активность СОД определяли по торможению образования формазана п-нитротетразолия хлористого (НТХ) супероксид-ани в ПФП при 440 нм в сравнении с контролем, не содержащим постъядерной фракции, как описано [162]. В качестве индикатора $O_2^{\cdot -}$ использовали НТХ, восстановленную форму которого (формазан) растворяли в ацетоне. Генерацию $O_2^{\cdot -}$ осуществляли облучением лампой дневного света на расстоянии 20 см в течение 5 мин (при температуре 20-24°C), при использовании фотохимической системы, содержащей $2,8 \cdot 10^{-5}$ М рибофлавина, $1 \cdot 10^{-2}$ М тетраметилэтилендиамина в 0,05М К-фосфатном буфере, рН 7,8. Извлечение СОД из ультраструктур клетки осуществляли 0,5% раствором дезоксихолата (ДОХ). Реакцию останавливали добавлением 20% ТХУ и ацетона. Измеряли оптическую плотность на КФК-3 при 440 нм. Степень торможения продукции формазана рассчитывали в % и определяли соответствующее проценту торможения количество единиц активности СОД по формуле:

$$\text{Ед. акт.} = 10^{(0,026x\% \text{ торможения} - 1,3)} \quad (6),$$

для прямолинейного участка кривой (от 20% до 80% торможения продукции формазана) и выражали активность СОД в ед. акт /мг белка.

2.6.3.2 Определение активности каталазы

Активность каталазы определяли в ПФП спектрофотометрическим методом при 410 нм по скорости разрушения перекиси водорода в присутствии 4% раствора молибдата аммония, с которым она образует окрашенное соединение [96]. Расчет активности каталазы производили по разности экстинкций опытной и холостой проб, используя коэффициент молярной экстинкции перекиси водорода ($22,2 \cdot 10^3 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$). Результаты выражали в нмоль/мин/мг белка.

2.6.3.3 Определение содержания восстановленного глутатиона в печени

По реакции с аллоксаном с образованием продукта «аллоксан-305», имеющего максимум поглощения при 305 нм в безбелковом фильтрате, определяли восстановленный глутатион (GSH), как описано [98]. Количество образующегося комплекса прямо пропорционально содержанию GSH в пробе. Величину поглощения при 305 нм измеряли на СФ-46. Расчет количества глутатиона в пробе проводили с помощью калибровочной кривой, построенной по стандартным растворам восстановленного глутатиона. Содержание GSH рассчитывали по формуле:

$$X = m \cdot V_1 \cdot 100 / V_2 \cdot P \cdot 1000 \quad (7),$$

где; m – содержание глутатиона в пробе по калибровочной кривой, мкг;

V_1 - общий объем безбелкового центрифугата, мл;

V_2 - объем центрифугата, взятый на определение, мл;

P – навеска ткани, г.

Результаты содержания GSH выражали в г/кг.

2.6.4 Выделение постъядерной фракции печени

После декапитации животного печень перфузировали холодным 0,125 М раствором калия хлорида, затем быстро извлекали и дополнительно охлаждали 3-5 мин на льду, содержащем 100 мМ трис-НС1 буфер (рН 7,4) в соотношении 1:7 (2 г печени на 14 мл среды выделения). Навеску печени продавливали через стеклянный пресс и гомогенизировали со средой выделения на холоде в гомогенизаторе с тефлоновым пестиком 30 секунд (скорость вращения 1000 оборотов в минуту, зазор стекло-тефлон около 0,2 мм). Постъядерную фракцию печени (ПФП) получали центрифугированием при 3000 g в течение 10 мин при +4°C.

2.7 Гисто–морфологическое исследование печени

По окончании экспериментального периода животных подвергали декапитации, с последующим вскрытием и изъятием печени для гистологических исследований. Материал фиксировали в 10%-формалине. Срезы тканей готовили общепринятым методом заливки в парафиновые

блоки, окраску проводили гематоксилин - эозином. Описание гистологической картины проводили с использованием светового микроскопа ЛОМО при увеличениях $\times 160$ и $\times 360$ в проходящем свете. Микрофотографии срезов выполняли с помощью компьютеризированного микроскопа [116]. Для морфометрических измерений использовали компьютерную программу для анализа изображений ImageJ 1.4.

2.8 Статистическая обработка результатов эксперимента

Результаты проведенных опытов обрабатывали методом вариационной статистики. Для определения достоверности количественных различий результатов опытов, проведенных на разных группах животных, вычисляли среднее арифметическое (M) и среднюю ошибку среднего арифметического (m). Данные представлены в виде $M \pm m$. Различия между изучаемыми показателями считали статистически значимыми при вероятности $p < 0,05$. Для оценки достоверности различий при парном сравнении независимых данных использовались t -тест. Для многопараметровых исследований статистическая обработка результатов проводилась с использованием критерия Краскела–Уоллиса с постобработкой тестом Данна, либо с использованием однофакторного дисперсионного анализа и теста Ньюмена–Кейлса при нормальном распределении данных. Результаты наблюдений обсчитывались с помощью двухфакторного ANOVA метода [12, 18, 82, 95, 148]. Расчет и статистическая обработка экспериментальных данных реализованы в программе «Microsoft Office Excel 2007» [91].

ГЛАВА 3 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ, ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ, ЭФФЕКТИВНОЙ ДОЗЫ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЖЕЛЧЕВЫДЕЛЕНИЕ

3.1 Результаты исследования острой токсичности водного и спиртового извлечений из кориандра посевного травы

ВИКП и СИКП вводили для предварительной оценки токсичности в дозах 100, 1000, 2000, 4000 мг/кг. Для достоверной оценки безопасности применения ВИКП и СИКП было проведено определение «острой» токсичности по Керберу [19] с учетом рекомендаций фармакологического комитета по изучению общетоксического действия фармакологических средств [128, 136]. Сухие ВИКП и СИКП растворяли в воде и вводили крысам массой 170–190г. перорально с помощью металлического зонда в дозах от 3000 до 5500 мг/кг. При увеличении вводимой дозы увеличивался объем жидкости, который осуществляли дробным введением в допустимом объеме (1мл/100г массы тела) с интервалом 1 час в течение 24 часов. Более высокие дозы не удалось применить по техническим причинам.

Наблюдение за животными в ходе эксперимента показало, что после введения исследуемых извлечений в вышеуказанных дозах на протяжении двух недель, во всех опытных группах летальность животных отсутствовала. У экспериментальных крыс основные виды реакций: поведенческие (двигательная активность, возбудимость, реактивность, агрессивность), нервно–мышечные (координация движений, тонус скелетных мышц, реакция на прикосновение) и вегетативные (размер зрачка, состояние волосяного и кожного покрова, частота и глубина дыхательных движений) соответствовали норме.

Результаты обработки материала по изучению острой токсичности представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 - Определение острой токсичности водного извлечения из кориандра посевного травы по Керберу на крысах самках

Дозы, мг/кг	3000	3500	4000	4500	5000	5500
n	6	6	6	6	6	6
Выжило	6	6	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0	0	0
d	500	500	500	500	500	500
z	0	0	0	0	0	0
dz	0	0	0	0	0	0

Таблица 4 - Определение острой токсичности спиртового извлечения из кориандра посевного травы по Керберу на крысах самках

Дозы, мг/кг	3000	3500	4000	4500	5000	5500
n	6	6	6	6	6	6
Выжило	6	6	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0	0	0
d	500	500	500	500	500	500
z	0	0	0	0	0	0
dz	0	0	0	0	0	0

Расчеты LD_{50} производили по формуле:

$$LD_{50} = LD_{100} - (\Sigma dz/n) \quad (8),$$

где, z– показатель разницы между количеством погибших животных при использовании двух соседних доз;

d– показатель разницы между количеством двух соседних доз;

n – количество животных в каждой группе

Как видно из представленных в таблицах 3 и 4 данных, при введении сухих ВИКП и СИКП в дозе 5500 мг/кг гибели крыс не наблюдалось ($LD_{50} = 5500 - (0/6) = 5500$ мг/кг), в связи с чем отметили, что $LD_{50} > 5500$ мг/кг. Оценивая безопасность применения ВИКП и СИКП по различным классификациям токсичности, пришли к заключению, что данные извлечения относятся к V классу токсичности по Ходже и Стернеру «практически нетоксичным веществам» для человека [17, 137].

3.2 Результаты исследования гепатотоксичности водного и спиртового извлечений из кориандра посевного травы

Гепатотоксичность ВИКП и СИКП определяли по продолжительности этаминал натриевого сна животных. Эксперимент проводили на 76 крысах массой 240–260г. по В.В. Гацура [37, 136]. Этаминал натрия вводили внутрибрюшинно в дозе 40 мг/кг на 14-е сутки после курсового введения исследуемых извлечений в разных дозах (30; 150; 250 и 500 мг/кг) в условиях острого токсического поражения печени, индуцированного 50% раствором тетрахлорметана [56]. В качестве контрольных использовали животных, получавших идентичный объем воды очищенной. Продолжительность сна регистрировали в минутах. Длительность сна оценивали по времени нахождения животных в боковом положении, окончанием сна считали момент восстановления рефлекса переворачивания. Результаты наблюдений представлены в таблицах 5 и 6.

Из приведенных данных следует, что в отличие от группы контрольных животных, введение ВИКП и СИКП вызвало заметное и достоверное укорочение сна, максимально в дозе 150 мг/кг (для ВИКП на 55,7%, для СИКП – на 53,3% соответственно).

Таблица 5 - Продолжительность этаминалового сна у крыс с токсическим поражением печени тетрахлорметаном, получавших ВИКП в разных дозах

№ п/п	Группы животных	n	Продолжительность сна крыс, (минуты)		
			M± m	P	%
1.	Интактные (вода очищенная и этаминал натрия (40 мг/кг))	9	152,6±3,58		100
2.	Контроль (CCl ₄) и этаминал натрия (40 мг/кг)	6	447,8±49,32	P ₁ <0,001	293,4
3.	ВИКП (30мг/кг) и этаминал натрия (40мг/кг)	7	227,8±19,54	P ₁ <0,01 P ₂ <0,01	149,3
4.	ВИКП (150мг/кг) и этаминал натрия (40мг/кг)	9	198,4±13,24	P ₁ <0,02 P ₂ <0,01	130,0
5.	ВИКП (250мг/кг) и этаминал натрия (40мг/кг)	8	267,1±23,86	P ₁ <0,01 P ₂ <0,02	175,0
6.	ВИКП (500мг/кг) и этаминал натрия (40мг/кг)	7	238,0±7,72	P ₁ <0,001 P ₂ <0,01	155,8

Примечание: n – количество животных;

P₁ - вероятность различия по отношению к интактным;

P₂- вероятность различия по отношению к контролю

Таблица 6 - Продолжительность этаминалового сна у крыс с токсическим поражением печени тетрахлорметаном, получавших СИКП в разных дозах

№ п/п	Группы животных	n	Продолжительность сна крыс, (минуты)		
			M± m	P	%
1.	Интактные (вода очищенная и этаминал натрия (40 мг/кг))	9	152,6±3,58		100
2.	Контроль (CCl ₄) и этаминал натрия (40 мг/кг)	6	447,8±49,32	P ₁ <0,001	293,4
3.	СИКП (30мг/кг) и этаминал натрия (40 мг/кг)	8	248,3±12,80	P ₁ <0,001 P ₂ <0,01	162,7
4.	СИКП (150 мг/кг) и этаминал натрия (40мг/кг)	8	208,9±12,20	P ₁ <0,01 P ₂ <0,01	136,9
5.	СИКП (250мг/кг) и этаминал натрия (40мг/кг)	6	345,0±28,31	P ₁ <0,001 P ₂ <0,05	226,1
6.	СИКП (500мг/кг) и этаминал натрия (40 мг/кг)	6	396,2±31,27	P ₁ <0,001 P ₂ >0,05	259,6

Примечание: n – количество животных;

P₁ - вероятность различия по отношению к интактным;

P₂- вероятность различия по отношению к контролю

Уменьшение продолжительности этаминалового сна на фоне введения изучаемых извлечений, свидетельствует о наличии гепатопротекторного действия, приводящего к сохранению активности микросомальной системы печени, обеспечивающей реакции биотрансформации ксенобиотиков, катализирующиеся ферментами эндоплазматического ретикулума с участием цитохрома P₄₅₀.

3.3 Результаты определения эффективной терапевтической дозы водного и спиртового извлечений кориандра посевного на модели поражения печени тетрахлорметаном

Для подтверждения эффективности дозы ВИКП и СИКП – 150 мг/кг, исследована динамика влияния различных доз (30, 150, 250 и 500 мг/кг) на изменение биохимических маркеров при токсическом поражении печени тетрахлорметаном.

Из материалов, представленных в таблице 7 видно, что интоксикация тетрахлорметаном нарушала все функции печени: белково–синтетическую, липосинтезирующую (снизилось содержание ОБ на 27,2%, повысился уровень ОБР на 553%), наблюдались глубокие повреждения гепатоцитов с увеличением содержания ТРГ в печени крыс на 110,6% и повышением ТБК-продуктов в сыворотке крови – на 175,1%, в сравнении с интактной группой животных.

При пероральном введении ВИКП в дозе 30 мг/кг эти показатели (ОБР, ТБК-активные продукты сыворотки крови и ТРГ печени), за исключением ОБ, оставались достоверно выше интактных – на 432,1%, 115,4%, 97,6% соответственно (таблица 7).

При приеме ВИКП в дозе 150 мг/кг наблюдалось значительное, в сравнении с контролем, снижение содержания ОБР – на 32,1% ($p < 0,02$), ТБК-активных продуктов – на 25,6% ($p < 0,01$), ТРГ – на 32,8% ($p < 0,01$), увеличилось – ОБ на 21,3% ($p < 0,05$), что говорит о повышении эффективности действия ВИКП в дозе 150 мг/кг в отличие от введения ВИКП (30 мг/кг).

Таблица 7 - Изменение биохимических маркеров при пероральном введении разных доз ВИКП при токсическом поражении печени тетрахлорметаном

Показатель	Интакт-ные n=9	Контроль, (CCl ₄ +H ₂ O) n=6	CCl ₄ + ВИКП, 30мг/кг, n=6	CCl ₄ + ВИКП, 150мг/кг, n=8	CCl ₄ + ВИКП, 250мг/кг, n=6	CCl ₄ + ВИКП, 500мг/кг, n=6
Общий белок сыворотки крови (ОБ), г/л	91,5±1,95	66,6±5,11 P ₁ <0,01**	73,7±2,89 P ₁ <0,001* P ₂ >0,05 P ₃ <0,05	80,8±1,48 P ₁ <0,01 P ₂ <0,05	70,3±2,70 P ₁ <0,001** P ₂ >0,05 P ₃ <0,01	66,8±2,52 P ₁ <0,001*** P ₂ >0,05 P ₃ <0,001
Общий билирубин крови (ОБР) мкмоль/л	5,3±0,22	34,6±1,26 P ₁ <0,001***	28,2±2,68 P ₁ <0,001* P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	23,5±1,45 P ₁ <0,001* P ₂ <0,02	31,4±2,48 P ₁ <0,001** P ₂ >0,05 P ₃ <0,05	30,2±3,02 P ₁ <0,001* P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
ТБК-активные продукты плазмы крови, мкмоль/л	2,85±0,540	7,84±0,487 P ₁ <0,001***	6,14±0,344 P ₁ <0,001 P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	5,83±0,155 P ₁ <0,01 P ₂ <0,01	7,26±0,355 P ₁ <0,001*** P ₂ >0,05 P ₃ <0,01	6,46±0,448 P ₁ <0,001* P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
Триглицериды печени (ТРГ), мкмоль/г	n=6 14,29±1,532	n=6 30,09±2,309 P ₁ <0,001**	n=6 28,24±4,100 P ₁ <0,05 P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	n=6 20,24±1,886 P ₁ <0,05 P ₂ <0,01	n=6 22,34±2,496 P ₁ <0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	n=6 25,41±3,217 P ₁ <0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
Примечание: n- количество опытов, P ₁ - вероятность различия по отношению к интактным, P ₂ - вероятность различия по отношению к контролю, P ₃ - вероятность различия по отношению к ВИКП (150 мг/кг). (*-p<0,05;**-p<0,01;***-p<0,001)- однофакторный дисперсионный анализ (t-критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой тестом Данна)						

При увеличении дозы до 250 мг/кг в сыворотке крови достоверно снизилось содержание ОБ на 23,3%, увеличился ОБР на 492,5%, содержание ТБК-активных продуктов – на 154,7%, уровень ТРГ в печени – на 56,3%, только по отношению к интактным показателям. Дальнейшее ее повышение до 500 мг/кг, не привело к существенным изменениям вышеперечисленных показателей.

По значению коэффициента гепатопротекции (гл. 2.5.3.), с учетом восстановления биохимических маркеров показано, что наиболее высокий коэффициент (49%) отмечался у животных, получавших ВИКП в дозе 150 мг/кг, который достоверно превосходил значения этого критерия для доз 30, 250 и 500 мг/кг (соответственно 24%, 22% и 18%), что отображено на рисунке 4.

Процент выживших животных (таблица 8) подтвердил эффективность гепатозащитного действия ВИКП в дозе 150 мг/кг, т.к. оказался выше, чем в группах, получавших ВИКП в дозах 30 мг/кг, 250 мг/кг и 500 мг/кг.

Совокупность полученных данных, включающих интегральные показатели выживаемости, детальное биохимическое исследование сыворотки крови и печени, расчетные данные коэффициента гепатопротекции позволяет предложить дозу 150 мг/кг в качестве эффективной терапевтической при пероральном применении ВИКП.

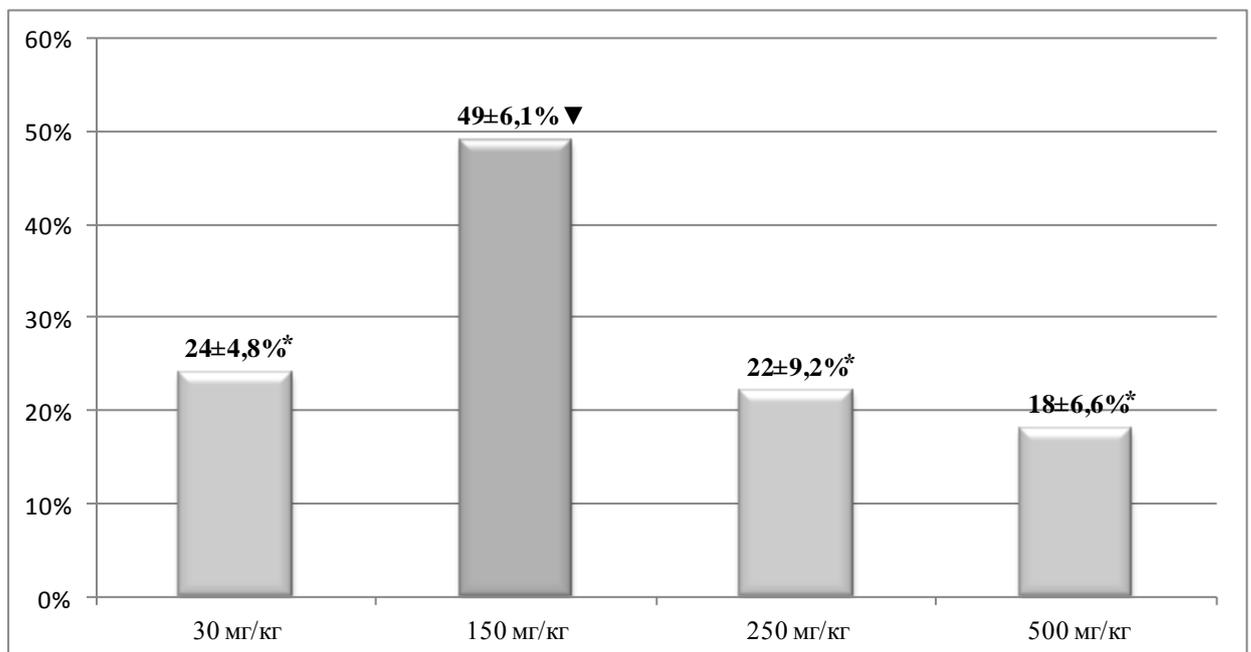


Рисунок 4 - Значения коэффициента гепатопротекции при пероральном введении различных доз водного извлечения кориандра посевного

▼ – данные статистически значимы по отношению к дозе 30 мг/кг ($p < 0,05$)

* – данные статистически значимы по отношению к дозе 150 мг/кг ($p < 0,05$).

Таблица 8 - Выживаемость животных пероральном при введении различных доз ВИКП на модели поражения печени тетрахлорметаном

Группы животных	График проведения эксперимента												Общее количество животных, взятых в эксперимент	Количество погибших животных	% выживших животных	
	Предварительное введение сухого извлечения						Совместное введение сухого извлечения и СС14									Забой
Контроль, (СС14+ H ₂ O)	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	1	10	4	
СС14+ ВИКП, 30 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	2	10	4	60%
СС14 + ВИКП, 150 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	1	10	2	80%
СС14 + ВИКП, 250 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	1	10	4	60%
СС14 + ВИКП, 500 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	2	10	4	60%

Примечания: ▼ - пероральное введение растворителя (вода очищенная); Δ - введение СС14; × - введение ВИКП; количество погибших животных в определенные дни опыта указано цифрами

Изменения биохимических маркеров под влиянием СИКП в различных дозах представлены в таблице 9. У животных, при введении СИКП в дозе 30 мг/кг достоверно повысилось, в сравнении с интактными, содержание ОБР, ТБК–продуктов в сыворотке крови и ТРГ в печени на 415%, 104,2% и 86,3% соответственно. При этом, по отношению к контролю, отмечалось достоверное повышение содержания ОБ на 11,4%, снижение – ОБР, ТБК-продуктов соответственно на 21,1%, 25,8%.

Повышение дозы СИКП до 150 мг/кг способствовало существенному, в сравнении с контролем, снижению ОБР, ТБК – активных продуктов, ТРГ (на 32,1%, 47,3%, 20,8% соответственно), повышению ОБ (на 18,5%), чем при его введении в дозе 30 мг/кг. Достоверные отличия, также имелись между

этим группами по показателям содержания ОБ и ТБК–продуктов в сыворотке крови (таблица 9).

Повышение дозы до 250 мг/кг способствовало незначительному снижению содержания ОБ, ОБР, ТБК–продуктов в сыворотке крови и ТРГ в печени, в сравнении с контролем, соответственно на 2,5%, 6,4%, 29,7% и 2,2%. Достоверность этих маркеров отмечалась только по отношению к интактной группе (снижение содержания ОБ на 29%, повышение – ОБР на 511,3%, ТБК–продуктов на 93,3%, ТРГ печени на 106%) и к группе, получавшей СИКП в дозе 150 мг/кг (за исключением ТБК–продуктов крови, ТРГ печени).

Таблица 9 - Изменение биохимических маркеров при пероральном введении разных доз СИКП при токсическом поражении печени тетрахлорметаном

Показатель	Интактные n=9	Контроль, (CCl ₄ +H ₂ O) n=6	CCl ₄ + СИКП, 30мг/кг, n=6	CCl ₄ + СИКП, 150мг/кг, n=10	CCl ₄ + СИКП, 250мг/кг, n=6	CCl ₄ + СИКП, 500мг/кг, n=8
Общий белок сыворотки крови, г/л	91,5±1,950	66,6±5,10 P ₁ <0,01***	74,2±1,60 P ₁ <0,001* P ₂ <0,05 P ₃ <0,05	79,0±0,86 P ₁ <0,001 P ₂ <0,05	64,9±5,19 P ₁ <0,001** P ₂ >0,05 P ₃ <0,05	68,3±3,43 P ₁ <0,001*** P ₂ >0,05 P ₃ <0,05
Общий билирубин крови мкмоль/л	5,3±0,220	34,6±1,26 P ₁ <0,001***	27,3±3,31 P ₁ <0,05* P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	23,5±2,45 P ₁ <0,001 P ₂ <0,01	32,4±3,09 P ₁ <0,001** P ₂ >0,05 P ₃ <0,05	29,4±2,39 P ₁ <0,001** P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
ТБК-активные продукты плазмы крови, мкмоль/л	2,85±0,542	7,84±0,487 P ₁ <0,001***	5,82±0,346 P ₁ <0,01* P ₂ <0,01 P ₃ <0,01	4,13±0,278 P ₁ >0,05 P ₂ <0,001*	5,51±0,347 P ₁ <0,01 P ₂ <0,01 P ₃ <0,05	4,80±0,317 P ₁ <0,05 P ₂ <0,01 P ₃ >0,05
ТРГ печени, мкмоль/г	n=6 14,29±1,532	n=6 30,09±2,309 P ₁ <0,001*	n=6 26,62±3,434 P ₁ <0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	n=6 23,82±1,904 P ₁ <0,01 P ₂ <0,05	n=6 29,42±4,042 P ₁ <0,05* P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	n=6 28,61±3,412 P ₁ <0,01* P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
Примечание: n- количество опытов, P ₁ - вероятность различия по отношению к интактным, P ₂ - вероятность различия по отношению к контролю, P ₃ - вероятность различия по отношению к СИКП (150 мг/кг). (*-p<0,05;**-p<0,01;***-p<0,001)- однофакторный дисперсионный анализ (t-критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой тестом Данна)						

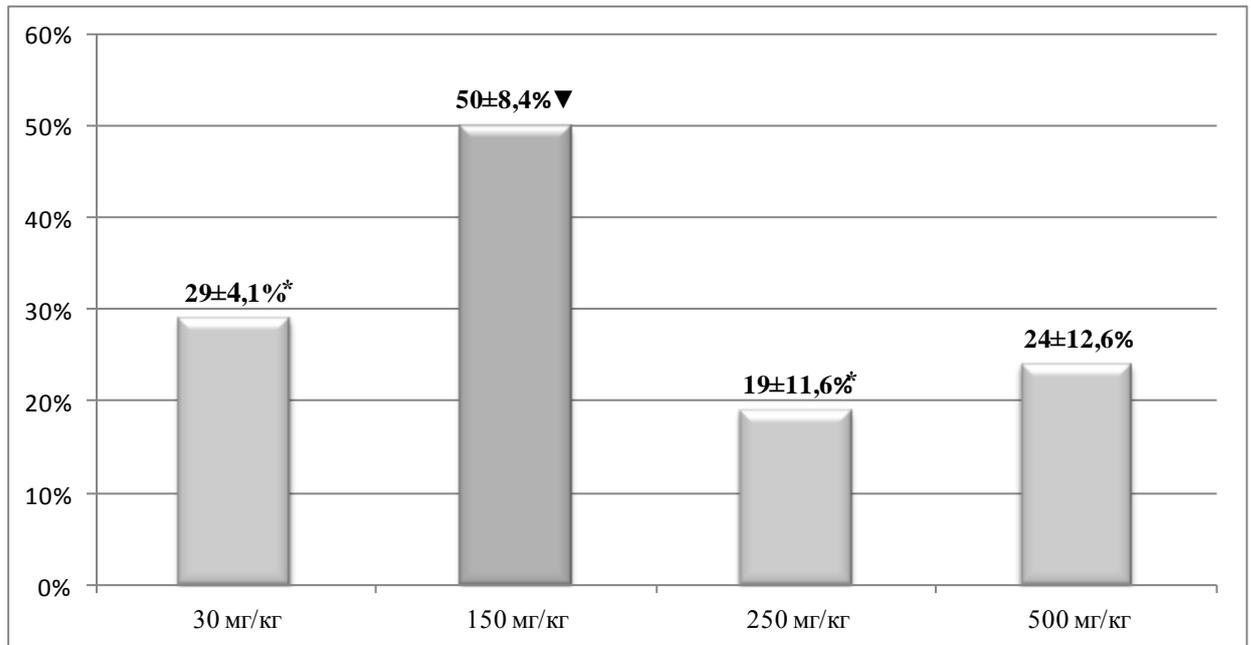


Рисунок 5 - Значения коэффициента гепатопротекции при пероральном введении различных доз 40%-спиртового извлечения кориандра посевного

▼ – данные статистически значимы по отношению к дозе 30 мг/кг ($p < 0,05$)

* – данные статистически значимы по отношению к дозе 150 мг/кг ($p < 0,05$)

Показатели сыворотки крови и печени в группе животных с введением СИКП (500 мг/кг), приближались к значениям таковых в группе, получавшей СИКП (30 мг/кг), при этом достоверность показана только по отношению к норме.

Наиболее высокий коэффициент гепатопротекции (рисунок 5) отмечался у животных, получавших СИКП в дозе 150 мг/кг (50%), чем в остальных: 30 мг/кг (29%), 250 мг/кг (19%) и 500 мг/кг (24%), который достоверно превосходил дозы 30 мг/кг и 250 мг/кг. Процент выживших животных (таблица 10) при использовании СИКП в дозах 150 мг/кг и 500 мг/кг составил соответственно 100% и 80%, а в дозах – 30 мг/кг и 250 мг/кг соответствовал – 60%.

При сопоставлении полученных данных необходимо отметить, что эффективность действия СИКП при повышении дозы от 250 мг/кг ухудшается, как и в случае с введением ВИКП.

Таблица 10 - Выживаемость животных при пероральном введении различных доз СИКП на модели поражения печени тетрахлолметаном

Группы животных	График проведения эксперимента												Общее количество животных, взятых в эксперимент	Количество погибших животных	% выживших животных	
	Предварительное введение сухого извлечения						Совместное введение сухого извлечения и CCl_4					Забой				
Контроль, ($CCl_4 + H_2O$)	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼		▼	1	10	4
$CCl_4 +$ СИКП, 30 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	1	10	4	60%
$CCl_4 +$ СИКП, 150 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		10	0	100%
$CCl_4 +$ СИКП, 250 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		10	4	60%
$CCl_4 +$ СИКП, 500 мг/кг	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		10	2	80%

Примечания: ▼ - пероральное введение растворителя (вода очищенная); Δ - введение CCl_4 ; × - введение СИКП; количество погибших животных в определенные дни опыта указано цифрами

Результаты проведенных исследований, дают основание использовать дозу 150 мг/кг для дальнейших экспериментов по изучению гепатопротекторной активности ВИКП и СИКП.

3.4 Сравнительное влияние извлечений из кориандра посевного травы на желчевыделительную функцию у интактных животных и в условиях острого поражения печени тетрахлолметаном

Курсовое введение ВИКП в течение 14 дней интактным животным (таблица 11, рисунок 6) вызвало достоверное, по сравнению с контрольной группой, получавшей идентичный объем растворителя (вода очищенная), увеличение содержания ЖК (на 135,7%) и снижение ХС (на 74%) в желчи, выделившейся за 3 часа (на 85,3%). За счет повышения концентрации в желчи ЖК существенно увеличился показатель холято – холестерина

коэффициента (на 77,1%), что свидетельствует о положительном изменении антилитогенных свойств желчи. После введения СИКП наблюдалось достоверное, по отношению к контролю, снижение содержания ХС в желчи на 70,8%, выделившейся за 3 часа эксперимента на 76,8%. Отмечалось также повышение содержания ЖК в желчи на 13% ($p > 0,05$), и как следствие, увеличение значения холято – холестеринового коэффициента на 25%. При приеме ВИКР и СИКР также отмечалось достоверное увеличение ЖК (на 41,4% и 192,3%) и снижение ХС (на 79,5% и 94%) в 3-х часовом объеме желчи. Объем выделившейся желчи достоверно увеличился на (70,7%), по отношению к контролю, только в группе с применением ВИКР.

Из чего следует, что введение ВИКП обладает выраженной желчегонной активностью, превышающей по своей эффективности действие СИКП и извлечений из кукурузных рылец.

Полученные данные показывают перспективность дальнейшего исследования желчегонных свойств извлечений в условиях экспериментальной патологии.

Токсическое поражение печени вызывали введением тетрахлорметана [56]. Оценку желчевыделительной функции проводили на 14-е сутки после курсового введения исследуемых веществ (гл. 2.5.4). Как видно из таблицы 12, рисунка 7, острый токсический гепатит сопровождался существенным (почти в 6 раз) снижением желчевыделения и достоверным снижением синтеза компонентов желчи в сравнении с интактной группой.

У животных при введении ВИКП, объем выделившейся желчи превысил таковой не только в группе контрольных животных (в 8,9 раз), но и в интактной (в 1,7 раза). На фоне снижения ХС, существенно увеличилось содержание ЖК по сравнению с интактной (в 3,4 раза) и контрольной (в 8,4 раза) группами. Это привело к значительному увеличению холято-холестеринового индекса и снижению литогенности желчи.

Таблица 11 - Влияние извлечений из кориандра посевного травы на желчевыделение у интактных животных

№ n/n	Группы животных	Количество желчи за 3 часа опыта, мг/100г массы тела M±m	Желчные кислоты желчи, мг% M±m	Холестерин желчи, мг% M±m	Холято- холесте- риновый коэффи- циент
1	Контроль (вода очищенная), n=6	555,6±81,50	157,0±19,90	18,5±0,62	8,5
2	ВИКП (150мг/кг), n=6	1029,7±117,40 P1<0,05***	370,0±10,50 P1<0,001*	4,8±0,80 P1<0,001**	77,1
3	СИКП (150мг/кг), n=6	982,3±129,40 P1<0,05*** P2>0,05	177,0±28,83 P1>0,05 P2<0,001*	5,4±0,60 P1<0,001*** P2>0,05	32,8
4	ВИКР (150мг/кг), n=6	948,8±123,40 P1<0,05*** P2>0,05	222,0±4,70 P1<0,05 P2<0,001	3,8±0,30 P1<0,001** P2>0,05	58,4
5	СИКР (150мг/кг), n=6	523,6±120,00 P1>0,05* P3<0,05* P4<0,05*	459,6±1,60 P1<0,001** P3<0,001** P4<0,001*	1,1±0,25 P1<0,001*** P3<0,001 P4<0,001	417,8

Примечание:

n- количество опытов,

P₁- вероятность различия по отношению к контролю,

P₂- вероятность различия по отношению к опытам с ВИКП,

P₃- вероятность различия по отношению к опытам со СИКП,

P₄- вероятность различия по отношению к опытам с ВИКР,

(*-p<0,05;**-p<0,01;***-p<0,001)- однофакторный дисперсионный анализ (t-критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой тестом Данна).

По отношению к извлечениям из кукурузных рылец желчеобразовательная функция печени достоверно увеличилась в 2 раза, синтез желчных кислот - в 4,5 раз, что при одинаковом снижении синтеза ХС привело к более высокому антилитогенному потенциалу.

У животных при действии СИКП также достоверно увеличился объем выделившейся желчи, значение которого было сопоставимо с данным критерием у интактных крыс. Синтез компонентов желчи восстановился не полностью, как по отношению к интактным, так и контрольным животным.

Влияние ВИКП значительно превосходило действие СИКП: количество выделившейся желчи в этих опытах составило $952,0 \pm 156,50$ против $546,7 \pm 57,90$ мг/100г ($p < 0,005$).

Сходные изменения с действием ВИКП наблюдались в группе, получавшей Карсил: достоверно увеличился объем выделившейся желчи, по отношению к интактной и контрольной группам (на 64,2% и 849,1% соответственно), наряду со снижением ХС (на 170,2%) повысилось содержание ЖК (на 642,3%) в желчи.

При введении Хофитола у животных также отмечалось достоверное, по отношению к контролю и интактным, увеличение желчевыделения (на 55% и 796% соответственно), снижение ХС с одновременным повышением содержания ЖК в желчи (на 42,7% и на 566,8% соответственно), но эти изменения были выражены в меньшей степени, чем у животных, получавших ВИКП и Карсил.

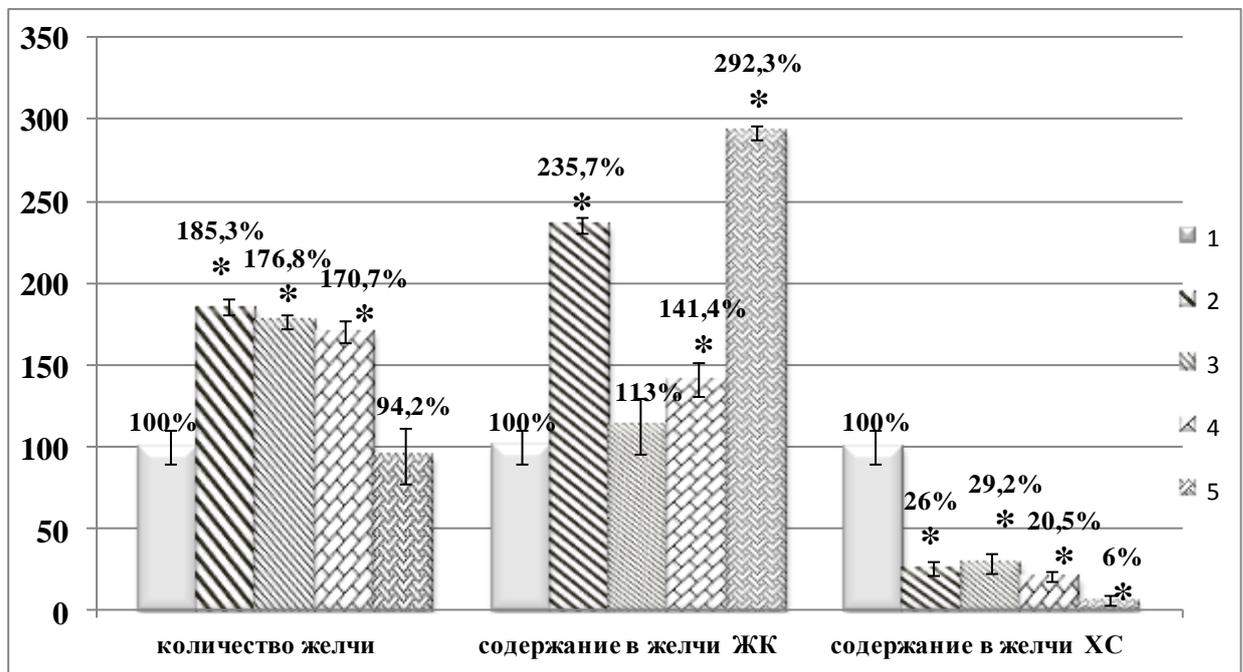


Рисунок 6 - Влияние извлечений из кориандра посевного травы на желчевыделение у интактных животных, (в %)

Условные обозначения: 1– контроль; 2– опыты с ВИКП (150 мг/кг); 3– опыты со СИКП (150 мг/кг); 4– опыты с ВИКР (150 мг/кг); 5– опыты со СИКР (150 мг/кг); *- вероятность различия к контролю.

Таблица 12 - Влияние извлечений из кориандра посевного травы на желчевыделение у животных с острым токсическим поражением печени тетрахлорметаном

№ n/p	Группы животных	Количество желчи за 3 часа опыта, мг/100г массы тела M±m	Желчные кислоты желчи, мг% M±m	Холестерин желчи, мг% M±m	Холято- холесте- риновый коэффи- циент
1	Интактные n=6	555,6±81,50	157,0±19,90	18,5±0,62	8,5
2	Контроль (животные с острым токсическим гепатитом, получавшие воду очищенную), n=7	96,1±5,40 P1<0,001	57,5±2,30 P1<0,001	8,9±0,08 P1<0,001	6,5
3	Животные с острым токсическим гепатитом, получавшие ВИКП (150 мг/кг), n=9	952,0±156,50 P1<0,05** P2<0,001***	539,9±9,90 P1<0,001 P2<0,001***	9,1±0,24 P1<0,001 P2>0,05	59,3
4	Животные с острым токсическим гепатитом, получавшие СИКП (150 мг/кг), n=9	546,7±57,90 P1>0,05 P2<0,001 P3<0,05 P5<0,05	116,9±53,40 P1>0,05 P2>0,05 P3<0,001*** P5<0,001	3,0±1,30 P1<0,001* P2<0,001 P3<0,001 P5<0,01	38,9
5	Животные с острым токсическим гепатитом, получавшие ВИКР (150 мг/кг), n=10	446,0±71,00 P1>0,05 P2<0,001 P3<0,05 P4>0,05	121,1±21,20 P1>0,05 P2<0,001 P3<0,001** P4>0,05	8,8±2,78 P1<0,05 P2>0,05 P3>0,05 P4>0,05	13,8
6	Животные с острым токсическим гепатитом, получавшие СИКР (150 мг/кг), n=6	427,4±43,20 P1>0,05 P2<0,001 P3<0,02 P4>0,05 P5>0,05	126,2±28,32 P1>0,05 P2<0,05 P3<0,001* P4>0,05 P5>0,05	3,6±0,53 P1<0,001 P2<0,001 P3<0,001 P4>0,05 P5<0,01	35,1
7	Животные с острым токсическим гепатитом, получавшие Карсил (150 мг/кг), n=6	912,1±81,60 P1<0,02** P2<0,001*** P3>0,05 P4<0,01 P6<0,01 P7<0,01	424,3±19,40 P1<0,001 P2<0,001** P3<0,01 P4<0,01* P6<0,001 P7<0,001	10,4±1,56 P1<0,01 P2>0,05 P3>0,05 P4<0,02 P6>0,05 P7<0,01	40,8
8	Животные с острым токсическим гепатитом, получавшие Хофитол (150 мг/кг), n=6	860,6±47,60 P1<0,02** P2<0,001*** P3>0,05 P4<0,01 P6<0,01 P7<0,001	381,0±13,94 P1<0,001 P2<0,001* P3<0,001 P4<0,01 P6<0,001 P7<0,001	12,2±0,88 P1<0,01 P2<0,01 P3<0,02 P4<0,01** P6>0,05 P7<0,001*	31,2

Примечание: n-количество опытов,

P₁-вероятность различия по отношению к интактным, P₂-вероятность различия по отношению к контролю,

P₃-вероятность различия по отношению к опытам с ВИКП, P₄-вероятность различия по отношению к опытам со СИКП, P₅-вероятность различия между водным и спиртовым извлечением в соответствующей группе,

P₆-вероятность различия по отношению к опытам с ВИКР, P₇-вероятность различия по отношению к опытам со СИКР,

(*-p<0,05;**-p<0,01;***-p<0,001)- однофакторный дисперсионный анализ (t-критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой тестом Данна).

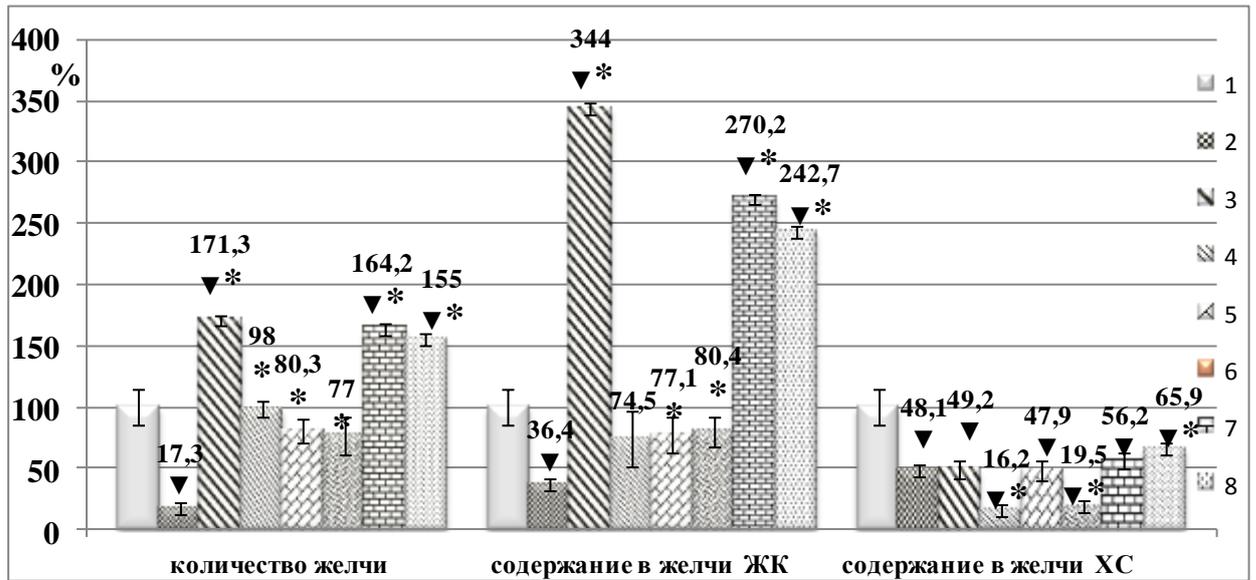


Рисунок 7 - Влияние извлечений из кориандра посевного травы на желчевыделение у животных с токсическим поражением печени тетрахлорметаном, (в %)

Условные обозначения: 1– интактные; 2 – контрольные; 3– опыты с ВИКП (150 мг/кг); 4– опыты со СИКП (150 мг/кг); 5– опыты с ВИКР (150 мг/кг); 6-опыты со СИКР (150 мг/кг); 7- опыты с Карсилом (150 мг/кг); 8- опыты с Хофитолом (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; *- вероятность различия к контролю

Таким образом, ВИКП на фоне токсического гепатита оказывает выраженный желчегонный эффект, превышающий действие извлечений из кукурузных рылец, и сопоставимый с препаратами сравнения – Карсилом и Хофитолом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

- В рамках изучения общетоксических свойств, было установлено значение LD_{50} для ВИКП и СИКП. Результаты проведенных исследований острой токсичности при пероральном введении извлечений показали, что введение дозы 5500 мг/кг не вызвало гибели экспериментальных животных в течение 14-ти дневного периода наблюдения, что позволяет отнести изучаемые извлечения согласно ГОСТУ 12.1.007-76 и классификации Ходже и Стернера [17] к V классу «практически нетоксичным веществам» ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).
- С целью оценки влияния ВИКП и СИКП на детоксицирующую функцию печени, проведено экспериментальное исследование продолжительности этаминалового сна на фоне тетрахлорметанового гепатита. Полученные данные свидетельствуют о том, что гепатопротекторное действие ВИКП и СИКП позволяет сохранить активность микросомальных ферментов печени, обеспечивающую метаболизм ксенобиотиков с помощью системы монооксигеназ, тем самым сокращая продолжительность этаминалового сна, достоверно относительно контроля.
- Для выявления эффективной терапевтической дозы изучено влияние ВИКП и СИКП на выживаемость животных и некоторые биохимические показатели сыворотки крови и печени при моделировании тетрахлорметанового гепатита. В качестве маркерных биохимических показателей выбраны: общий белок, общий билирубин, ТБК-активные продукты сыворотки, а также ТРГ в печени. Данные показатели отражают общее состояние белкового и липидного обменов, а также позволяют провести скрининговую оценку состояния антиоксидантной системы. Совокупность полученных экспериментальных данных, а также расчетных значений коэффициента гепатопротекции позволило предложить дозу 150 мг/кг в качестве эффективной терапевтической при пероральном применении изучаемых извлечений.

- Нарушение обмена холестерина, желчных пигментов и кислот, наряду со снижением транспортной способности мембран гепатоцитов, считают важными причинами нарушения процессов желчеобразования и желчевыделения [22, 140]. Токсическое поражение тетрахлорметаном сопровождалось нарушением желчевыделительной функции, что явилось следствием ингибирования холереза на фоне метаболических дисфункций, связанных с развитием цитолитического синдрома. Лечебно-профилактическое введение ВИКП позволило восстановить желчевыделительную функцию крыс при моделировании гепатита. Объем желчи оказался достоверно выше контрольных показателей (в 8,9 раз). При этом содержание желчных кислот в желчи превышало показатели интактной группы в 2,4 раза. Следует отметить, что показатели групп, получавших СИКП, уступали ВИКП по выраженности фармакологического эффекта. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ВИКП оказывает выраженный желчегонный эффект у интактных животных и с токсическим поражением печени тетрахлорметаном, превышающий действие извлечений из кукурузных рылец, и сопоставимый с Карсилом и Хофитолом.

ГЛАВА 4 ВЛИЯНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО ТРАВЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ, МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГИСТО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

4.1 Изменение аланинаминотрансферазы в сыворотке крови

При токсическом поражении печени тетрахлорметаном, на мембранах ЭПС (эндоплазматической сети) образуются свободные трихлорметильный (CCl_3) и трихлорметилпероксильный (CCl_3O_2) радикалы, которые запускают процесс ПОЛ и белков, что приводит к повышению проницаемости мембран гепатоцитов и их разрушению, определяемому как цитолиз [107, 139]. При этом наблюдается повышение в сыворотке крови активности аланинаминотрансферазы (АлАт). В наших исследованиях в контрольной группе животных, получавших растворитель (воду очищенную), также отмечался достоверный рост в сыворотке крови активности АлАт (на 106,3%), в сравнении с интактной группой (таблица А.1, рисунок 8).

Применение в этих условиях ВИКП, ВИКР и СИКР обусловило достоверное, в сравнении с контролем, снижение активности фермента на 36,4%, 46,5% и 55,6% соответственно. При действии препаратов сравнения Карсила и Хофитола, также наблюдалось достоверное снижение активности фермента, относительно контроля, на 42,4%, и 33% соответственно. Исследованные извлечения, в частности ВИКП, стимулируют регенеративные процессы в пораженных гепатоцитах, восстанавливают функции клеточных структур, тем самым снижают явления цитолиза, развившегося при токсической экспериментальной патологии. Однако из всех исследуемых веществ наиболее выраженный эффект был зафиксирован в группе, получавшей извлечения из кукурузных рылец.

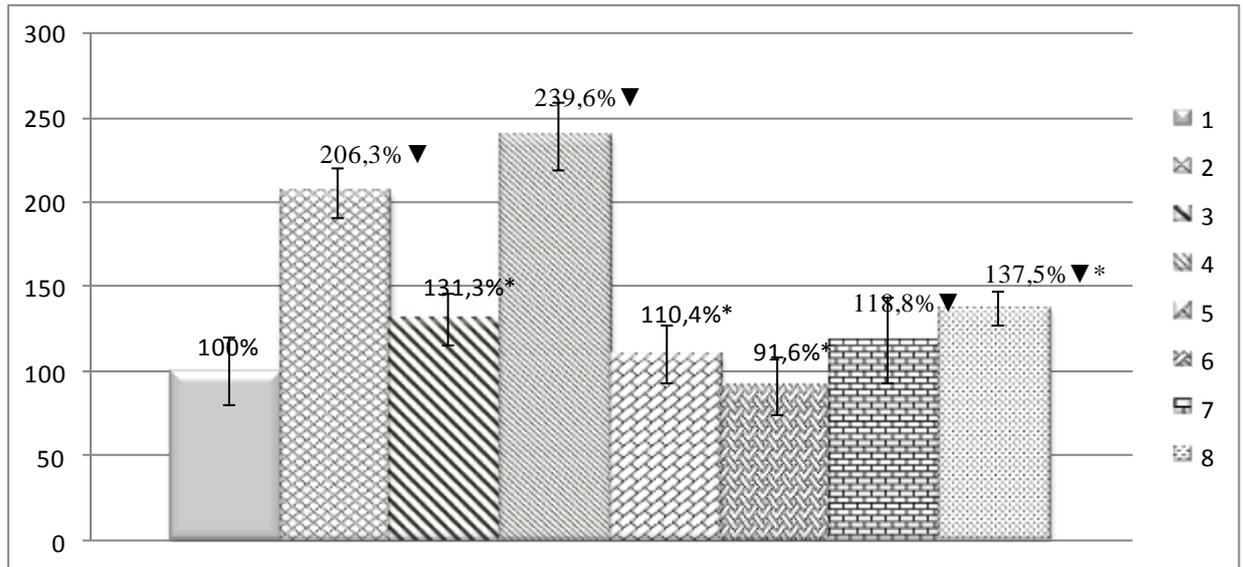


Рисунок 8 - Изменение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови (в %)
Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (CCl₄+H₂O); 3 – CCl₄+ВИКП (150 мг/кг); 4 – CCl₄+СИКП (150 мг/кг); 5 – CCl₄+ВИКР (150 мг/кг); 6 – CCl₄+СИКР (150 мг/кг); 7 – CCl₄+Карсил (150 мг/кг); 8 – CCl₄+Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

4.2 Изменение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови

При токсическом поражении печени возникают патологические процессы в гепатоцитах, которые приводят к их дисфункции, нарушению синтеза и экскреции желчи в просвет двенадцатиперстной кишки, характеризующиеся, как холестаз [107]. Это влечет за собой повышение активности ЩФ в сыворотке крови.

В группе контрольных животных активность фермента в крови значительно возросла (в 1,8 раз), по сравнению с интактной (таблица А.1, рисунок 9), что свидетельствует о нарушении циркуляции желчи и задержке ее оттока из печени. Применение ВИКП, ВИКР и СИКР способствовало значительному снижению активности АлАт в сыворотке крови на 43,1% ($p < 0,05$), 40,8% ($p < 0,05$), 58,5% ($p < 0,02$) соответственно, по сравнению с контролем. В случае с введением СИКП достоверных изменений не наблюдалось. При приеме Карсила и Хофитола, активность фермента понизилась, по отношению к контролю, на 41,8% ($p < 0,02$) и на 35,4% ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, применение всех исследуемых веществ, помимо СИКП, способствовало повышению устойчивости гепатоцитов к патологическим воздействиям, восстановлению печеночными клетками нарушенных функций, что подтверждалось снижением активности ЩФ в сыворотке крови пораженных тетрахлорметаном животных.

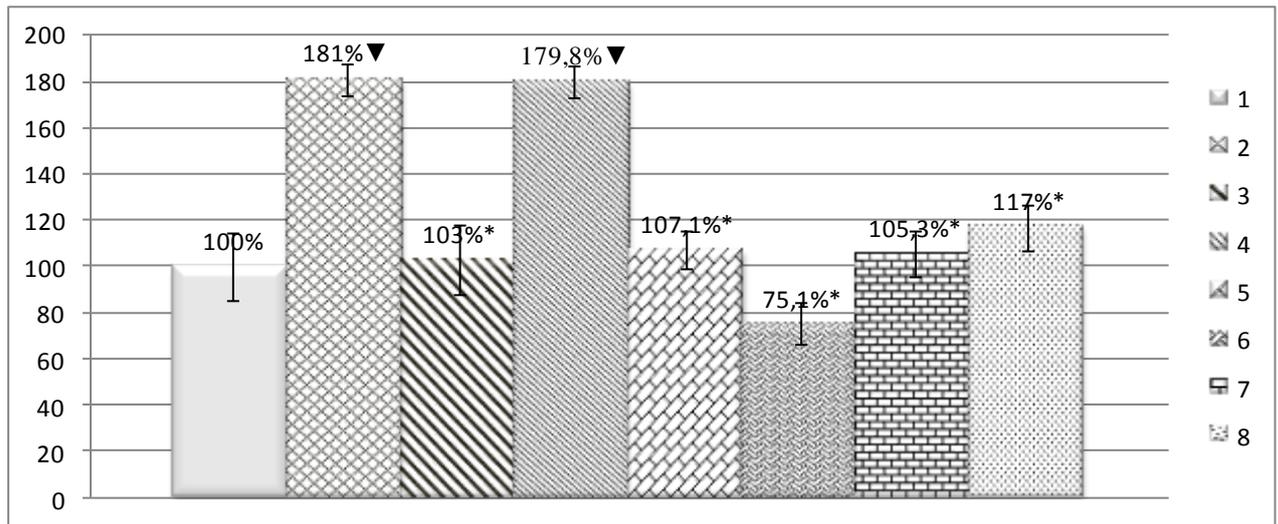


Рисунок 9 - Изменение активности щелочной фосфатазы в сыворотки крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (CCl₄+H₂O); 3 – CCl₄+ВИКП (150 мг/кг); 4 – CCl₄+СИКП (150 мг/кг); 5 – CCl₄+ВИКР (150 мг/кг); 6 – CCl₄+СИКР (150 мг/кг); 7 – CCl₄+Карсил (150 мг/кг); 8 – CCl₄+Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

4.3 Изменение содержания общего белка в сыворотке крови

Токсические гепатиты сопровождаются снижением белково-синтетической функции гепатоцитов, в результате угнетения каталитической активности мембраносвязанных ферментов и ферментативной активности субклеточных структур. Нарушается контакт рибосом с эндоплазматическим ретикулом вследствие редукции мембран и уменьшения их белкового компонента [26, 107]. Это получило подтверждение и в наших исследованиях: в крови пораженных тетрахлорметаном животных значительно понизилось содержание общего белка на 27,2% ($p < 0,05$), относительно интактных (таблица А.1, рисунок 10).

Введение в этих условиях ВИКП и СИКП вызвало существенное повышение уровня общего белка, по сравнению с контрольными опытами, соответственно на 21,3% ($p < 0,05$) и на 18,5% ($p < 0,05$). Сходные изменения с

ВИКП отмечались при приеме Карсила: содержание общего белка в сыворотке крови повысилось на 21,7% ($p<0,02$), по отношению к контролю. Введение пораженным животным ВИКР и СИКР также способствовало увеличению уровня общего белка крови: по сравнению с контролем, его содержание возросло соответственно на 26,4% ($p<0,05$) и 17,9% ($p<0,05$). Достоверных изменений при приеме Хофитола не наблюдалось.

Таким образом, ВИКП и СИКП, в равной мере с Карсилом и извлечениями из кукурузных рылец, способствуют восстановлению содержания общего белка в сыворотке крови, тем самым нормализуют белковый обмен в условиях экспериментальной патологии.

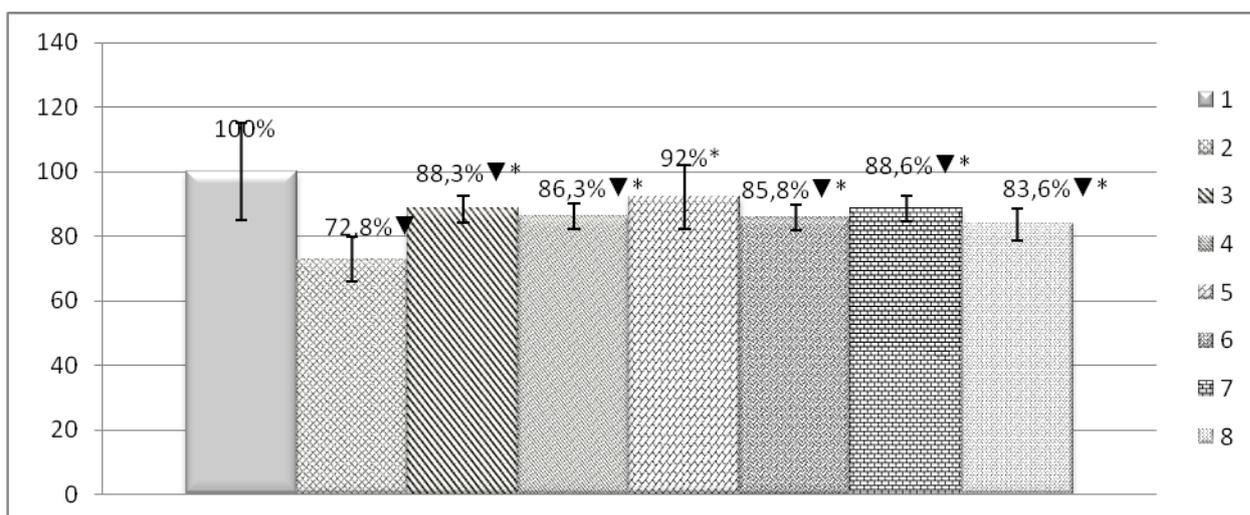


Рисунок 10 - Изменение содержания общего белка в сыворотке крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль ($\text{CCl}_4+\text{H}_2\text{O}$); 3 – CCl_4 +ВИКП (150 мг/кг); 4 – CCl_4 +СИКП (150 мг/кг); 5 – CCl_4 +ВИКР (150 мг/кг); 6 – CCl_4 +СИКР (150 мг/кг); 7 – CCl_4 +Карсил (150 мг/кг); 8 – CCl_4 +Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

4.4 Изменение содержания общего билирубина в сыворотке крови

При нарушениях функций печени, препятствующих конъюгации и излишней выработке желчного пигмента в организме или затруднении оттока желчи начинает увеличиваться содержание билирубина в сыворотке. Причины повышения этого показателя имеют прямую корреляцию с его избыточной продукцией или дисфункциями в гепатобиарной системе [81, 88].

В наших наблюдениях, у животных с токсическим поражением печени уровень ОБР также значительно и достоверно возрос, по отношению к интактной группе (таблица А.1, рисунок 11). Введение ВИКП и СИКП существенно повлияло на пигментный обмен: содержание ОБР в сыворотке крови понизилось, по сравнению с контролем, на 32,1% ($p<0,02$) и 32,1% ($p<0,01$) соответственно. Применение ВИКР и СИКР также обусловило снижение данного показателя в сыворотке крови, по отношению к контролю, на 27,2% ($p<0,02$) и 35,8% ($p<0,01$) соответственно. Положительный эффект наблюдался и при приеме препаратов сравнения – Карсила и Хофитола: уровень ОБР в крови достоверно снизился, по отношению к контрольной группе, на 29,5% и 23,1% соответственно.

Следовательно, в условиях экспериментального гепатита, применение ВИКП и СИКП способствует активации репаративных процессов, восстановлению структуры и целостности мембран гепатоцитов, что подтверждается снижением содержания в сыворотке крови ОБР.

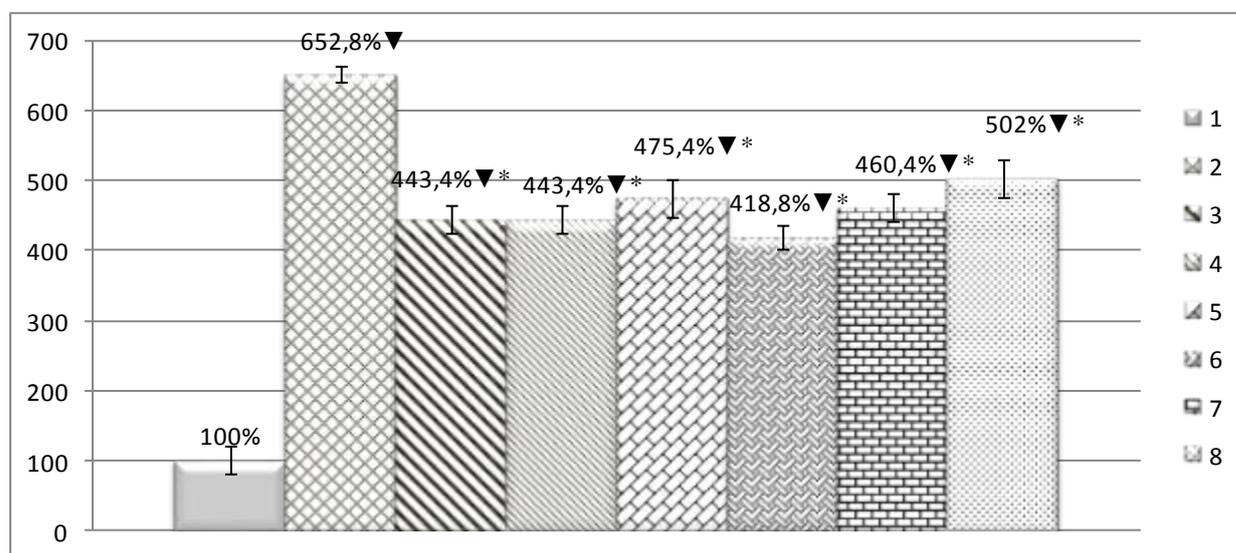


Рисунок 11 - Изменение содержания общего билирубина в сыворотке крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль ($\text{CCl}_4+\text{H}_2\text{O}$); 3 – CCl_4 +ВИКП (150 мг/кг); 4 – CCl_4 +СИКП (150 мг/кг); 5 – CCl_4 +ВИКР (150 мг/кг); 6 – CCl_4 +СИКР (150 мг/кг); 7 – CCl_4 +Карсил (150 мг/кг); 8 – CCl_4 +Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; *- вероятность различия к контролю.

4.5 Изменение содержания холестерина в сыворотке крови

Характерным признаком токсического поражения печени является нарушение липидного обмена [103], что получило подтверждение в наших опытах. В контрольной группе животных, отмечались существенные изменения в содержании общего холестерина в сыворотке крови: его уровень достоверно повысился на 42,1%, в сравнении с интактными показателями (таблица А.1, рисунок 12).

Прием ВИКП у пораженных тетрахлорметаном крыс обусловил, по сравнению с контролем, значительное снижение общего холестерина в крови на 40,7 % ($p < 0,05$). Подобную активность, но менее выраженную, оказал прием Карсила и Хофитола: уровень общего холестерина в сыворотке крови животных снизился соответственно на 33,4% ($p < 0,05$) и 29,6% ($p < 0,05$). При введении СИКП, ВИКР и СИКР достоверных изменений, в сравнении с контролем, не отмечалось.

Следовательно, в условиях патологии, вызванной у животных тетрахлорметаном, ВИКП, в сравнении с остальными веществами, в большей мере способствует снижению уровня общего холестерина в сыворотке крови, нормализуя при этом липидный обмен в печени.

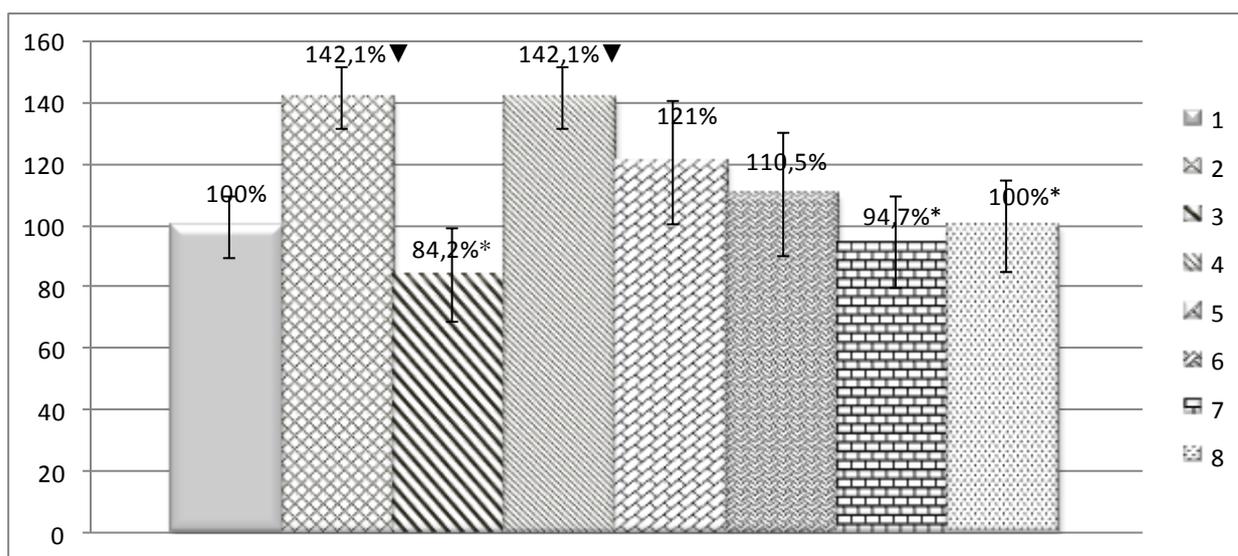


Рисунок 12 - Изменение содержания холестерина сыворотки крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль ($\text{CCl}_4 + \text{H}_2\text{O}$); 3 – $\text{CCl}_4 + \text{ВИКП}$ (150 мг/кг); 4 – $\text{CCl}_4 + \text{СИКП}$ (150 мг/кг); 5 – $\text{CCl}_4 + \text{ВИКР}$ (150 мг/кг); 6 – $\text{CCl}_4 + \text{СИКР}$ (150 мг/кг); 7 – $\text{CCl}_4 + \text{Карсил}$ (150 мг/кг); 8 – $\text{CCl}_4 + \text{Хофитол}$ (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

4.6 Изменение содержание триглицеридов в сыворотке крови

Нарушение липидного обмена при токсическом поражении печени характеризуется увеличением, наряду с холестерином, уровня триглицеридов в крови [103], что наблюдалось в наших опытах: у животных контрольной группы с острым токсическим гепатитом, содержание триглицеридов в сыворотке крови увеличилось более чем в 2 раза (таблица А.1, рисунок 13).

Введение пораженным животным СИКП, и особенно, ВИКП, способствовало снижению уровня триглицеридов соответственно на 50% ($p < 0,05$) и 75% ($p < 0,01$), в сравнении с контролем. Аналогичный эффект наблюдался при введении ВИКР, где содержание триглицеридов составило 75% ($p < 0,02$). СИКР и Карсил способствовали снижению показателя в сыворотке крови на 65%, по отношению к контрольной группе. Содержание триглицеридов в группе животных получавших Хофитол достоверно снизилось, относительно контроля, на 55% ($p < 0,05$).

Таким образом, применение ВИКП способствовало нормализации липидного обмена, что выражалось в снижении уровня триглицеридов в сыворотке крови на фоне токсического поражения печени тетрахлорметаном, при этом влияние ВИКП было сопоставимо с действием ВИКР, и достоверно превосходило результаты групп, получавших Карсил и Хофитол.

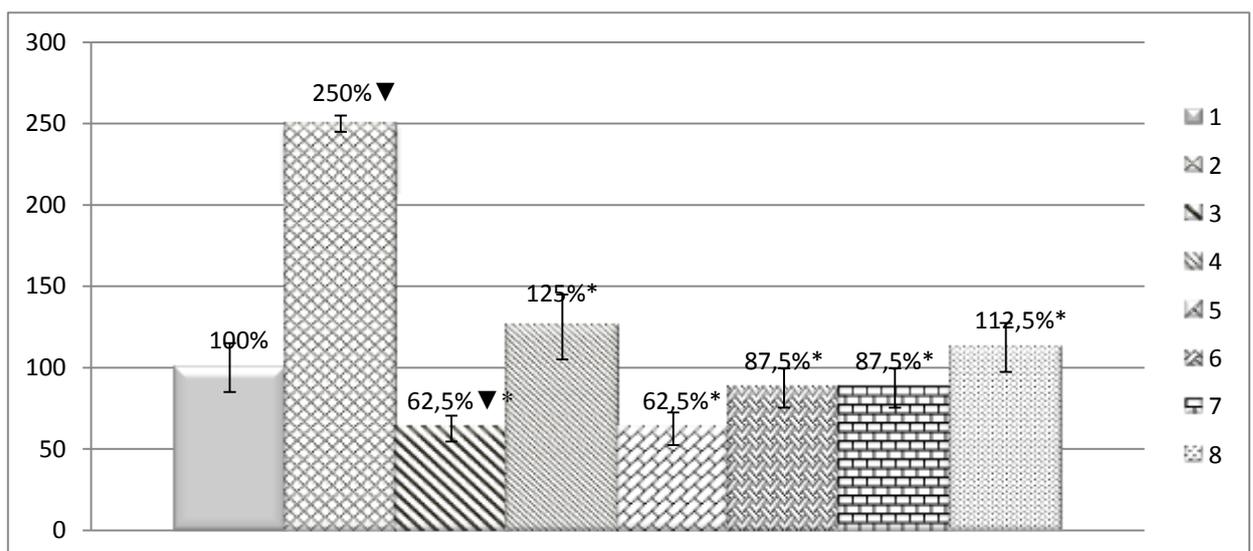


Рисунок 13 - Изменение содержания триглицеридов сыворотке крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (CCl₄+H₂O); 3 – CCl₄+ВИКП (150 мг/кг); 4 – CCl₄+СИКП (150 мг/кг); 5 – CCl₄+ВИКР (150 мг/кг); 6 – CCl₄+СИКР (150 мг/кг); 7 – CCl₄+Карсил (150 мг/кг); 8 – CCl₄+Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; *- вероятность различия к контролю.

4.7 Изменение содержания триглицеридов в печени

Острый токсический гепатит характеризуется накоплением ТРГ в гепатоцитах и нарушением основных функций печени. Основную роль при этом играет избыточное поступление в печень токсинов [103]. В наших исследованиях триглицеридемия у пораженных тетрахлорметаном животных сочеталась со значительным ростом содержания ТРГ в печени (в 2 раза), в сравнении с интактной группой, что свидетельствовало о липидозе (таблица А.2, рисунок 14). Курсовое введение извлечений из кориандра ограничивало развитие липидоза у пораженных токсином крыс: по сравнению с контролем, уровень ТРГ при приеме ВИКП понизился на 32,8% ($p < 0,01$), а СИКП – на 20,9% ($p < 0,05$). В случае с введением ВИКР и СИКР этот показатель снизился на 21,9% ($p < 0,05$) и 8% ($p > 0,05$) соответственно. Эффективность препаратов сравнения (Карсила и Хофитола) превышала действие предыдущих извлечений: уровень ТРГ, по отношению к контролю, снизился на 31,5% ($p < 0,05$) и 25,7% ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, применение извлечений из травы кориандра посевного, в равной степени с действием препаратов сравнения, задерживает развитие липидоза, снижает уровень ТРГ в печени при остром токсическом поражении тетрахлорметаном.

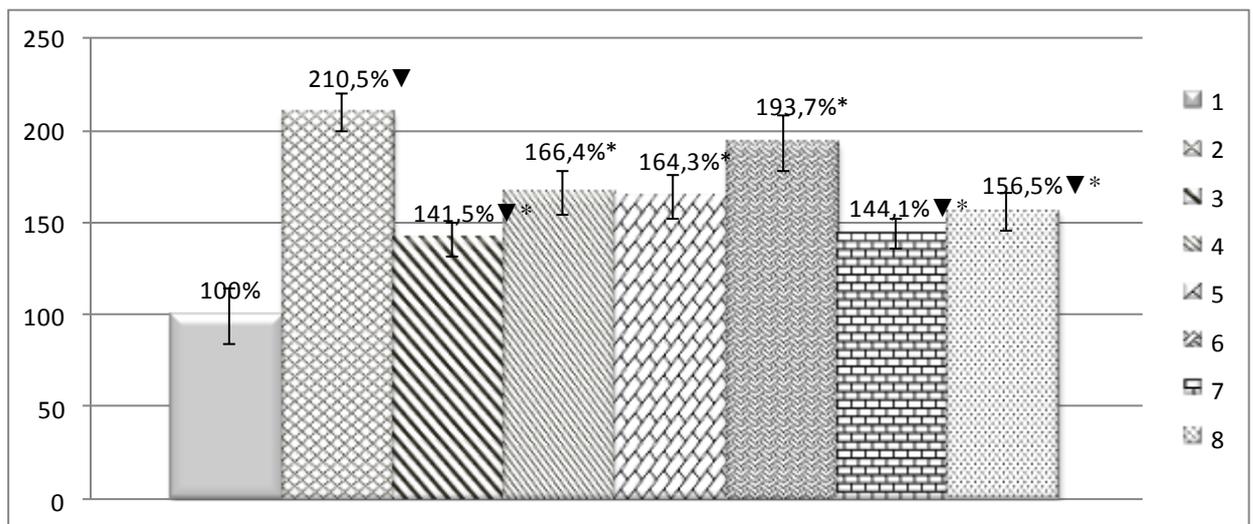


Рисунок 14 - Изменение содержания триглицеридов в печени (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль ($\text{CCl}_4 + \text{H}_2\text{O}$); 3 – $\text{CCl}_4 + \text{ВИКП}$ (150 мг/кг); 4 – $\text{CCl}_4 + \text{СИКП}$ (150 мг/кг); 5 – $\text{CCl}_4 + \text{ВИКР}$ (150 мг/кг); 6 – $\text{CCl}_4 + \text{СИКР}$ (150 мг/кг); 7 – $\text{CCl}_4 + \text{Карсил}$ (150 мг/кг); 8 – $\text{CCl}_4 + \text{Хофитол}$ (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; *- вероятность различия к контролю.

4.8 Изменение содержания гликогена в печени

Содержание гликогена в печени отражает уровень метаболических процессов в гепатоцитах, подвергающихся значительному нарушению при химической интоксикации [226]. Аналогичная картина наблюдалась в группе контрольных животных с токсическим гепатитом, у которых содержание гликогена в печени оказалось достоверно и существенно ниже, чем у интактных (таблица А.2, рисунок 15).

Применение ВИКП и ВИКР в этих условиях обусловило значительное повышение гликогена в печени животных, по сравнению с контролем, соответственно на 55% ($p < 0,01$) и 45,1% ($p < 0,01$), но при введении СИКП и СИКР достоверных изменений не наблюдалось. Прием в этих условиях препаратов сравнения – Карсила и Хофитола обеспечил рост гликогена, по сравнению с контролем, на 50,2% ($p < 0,01$) и 33,6% ($p < 0,05$) соответственно.

Отсюда следует, что у пораженных тетрахлорметаном крыс, введение ВИКП и ВИКР, Карсила и Хофитола, привело к восстановлению структуры гепатоцитов, активации анаболических процессов, увеличению содержания гликогена в печени, при этом наиболее выраженный эффект был зафиксирован в группе животных, получавших ВИКП.

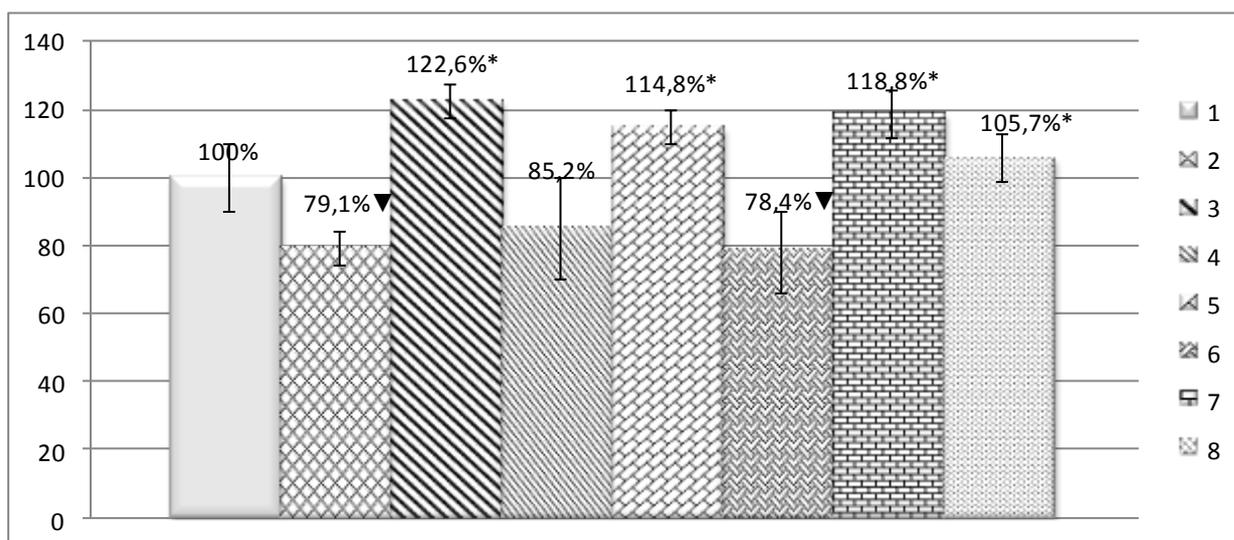


Рисунок 15 - Изменение содержание гликогена в печени (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (CCl₄+H₂O); 3 – CCl₄+ВИКП (150 мг/кг); 4 – CCl₄+СИКП (150 мг/кг); 5 – CCl₄+ВИКР (150 мг/кг); 6 – CCl₄+СИКР (150 мг/кг); 7 – CCl₄+Карсил (150 мг/кг); 8 – CCl₄+Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; *- вероятность различия к контролю.

4.9 Исследование гисто–морфологической картины печени при остром токсическом поражении тетрахлорметаном

В интактной группе животных на гистологических срезах печени (рисунок 16) в просветах центральных вен содержатся свободно лежащие единичные эритроциты и небольшое количество розоватых масс плазмы крови. Синусоидальные капилляры умеренно полнокровны. Эндотелиальные клетки капилляров набухшие. Перипортально в синусоидах можно заметить отдельные звездчатые ретикулоэндотелиоциты. Центролобулярно располагаются гепатоциты со светло – розовой цитоплазмой. Ближе к портальным трактам в клетках печени цитоплазма темнее. В ней заметна мелкоглыбчатая зернистость. В центролобулярных гепатоцитах видны единичные клетки с перинуклеарным просветлением цитоплазмы. Ядра печеночных клеток округлой формы с отчетливо верифицируемым хроматином. Структурированно прослеживается балочная цитоархитектоника дольки. Иногда в поле зрения встречаются декомплексированные относительно печеночных пластинок 1 или 2 клетки с интенсивно эозинофильной цитоплазмой и базофильно конденсированными частицами хроматина. Это апоптозные клетки, отражающие процесс программированного (физиологического) разрушения гепатоцитов. Сосуды триад портальных трактов умеренно полнокровные. В интерстиции встречаются мононуклеары типа макрофагов и лимфоцитов. Иногда они образуют очажковые скопления, которые не распространяются за пределы пограничной пластинки. Описанная микроморфологическая картина печени соответствует нормальным вазоцитарным взаимоотношениям в строении печеночной дольки.

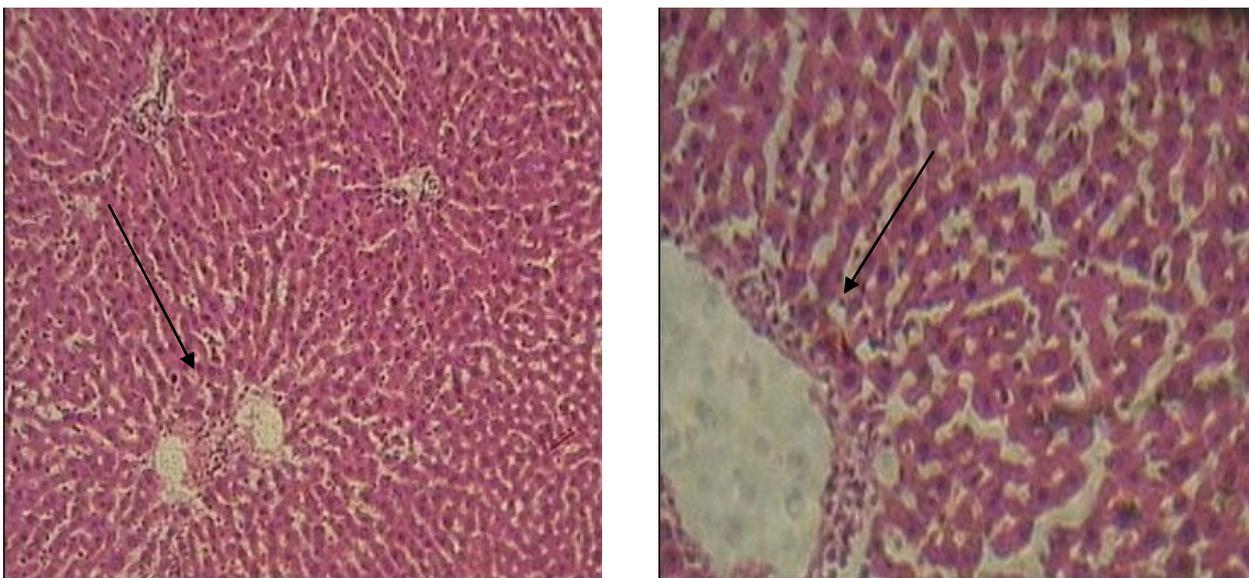


Рисунок 16 - Микропрепарат печени интактной крысы (окраска гематоксилин-эозином; увеличение x 160, 360)

В группе животных с острым токическим поражением печени тетрахлолорметаном (контроль) балочная структура печеночных долек резко нарушена (рисунок 17). В зоне синусоидов определяются тельца Каунсильмена. В отдельных гепатоцитах наблюдается конденсация нуклеофильного вещества в сочетании с плазмореक्सисом и плазмолизом. Цитолитические процессы выражены во всех трех зонах ацинуса, но преимущественно в центролобулярной зоне печеночной дольки. Эндотелиальные клетки в этих участках набухшие. В средних зонах печеночных ацинусов видны слияния пораженных паренхиматозных клеток с образованием жировых «кист». В этих группах клеток сферические ядра смещены к периферии или отсутствуют вовсе. Эти морфологические признаки являются свидетельством жировой трансформации гепатоцитов. Структуризация печеночных балок нарушена практически во всех отделах печеночной дольки: наблюдается декомплексация паренхиматозных гепатоцитов печени относительно друг друга. Определяется лимфоцитарная инфильтрация. Инфильтрат выходит за пределы пограничной пластинки. Формируются очаговые ступенчатые некрозы с тенденцией к образованию мостовидных портопортальных некрозов.

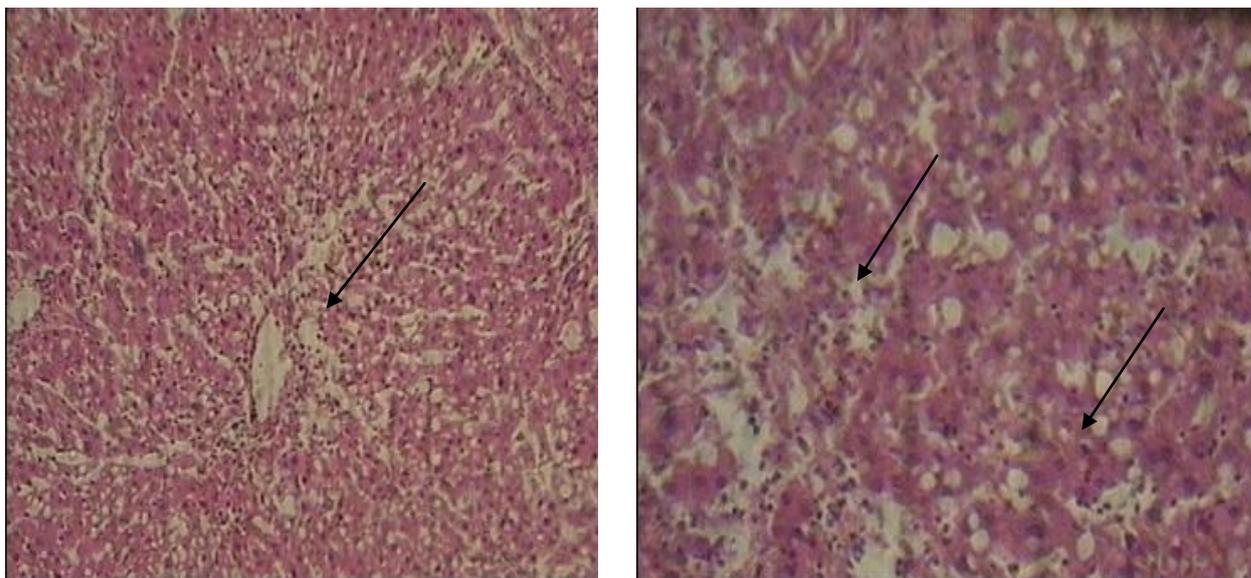


Рисунок 17 - Микропрепарат печени крысы, получавшей воду очищенную при поражении печени тетрахлолорметаном (окраска гематоксилин-эозином; увеличение $\times 160$; $\times 360$)

В группе животных с поражением печени тетрахлолорметаном, получавших в качестве лечения ВИКП, нарушение балочной структуры гепатоцитов выражено умеренно (рисунок 18). Наблюдается некоторая декомплектация печеночных балок преимущественно в перипортальных (первых) зонах ацинуса. Количество гепатоцитов, находящихся в состоянии крупнокапельной жировой дистрофии значительно меньше, чем в контроле (на рисунке 18 примеры этих клеток указаны стрелками). Дистрофические изменения в большинстве других клеток ограничиваются стадией мутного набухания, исчезновением зернистости гепатоцитов, умеренным количеством гепатоцитов с признаками кариорекса и кариолизиса. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля (100%) до $32 \pm 4,0\%$ ($p < 0,05$). Расширение синусоидов, полнокровие центральных вен и сосудов портальных трактов в данной группе выражены умеренно.

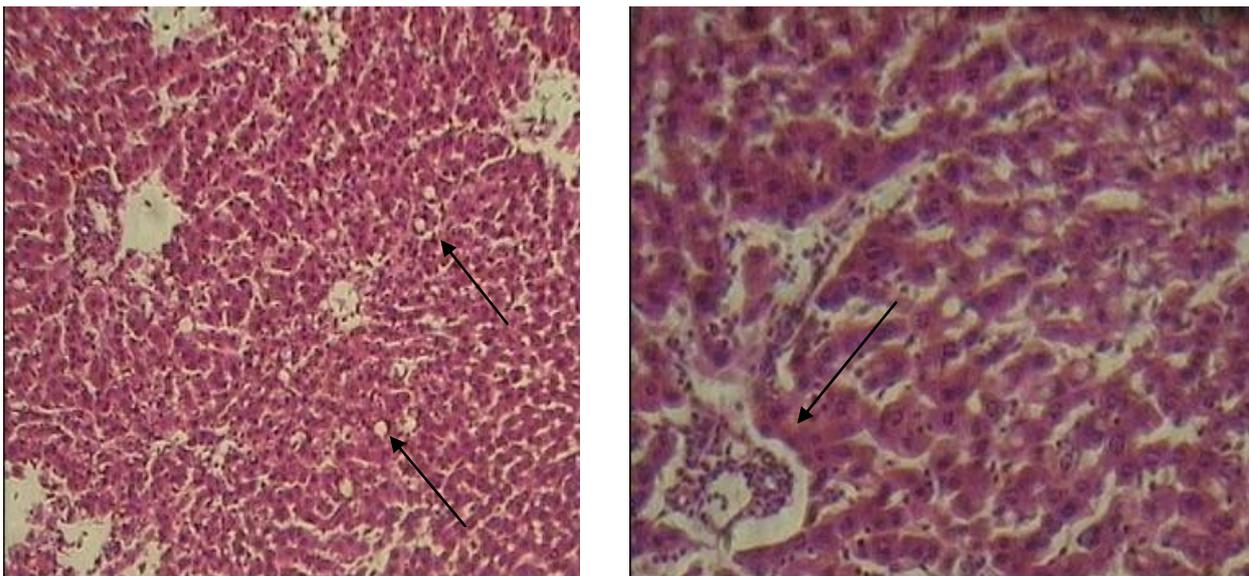


Рисунок 18 - Микропрепарат печени крысы, получавшей ВИКП при поражении печени тетрахлорметаном, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение x 160, x360)

В группе животных с поражением печени тетрахлорметаном, получавших СИКП (рисунок 19) наблюдаются более выраженные патологические изменения (степень нарушения балочной структуры, количество гепатоцитов в состоянии жирового гепатоза, количество некротизированных гепатоцитов, степень кариорексиса и кариолизиса), чем в группе, получавшей ВИКП, но меньшие чем в контроле. Балочная структура ткани печени относительно сохранена, слабо выраженное циркулярное разрастание фиброзной ткани вокруг центральной вены (стрелка). В строме дольки по ходу синусоидных капилляров мелкие очажки слабо выраженной полиморфноклеточной инфильтрации (лимфогистиоцитарная инфильтрация и сегментоядерные нейтрофильные лейкоциты). Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля, который принимали за 100% до $53 \pm 5,0\%$ ($p < 0,05$).

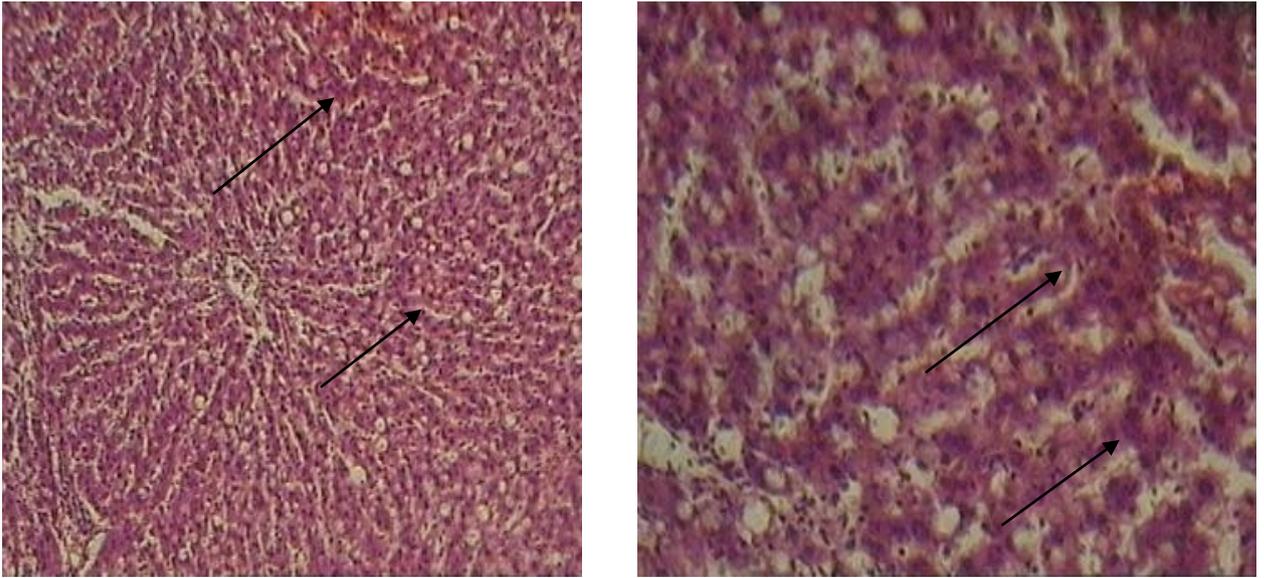


Рисунок 19 - Микропрепарат печени крысы, получавшей СИКП при поражении печени тетрахлорметаном, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение x 160, x360)

Степень морфологических изменений в группе пораженных животных, получавших ВИКР, примерно соответствует описанной для предыдущей группы (рисунок 20). В срезах – слабый аутолиз. Неравномерное кровенаполнение синусоидных капилляров, варьирующее от слабого и слабо-умеренного кровенаполнения их до очагового полнокрывия. Балочно-радиарное строение долек начинает стираться на фоне умеренно выраженной очагово-диффузной крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. Остальные печёночные клетки в состоянии умеренной мелкокапельной жировой дистрофии. Портальные тракты практически не расширены, в строме ряда из них очаговая умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация с единичными сегментоядерными лейкоцитами. Капсула печени в данных срезах не представлена. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение, в сравнении с контролем до $51 \pm 6,0\%$ ($p < 0,05$), относительно предыдущей группы различия недостоверны ($p_1 > 0,05$).

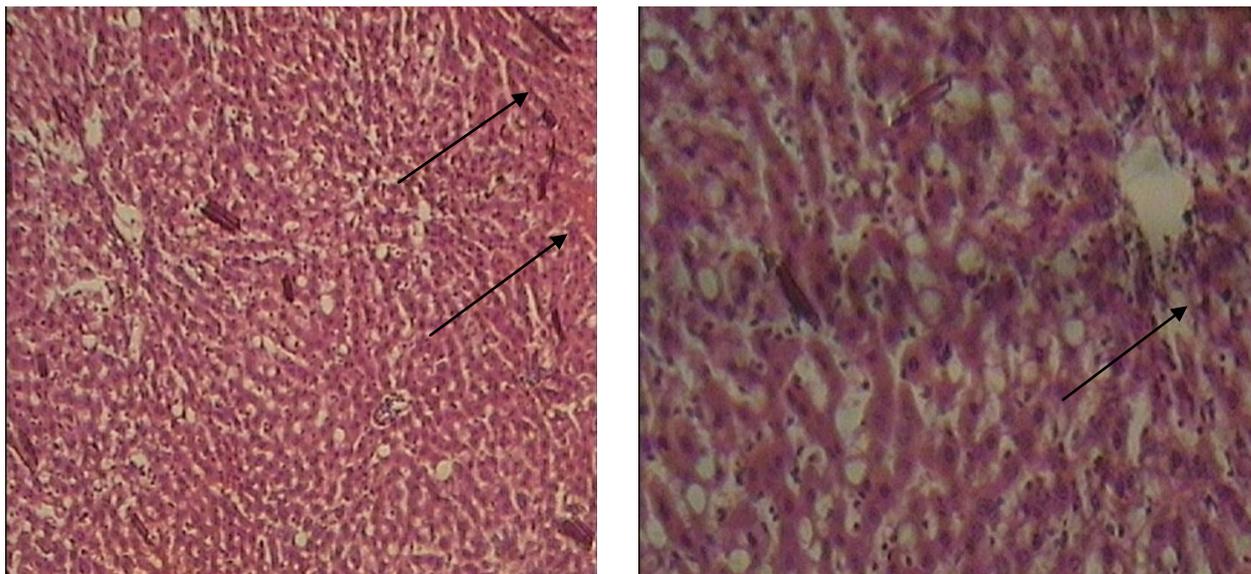


Рисунок 20 - Микропрепарат печени крысы, получавшей извлечение ВИКР при поражении печени тетрахлолметаном, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение x 160, x 360)

На гистологических срезах печени пораженных животных, получавших СИКР, показаны единичные мелкоочаговые диапедезно-деструктивные кровоизлияния насыщенно-красного цвета с небольшим количеством лейкоцитов (рисунок 21). Просветы центральных вен преимущественно пустые. Отмечается полнокровие ряда вен портальных трактов. Балочно-радиарное строение долек стёрто на фоне выраженной очагово-диффузной крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов и выраженной их гидропической дистрофии, особенно во второй зоне печеночного ацинуса. Отмечаются начальные этапы образования порто-портальных мостовых некрозов (на рисунке 21 указано стрелками). Имеются группы сохранившихся печёночных клеток с признаками деления ядерного материала. Отдельные портальные тракты слабо расширены, в их строме диффузная слабо-умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация, единичные сегментоядерные лейкоциты. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля до $88 \pm 5,0\%$ ($p < 0,05$).

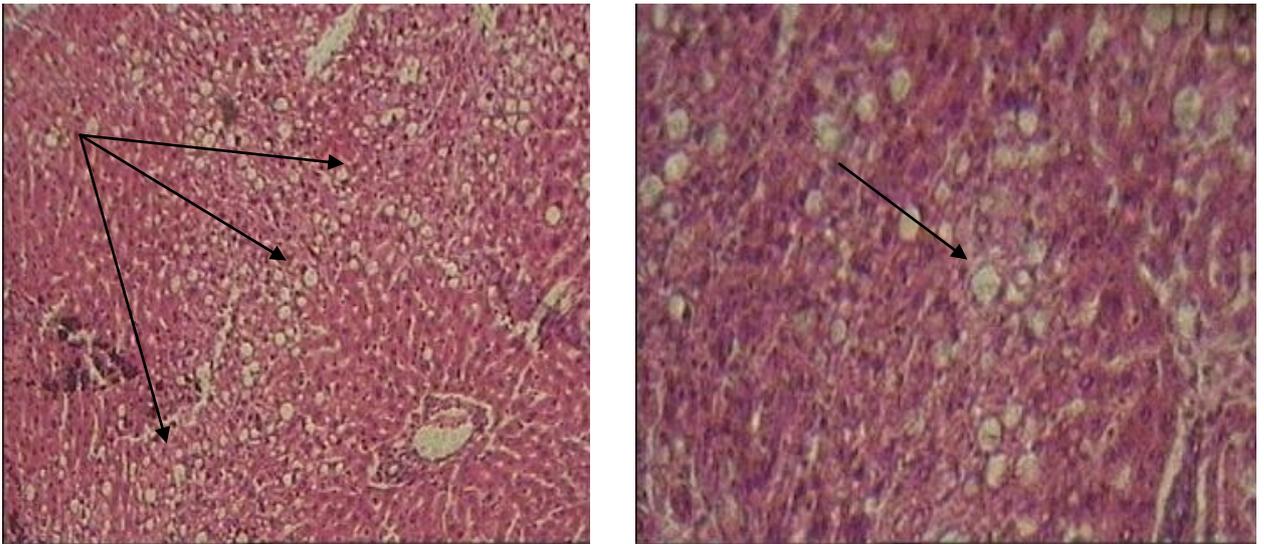


Рисунок 21 - Микропрепарат печени крысы, получавшей СИКР при поражении печени тетрахлорметаном, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение x 160, x 360)

В группе животных, получавших в качестве лечения Карсил на фоне введения тетрахлорметана степень изменения архитектоники печеночных балок примерно соответствовала таковой в группе животных, получавших ВИКП. Однако, количество клеток печени в состоянии жирового гепатоза было несколько больше и недостоверно отличалось от группы, получавшей ВИКП и равнялось $48 \pm 5,0\%$ ($p > 0,05$, по отношению к группе, получавшей ВИКП). Также наблюдалась более выраженная лимфоцитарная инфильтрация перивенулярных зон печеночных долек (рисунок 22).

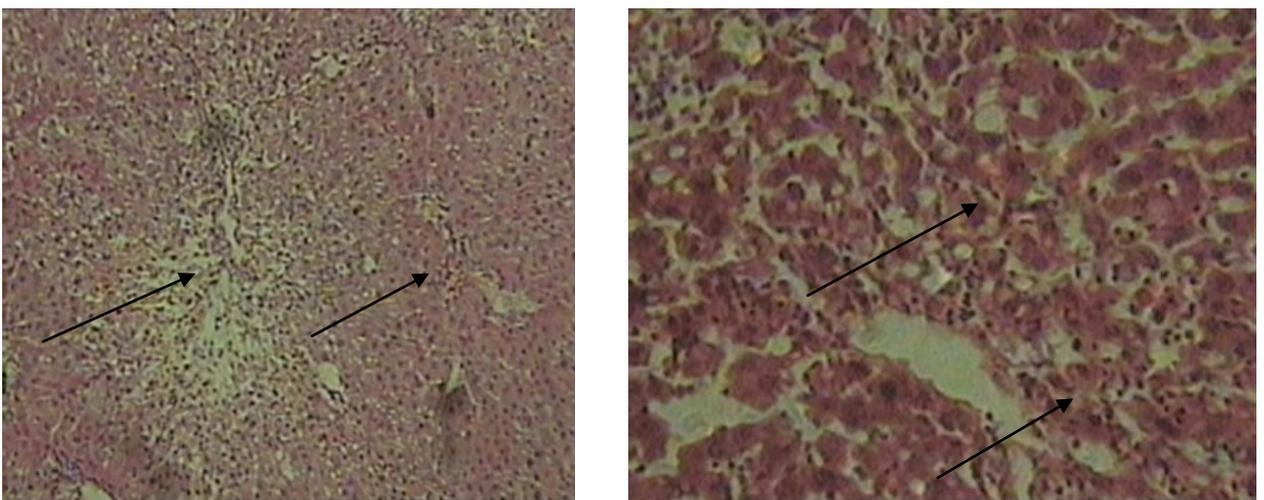


Рисунок 22 - Микропрепарат печени крысы, получавшей Карсил при поражении печени тетрахлорметаном, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение x 160, x 360)

В группе животных, получавших в качестве лечения Хофитол на фоне введения тетрахлорметана по сравнению с группой, получавшей Карсил, лимфоцитарная инфильтрация и степень жировой дистрофии была заметно выше (рисунок 23), и соответствовала группе, получавшей СИКП. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля, который принимали за 100% до $59\pm 6,0\%$ ($p < 0,05$).

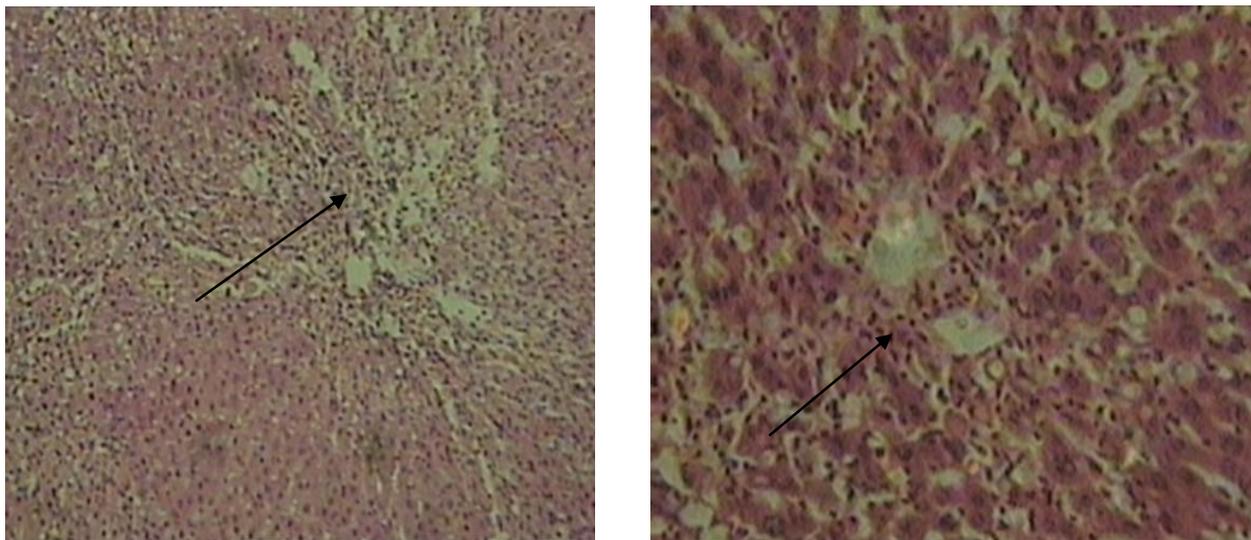


Рисунок 23 - Микропрепарат печени крысы, получавшей Хофитол при поражении печени тетрахлорметаном, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение x 160, x 360)

Таким образом, учитывая степень патологических изменений тканей печени (нарушение балочной структуры, выраженность и характер жирового гепатоза, степень лимфоцитарной инфильтрации, гиперемии сосудов, изменения в ядерном аппарате гепатоцитов и др.), а также морфометрические показатели, можно заключить, что изучаемые извлечения и препараты сравнения в той или иной мере снижают глубину поражения печени относительно контроля. По выраженности гепатозащитного действия из всех исследуемых веществ ВИКП, на уровне препарата сравнения Карсила, проявило наиболее заметное воздействие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

- Детальное исследование гепатопротекторной активности изучаемых извлечений с использованием комплекса биохимических методов, отражающих функциональное состояние печени, проводилось на модели тетрахлорметанового токсического гепатита. Полученные результаты показали, что острое отравление гепатотоксином, провоцировало цитолиз гепатоцитов, что отражалось в достоверном увеличении активности АлАт и ЩФ. Кроме того, у пораженных животных, наряду со снижением уровня общего белка, достоверно повысилось содержание общего билирубина, холестерина и ТРГ в сыворотке крови. Установлено, что применение ВИКП способствовало восстановлению морфологических, биохимических и функциональных показателей у экспериментальных крыс, что сопровождалось достоверным, относительно контроля, снижением активности АлАт, ЩФ, содержания общего билирубина, холестерина и ТРГ в сыворотке крови животных. Наблюдаемый фармакологический эффект ВИКП был сравним с показателями групп, получавших извлечения из кукурузных рылец и Карсил.

- На гистологической картине у пораженных тетрахлорметаном крыс, отмечалось наличие жировой трансформации гепатоцитов, о наличии цитолитических процессов в органе свидетельствовали конденсация нуклеофильного вещества в сочетании с плазморексисом и плазмолизом, нарушение структуризации печеночных балок, развитие воспалительного процесса (лимфоцитарная инфильтрация), поражение эндотелия сосудов, нарушение кровообращения в микрососудах и формирование очагов ступенчатого некроза. В группе животных получавших ВИКП, наблюдались минимальные изменения в морфологии органа. В печени отсутствовали очаги ступенчатого некроза, жировые кисты и

мононуклеарная инфильтрация, отмечались участки слабовыраженного воспаления. Введение ВИКП способствовало существенной нормализации кровообращения в органе (отмечалось лишь умеренное или слабое расширение синусоидов, полнокровие центральных вен и сосудов портальных трактов). В группе с Карсилом имелось большее количество гепатоцитов в состоянии жировой дистрофии, а степень лимфоцитарной инфильтрации была несколько выраженнее. У животных, получавших СИКП, извлечения из кукурузных рылец и Хофитол, восстановительные процессы на срезах печени были выявлены в меньшей степени, отмечались более выраженные патологические изменения в сравнении с введением ВИКП.

Экспериментальные данные доказывают наличие гепатозащитного действия ВИКП, сопоставимого с действием Карсила, превосходящего показатели групп кукурузных рылец и Хофитола.

ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО ТРАВЫ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГИСТО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ЭТАНОЛОМ

Установление гепатопротекторных свойств ВИКП при пероральном введении в дозе 150 мг/кг животным с острым токсическим поражением печени тетрахлорметаном, дало основание для дальнейших исследований данного объекта в условиях токсического поражения печени этанолом.

5.1 Изменение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови

В результате поражения крыс этанолом образуется значительное количество эндогенных токсинов. Все эти продукты оказывают токсическое влияние на клетки различных органов. В частности, изменяется проницаемость плазматических мембран гепатоцитов. Это подтверждается повышением в сыворотке крови аминотрансфераз и щелочной фосфатазы [107]. В наших исследованиях у пораженных этанолом животных, также наблюдался рост активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови, по сравнению с величиной у интактных животных на 37,5% (таблица А.3, рисунок 24). Введение ВИКП вызвало достоверное снижение активности фермента на 10,6% ($p < 0,05$), по сравнению с контролем. В случае введения ВИКР, снижение активности фермента фактически отсутствовало (на 1,5%, $p > 0,05$). Прием препаратов сравнения – Карсила и Хофитола вызвал достоверное снижение активности АлАт на 12,1% ($p < 0,05$) и 15,1% ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, ВИКП, и несколько в меньшей степени, Карсил и Хофитол, в отличие от ВИКР способны оказывать нормализующее действие на уровень активности АлАт, уменьшая явление цитолиза.

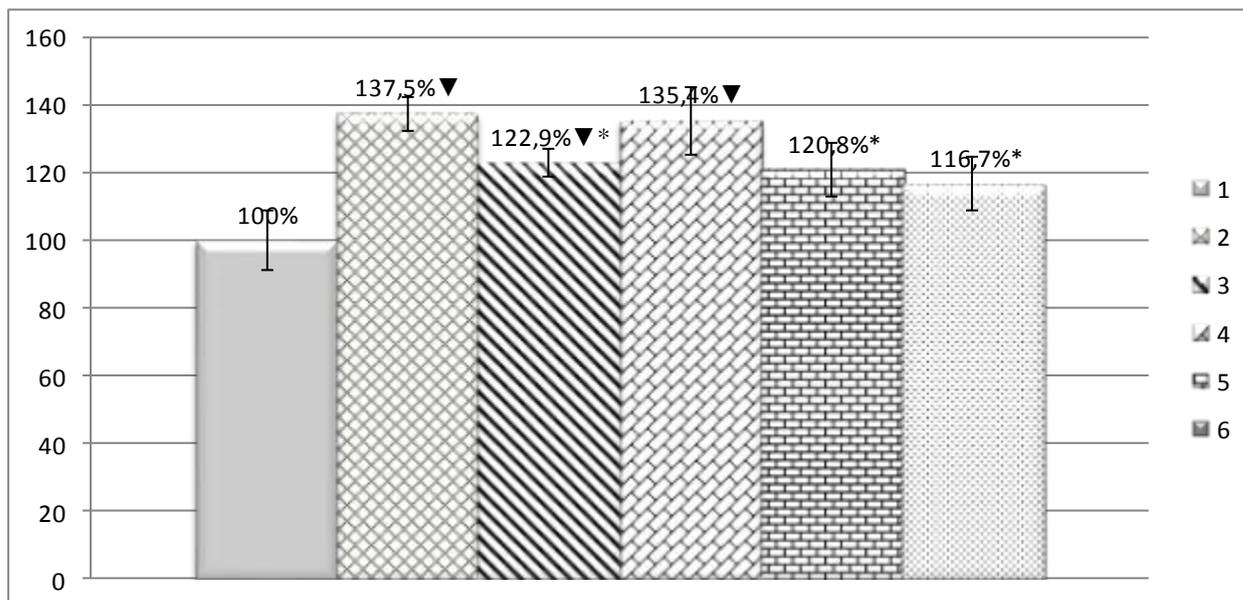


Рисунок 24 - Изменение активности АлАт в сыворотке крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (33%С₂Н₅ОН +Н₂О);

3 – 33%С₂Н₅ОН+ВИКП (150 мг/кг); 4 – 33%С₂Н₅ОН +ВИКР (150 мг/кг);

5 – 33%С₂Н₅ОН +Карсил (150 мг/кг); 6 – 33%С₂Н₅ОН +Хофитол (150 мг/кг);

▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

5.2 Изменение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови

Установлено, что алкогольное поражение печени вызывает активацию процессов ПОЛ и окислительной модификации белков, в результате чего образуется значительное количество эндогенных токсинов, которые способствуют развитию деструктивных процессов в клетках различных органов. В частности, изменяется проницаемость плазматических мембран гепатоцитов, что приводит к повышению в сыворотке крови активности аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы [107,109, 123, 260].

В наших исследованиях у пораженных этанолом животных, активность ЩФ в сыворотке крови достоверно возросла, по сравнению с величиной у интактных крыс, на 39% ($p < 0,05$), что видно из таблицы А.3, рисунка 25. Прием в этих условиях ВИКП, обусловил достоверное, по сравнению с контролем, снижение фермента на 16% ($p < 0,05$). Незначительные изменения наблюдались при действии ВИКР, Карсила и Хофитола: активность

фермента снизилась на 14% ($p < 0,05$), 15% ($p < 0,01$) и 9,9% ($p < 0,05$) соответственно, относительно контроля.

Следовательно, применение ВИКП способствует восстановлению функций клеточных структур, повышению устойчивости гепатоцитов при токсическом воздействии на печень этанола.

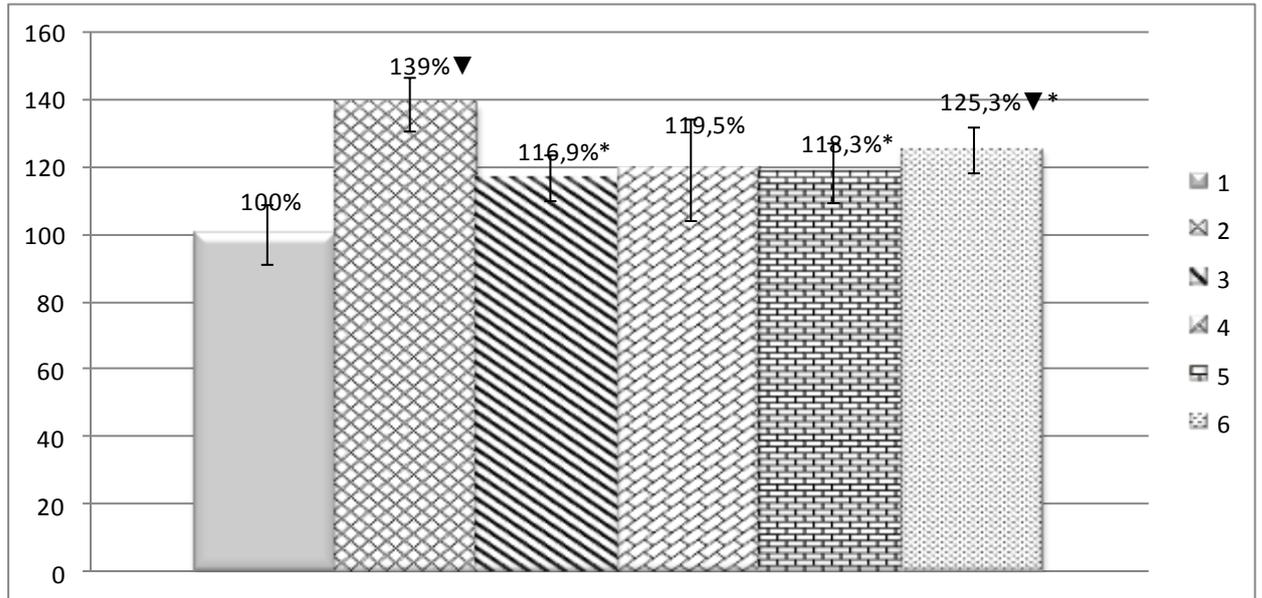


Рисунок 25 - Изменение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль ($33\%C_2H_5OH + H_2O$);
 3 – $33\%C_2H_5OH + \text{ВИКП}$ (150 мг/кг); 4 – $33\%C_2H_5OH + \text{ВИКР}$ (150 мг/кг);
 5 – $33\%C_2H_5OH + \text{Карсил}$ (150 мг/кг); 6 – $33\%C_2H_5OH + \text{Хофитол}$ (150 мг/кг);
 ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

5.3 Изменение содержания общего белка в сыворотке крови

Алкогольное поражение печени сопровождается нарушением синтеза белка в гепатоцитах и снижением его уровня в сыворотке крови [26].

Аналогичная картина наблюдалась и в наших исследованиях. У пораженных этанолом животных, содержание общего белка в сыворотке крови значительно понизилось на 28,2% ($p < 0,001$), по сравнению с уровнем у интактных крыс (таблица А.3, рисунок 26), что указывает на характерное при алкогольном поражении печени нарушение в белковом обмене. При введении ВИКП этот показатель незначительно изменился относительно значений контроля, а ВИКР – повысился на 8,7% ($p < 0,05$). При действии Карсила уровень общего белка в сыворотке крови животных повысился на 8% ($p < 0,05$), а Хофитола – на 7,7% ($p < 0,05$).

Можно заключить, что из всех исследуемых веществ, ВИКР в большей степени способствует восстановлению содержания общего белка в сыворотке крови при токсическом алкогольном гепатите.

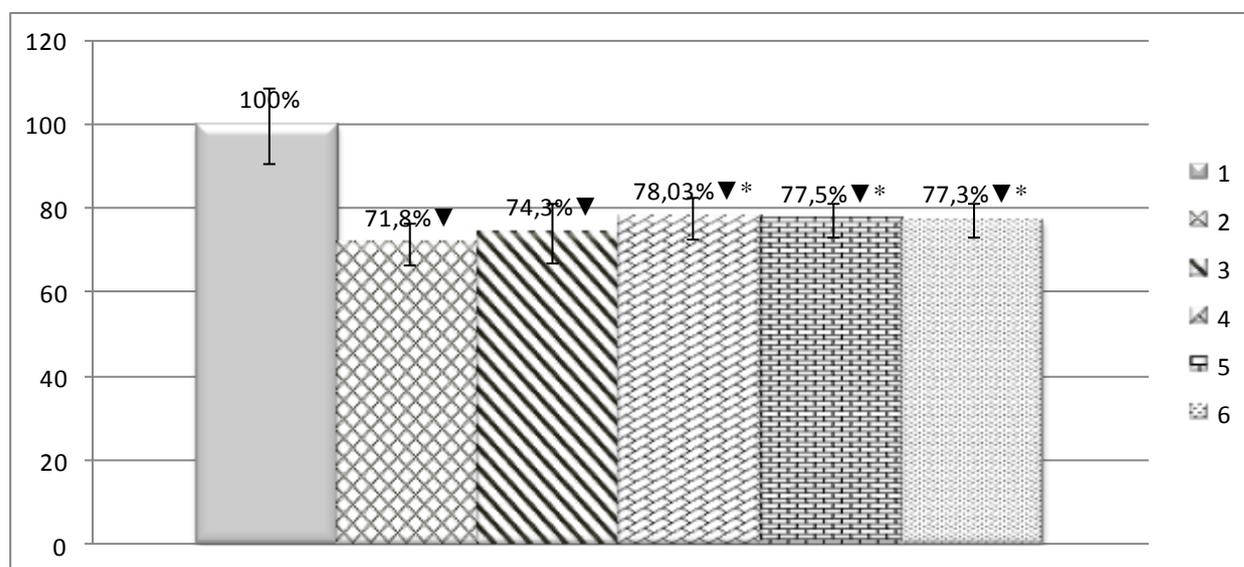


Рисунок 26 - Изменение содержания общего белка в сыворотке крови (в%)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (33%С₂Н₅ОН +Н₂О); 3 – 33%С₂Н₅ОН+ВИКП (150 мг/кг); 4 – 33%С₂Н₅ОН +ВИКР (150 мг/кг); 5 – 33%С₂Н₅ОН +Карсил (150 мг/кг); 6 – 33%С₂Н₅ОН +Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; *- вероятность различия к контролю.

5.4 Изменение содержания общего билирубина в сыворотке крови

Нарушение липидного обмена может возникать в результате избыточного образования общего билирубина при токсических поражениях печени [81, 88]. В наших опытах, у контрольных животных, содержание ОБР в сыворотке крови значительно и достоверно возросло на 177,4%, по отношению к интактной группе (таблица А.3, рисунок 27). Введение ВИКП существенно повлияло на пигментный обмен: содержание ОБР в сыворотке крови, по сравнению с контролем, понизилось на 28,6% ($p < 0,001$). Применение ВИКР, в меньшей степени, обусловило изменение этого показателя, по отношению контрольной группе, его уровень снизился на 18,4% ($p < 0,01$). При приеме Хофитола и Карсила, содержание ОБР в сыворотке крови животных, в сравнении с контролем, понизилось на 13,6% ($p < 0,01$) и 23,8% ($p < 0,001$) соответственно.

Следовательно, в условиях экспериментального алкогольного гепатита, применение ВИКП способствует снижению содержания в сыворотке крови ОБР и нормализации липидного обмена.

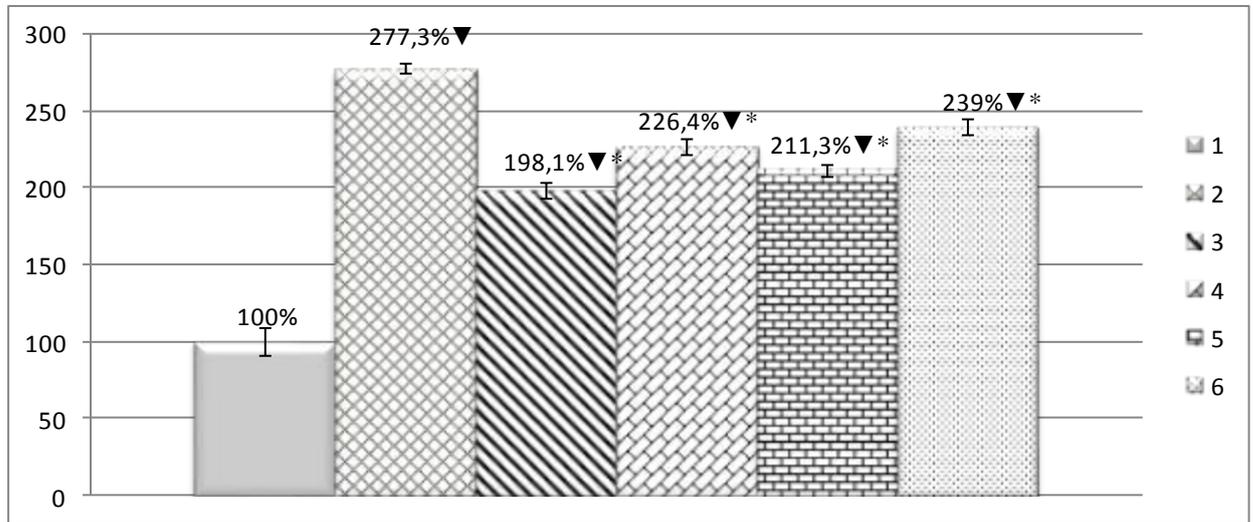


Рисунок 27 - Изменение содержания общего билирубина в сыворотке крови (в%)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (33%С₂Н₅ОН +Н₂О);
 3 – 33%С₂Н₅ОН+ВИКП (150 мг/кг); 4 – 33%С₂Н₅ОН +ВИКР (150 мг/кг);
 5 – 33%С₂Н₅ОН +Карсил (150 мг/кг); 6 – 33%С₂Н₅ОН +Хофитол (150 мг/кг);
 ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

5.5 Изменение содержания холестерина в сыворотке крови

Гиперхолестеринемия свидетельствует о развитии синдрома холестаза в пораженном организме [103]. Изменения в содержании холестерина наблюдались также в группе контрольных животных: уровень холестерина в сыворотке крови повысился на 10,5% ($p < 0,05$), в сравнении с интактной группой (таблица А.3, рисунок 28). Прием ВИКП обусловил, по сравнению с контролем, снижение холестерина в крови на 10,5% ($p < 0,05$) и его восстановление до уровня интактных животных. Аналогичное влияние вызвало применение ВИКР: уровень показателя снизился и составил 12% ($p < 0,05$). Эффект препаратов сравнения незначительно отличался от действия исследуемых извлечений: по отношению к контрольной группе животных, введение Карсила и Хофитола снизило содержание холестерина в крови на 8,6% ($p < 0,05$) и 7,6% ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, введение ВИКП и ВИКР способствует, в равной мере, снижению содержания холестерина в крови у животных, пораженных этанолом.

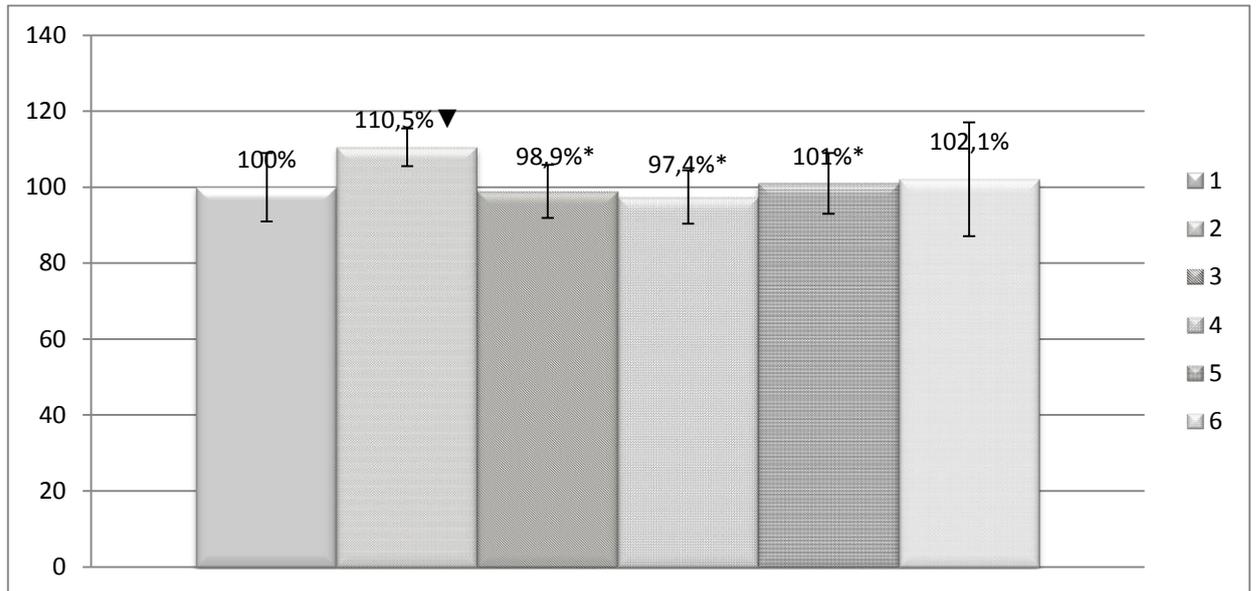


Рисунок 28—Изменение содержания общего холестерина сыворотки крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (33%С₂Н₅ОН +Н₂О); 3 – 33%С₂Н₅ОН+ВИКП (150 мг/кг); 4 – 33%С₂Н₅ОН +ВИКР (150 мг/кг); 5 – 33%С₂Н₅ОН +Карсил (150 мг/кг); 6 – 33%С₂Н₅ОН +Хофитол (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

5.6 Изменение содержания триглицеридов в сыворотке крови

Увеличение содержания ТРГ в крови, равно как и холестерина, свидетельствует о нарушении липидного обмена при алкогольном поражении печени [103]. В контрольной группе животных уровень ТРГ в сыворотке крови достоверно, по сравнению с нормой, увеличился на 26,3% ($p < 0,05$), что видно из таблицы А.3, рисунка 29. При введении животным ВИКП, уровень в крови ТРГ, в сравнении с контролем, существенно снизился на 27,7% ($p < 0,05$) и фактически восстановился до уровня интактных. Сходный эффект наблюдался в группе с введением ВИКР: содержание ТРГ понизилось до 30,7% ($p < 0,05$), но не имело достоверных отличий от величины предыдущих опытов. относительно контрольных показателей, уровень ТРГ в группе животных, получавших Карсил и Хофитол, понизился соответственно на 16,9% ($p < 0,01$) и 13% ($p < 0,05$).

Таким образом, ВИКП и ВИКР, в равной мере, способствуют снижению уровня ТРГ в сыворотке крови при алкогольном поражении печени.

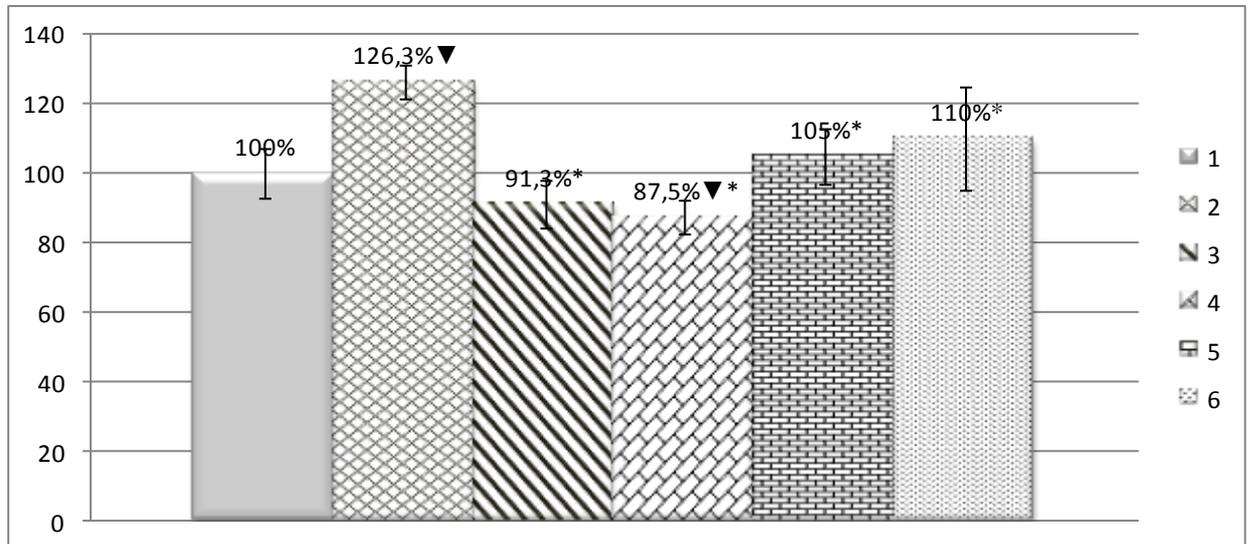


Рисунок 29–Изменение содержание триглицеридов сыворотки крови (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль (33%С₂Н₅ОН +Н₂О);
 3 – 33%С₂Н₅ОН+ВИКП (150 мг/кг); 4 – 33%С₂Н₅ОН +ВИКР (150 мг/кг);
 5 – 33%С₂Н₅ОН +Карсил (150 мг/кг); 6 – 33%С₂Н₅ОН +Хофитол (150 мг/кг);
 ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

5.7 Изменение содержания триглицеридов в печени

Характерным признаком алкогольного поражения гепатоцитов служит липидоз печени [103]. При токсическом отравлении этанолом у контрольных животных, содержание ТРГ в печени повысилось на 28,6% ($p < 0,05$), в сравнении с интактными показателями. Введение ВИКП предотвращало развитие липидоза: по сравнению с контролем, содержание ТРГ в печени существенно понизилось на 27,6% ($p < 0,01$), и оказалось на уровне интактных животных (таблица А.4, рисунок 30). Применение ВИКР способствовало снижению ТРГ в печени, в сравнении с контрольной группой, на 33,2% ($p < 0,01$), но не имело достоверных различий в отношении ВИКП ($p > 0,05$). Прием Карсила и Хофитола, также обусловил снижение содержание ТРГ в печени на 32,3% ($p < 0,001$) и на 19,8% ($p < 0,001$), в сравнении с контролем.

Можно заключить, что ВИКП, ВИКР, Карсил, и несколько в меньшей степени Хофитол, благотворно влияют на снижение содержания ТРГ в печени при поражении этанолом.

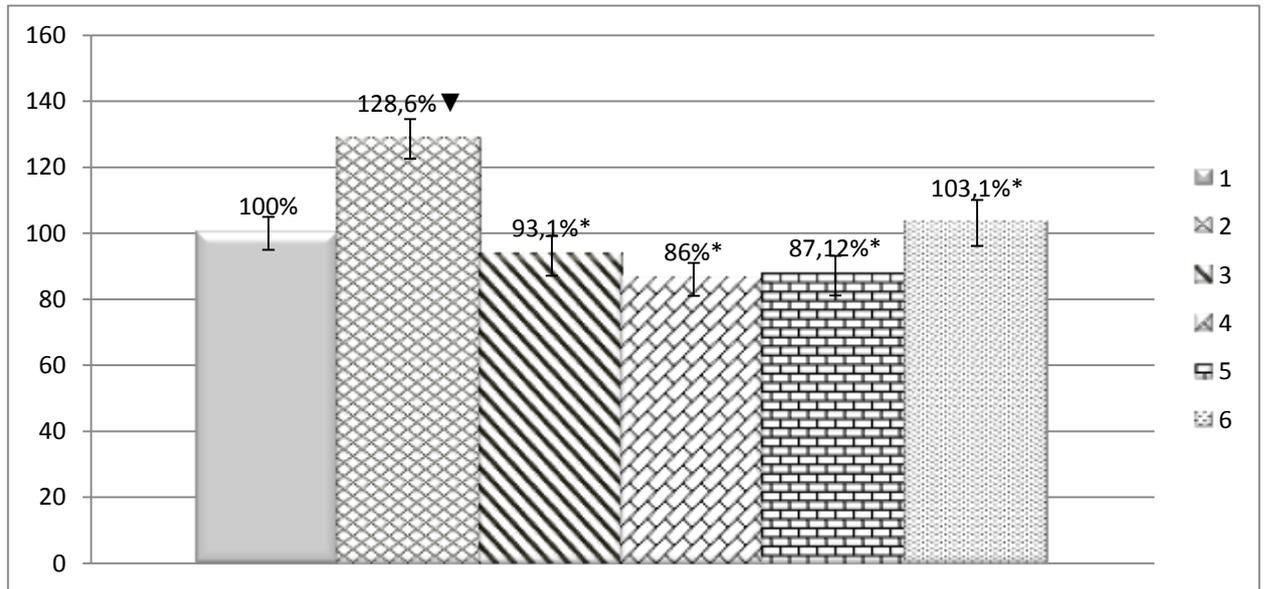


Рисунок 30 – Изменение содержания триглицеридов в печени (в %)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль ($33\%C_2H_5OH + H_2O$); 3 – $33\%C_2H_5OH + ВИКП$ (150 мг/кг); 4 – $33\%C_2H_5OH + ВИКР$ (150 мг/кг); 5 – $33\%C_2H_5OH + Карсил$ (150 мг/кг); 6 – $33\%C_2H_5OH + Хофитол$ (150 мг/кг); ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

5.8 Изменение содержание гликогена в печени

Токсическое поражение печени этанолом приводит не только к нарушению структуры печени, но и вызывает различные изменения в углеводном метаболизме, что сказывается на состоянии глюкостатической функции печени. Содержание гликогена в печени отражает уровень метаболических процессов и подвергается заметному нарушению при химической интоксикации [226]. В наших исследованиях в контрольной группе животных с алкогольным поражением печени, наблюдалось сравнительно небольшое снижение содержания гликогена, по отношению к интактным показателям (таблица А.4, рисунок 31).

Применение в этих условиях ВИКП и ВИКР привело к увеличению содержания гликогена в печени, по сравнению с контролем, на 72,6% ($p < 0,05$) и 60,3% ($p < 0,05$) соответственно. Несколько в меньшей степени повлияли на уровень данного показателя в печени Карсил и Хофитол:

содержание гликогена повысилось, по отношению к контролю, на 53,7% ($p < 0,05$) и 41,5% ($p < 0,05$) соответственно.

Приведенные результаты свидетельствуют о способности исследуемых веществ, активировать гликогенсинтетические процессы в органе, что подтверждается повышением уровня гликогена в печени.

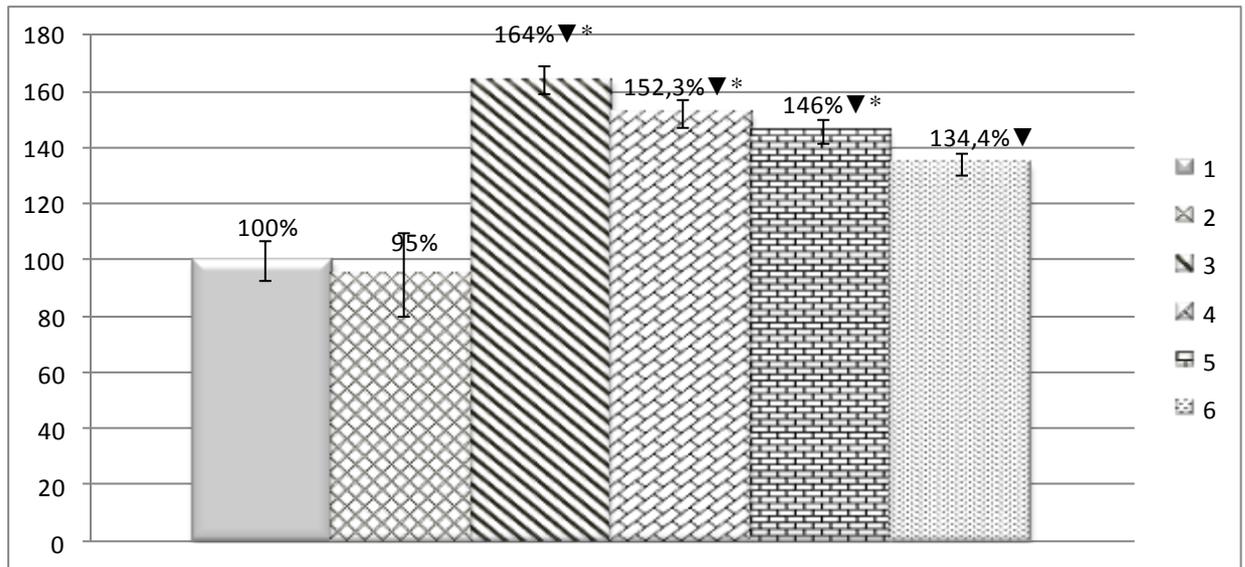


Рисунок 31 – Изменение содержание гликогена в печени в (%)

Условные обозначения: 1 – интактные; 2 – контроль ($33\%C_2H_5OH + H_2O$);
 3 – $33\%C_2H_5OH + \text{ВИКП}$ (150 мг/кг); 4 – $33\%C_2H_5OH + \text{ВИКР}$ (150 мг/кг);
 5 – $33\%C_2H_5OH + \text{Карсил}$ (150 мг/кг); 6 – $33\%C_2H_5OH + \text{Хофитол}$ (150 мг/кг);
 ▼ - вероятность различия к интактным; * - вероятность различия к контролю.

5.9 Исследование гисто–морфологической картины печени при остром токсическом поражении этанолом

У интактных животных балочное строение гепатоцитов не нарушено, гистологические препараты печени имеют равномерную окраску по всей площади срезов (рисунок 32). Хорошо рассматриваются печеночные дольки. Междольковые перегородки тонкие, ровные, едва различимы. Центральные вены правильной овальной формы, заполнены небольшим количеством эритроцитов. Печеночные балки имеют радиальную ориентацию. Гепатоциты в них, плотно прилегают друг к другу. Между печеночными балками хорошо видны синусоиды, которые имеют мягкую извитость, свободны от содержимого, обычных размеров. В портальных зонах отчетливо различаются триады. Просветы сосудов триады зияют, правильной округлой формы. Гепатоциты имеют равномерную гомогенную окраску, цитоплазма содержит нежную зернистость. Ядра гепатоцитов по форме структуре и окраске не изменены.



Рисунок 32 - Микропрепарат печени интактной крысы (окраска гематоксилин-эозином; увеличение $\times 160$)

В группе контрольных животных с алкогольным гепатитом, на гистологических срезах печени наблюдается перивенулярное центролобулярное поражение гепатоцитов (рисунок 33). Определяются признаки их гидропической дистрофии в виде набухания клеток с увеличением размеров, просветлением цитоплазмы, кариопикнозом и кариорексисом. Некроз гепатоцитов наблюдается преимущественно в центре печеночных долек, в клетках появляются вакуоли различной величины, клетки увеличены в размерах, цитоплазма их просветлена. Вместе с тем массового некроза клеток печени не наблюдается. Определяется нарушение балочной структуры печеночных долек, резкая гиперемия центральных вен и кровеносных сосудов триад, пространства Диссе резко расширены. У отдельных животных контрольной группы выявлены обширные диапедезные кровоизлияния (рисунок 33; обозначено стрелками). Признаков жирового стеатоза в гепатоцитах не обнаружено.

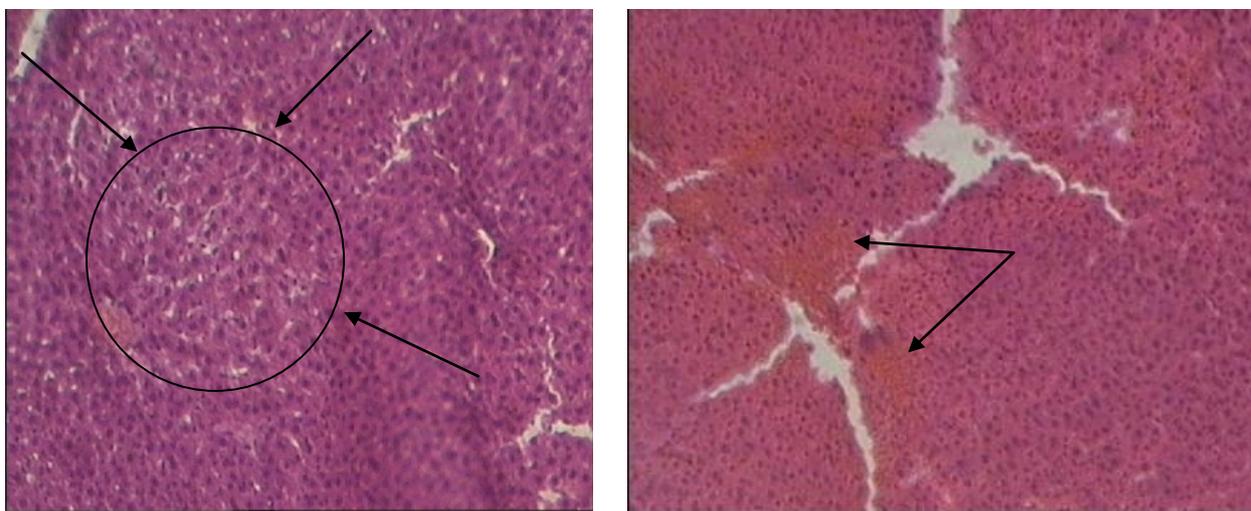


Рисунок 33 – Микропрепарат печени крысы, получавшей воду очищенную при поражении печени 33% этанолом (окраска гематоксилин-эозином; увеличение $\times 160$)

В группе животных с моделью острого алкогольного поражения печени, получавших в качестве лечения ВИКР наблюдались аналогичные предыдущей группе морфологические изменения, однако они были выражены в меньшей степени, чем в контрольной группе. Балочная структура печеночных долек нарушена умеренно. Просматриваются

единичные гепатоциты в состоянии гидропической дистрофии, преимущественно в периваскулярных зонах дольки. Наблюдаются также диапедезные кровоизлияния и гиперемия сосудов (рисунок 34; обозначено стрелками). Заметно расширены синусоидальные карилляры.

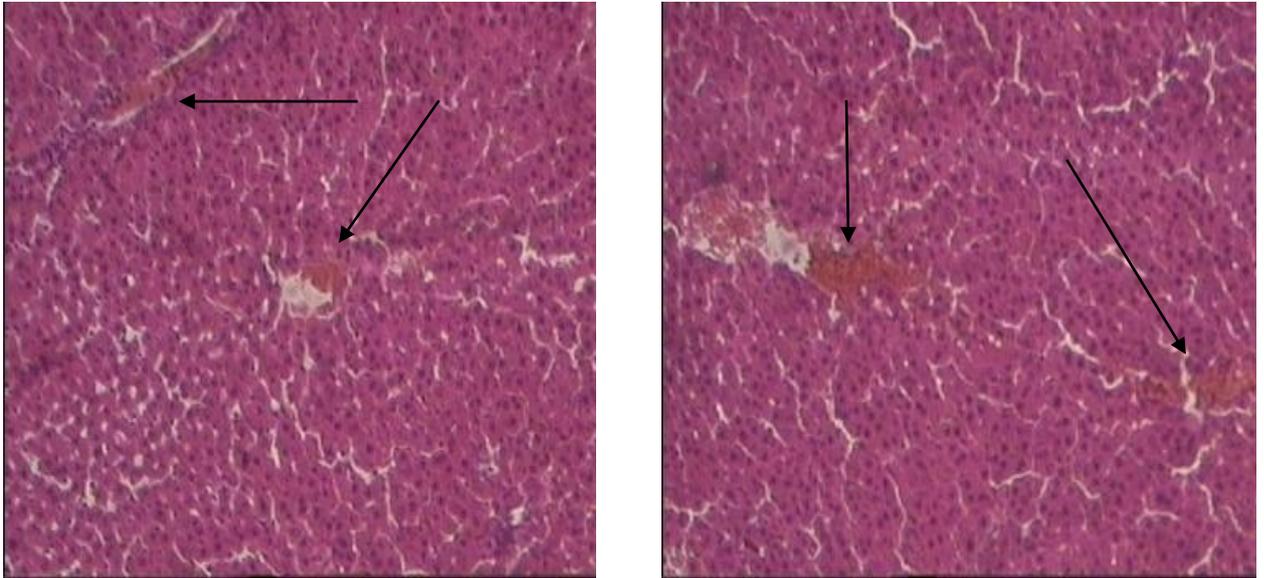


Рисунок 34 – Микропрепарат печени крысы, получавшей ВИКР при поражении печени 33% этанолом, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение×160)

В группе животных с моделью острого алкогольного поражения печени, получавших ВИКП, балочная структура печеночных долек в целом сохранена. Центральные вены и кровеносные сосуды триад без признаков гиперемии, свободны от содержимого. Определяется умеренная лимфоцитарная инфильтрация пролиферативных процессов в зонах центральных вен (рисунок 35; указано стрелкой). Гиперемии сосудов и диапедезных периваскулярных кровоизлияний не наблюдается. Отмечаются единичные клетки в состоянии гидропической дистрофии.

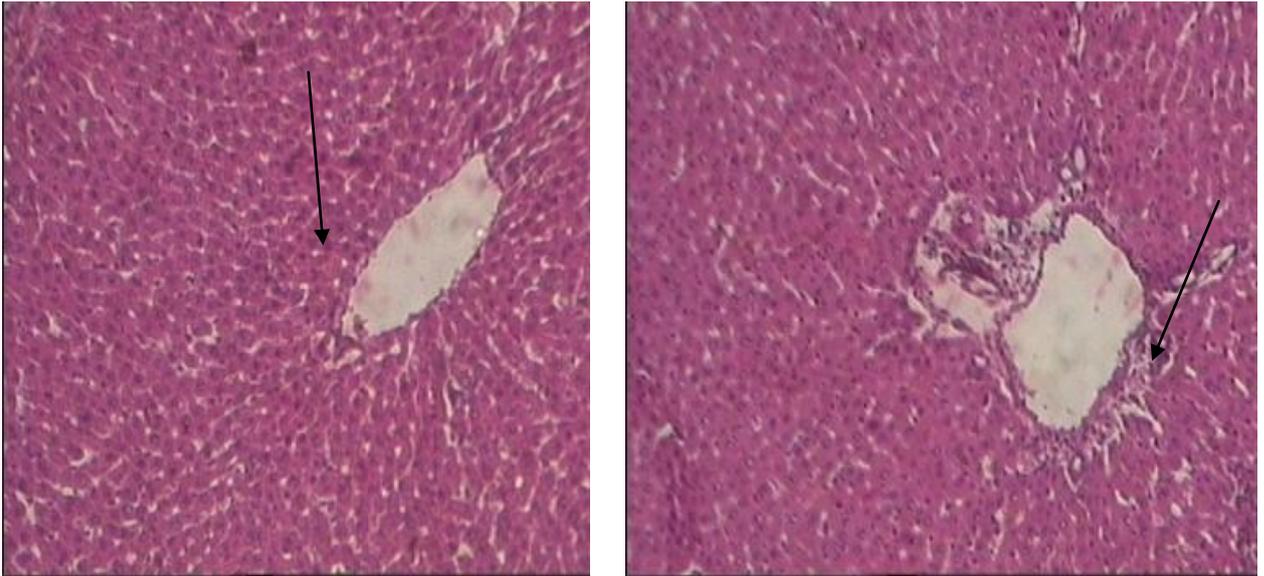


Рисунок 35 - Микропрепарат печени крысы, получавшей ВИКП при поражении печени 33% этанолом, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение $\times 160$)

В группе пораженных этанолом животных, получавших в качестве лечения Карсил, морфологические изменения в срезах печени по степени и характеру были аналогичны группе, получавшей ВИКП. Признаков гиперемии центральных вен и кровеносных сосудов триад, а также диапедезных периваскулярных кровоизлияний не отмечалось. Синусоидные капилляры печеночных долек заметно расширены, свободны от содержимого. В паравенулярных зонах долек просматривалось умеренное количество гепатоцитов в состоянии гидропической дистрофии. Количество этих клеток примерно соответствует группе, получавшей ВИКП (рисунок 36).

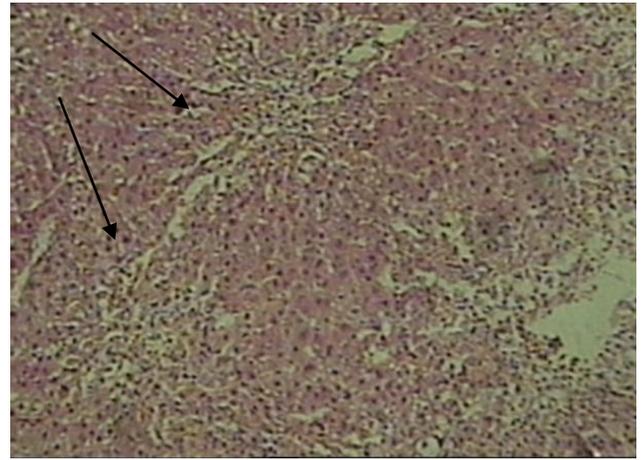
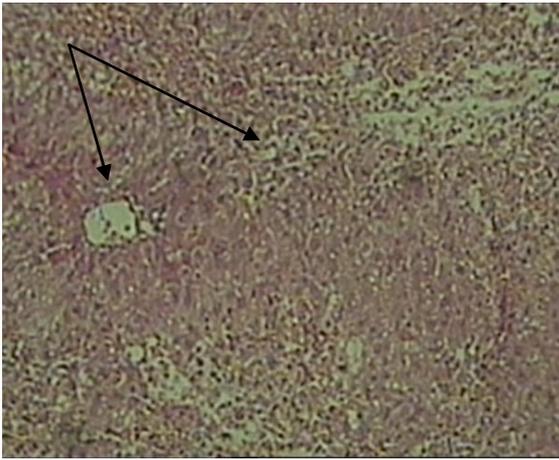


Рисунок 36 – Микропрепарат печени крысы, получавшей Карсил при поражении печени 33% этанолом, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение 160)

Рисунок 37 – Микропрепарат печени крысы, получавшей Хофитол при поражении печени 33% этанолом, 150 мг/кг (окраска гематоксилин-эозином; увеличение 160)

В группе пораженных этанолом животных, получавших в качестве лечения Хофитол, степень морфологических изменений была несколько выше, чем в группах, получавших в качестве лечения ВИКП и Карсил (рисунок 37). В этой группе заметно сильнее расширены синусоидные капилляры долек. Здесь более широкая перивенулярная зона (3-я зона печеночных долек), содержащая клетки в состоянии гидропической дистрофии. Выражены явления дискомплексации печеночных балок. Таким образом, острое отравление животных этанолом проявляется картиной поражения печени, выражающейся в заметных морфологических изменениях гистологической структуры тканей печени (гидропической дистрофии гепатоцитов, диапедезных кровоизлияний, нарушения балочной структуры долек и др.). ВИКП и Карсил оказывают гепатопротекторный эффект при данной форме патологии, который проявляется в уменьшении степени дистрофии тканей и нормализации её структуры. Можно заключить, что все изучаемые вещества в большей или меньшей степени снижают глубину поражения ткани печени относительно контроля. По выраженности гепатозащитного действия веществ их можно распределить в следующем порядке: ВИКП=гепатопротектор Карсил> Хофитол>ВИКР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

- Исследование гепатопротекторной активности ВИКП с использованием комплекса биохимических методов, отражающих функциональное состояние печени, проводили на модели алкогольного токсического гепатита. Введение этанола вызвало развитие поражения печени с теми же характерными сдвигами биохимических показателей, что наблюдалось при введении тетрахлорметана. В сыворотке крови контрольных животных отмечалось достоверное повышение активности АлАт, ЩФ, снижение содержания общего белка, повышение общего билирубина, холестерина и ТРГ сыворотки крови. При этом в печени, наряду с достоверным увеличением содержания ТРГ, уменьшались запасы гликогена. Из полученных результатов следует, что интоксикация этанолом приводит к нарушению метаболических процессов в органе.

- Применение исследуемых веществ выявило идентичную направленность их воздействия на процессы нормализации изученных биохимических параметров. Так, введение ВИКП крысам с токсическим алкогольным гепатитом в дозе 150 мг/кг, в равной мере с действием ВИКР и Карсила, привело к достоверному, в сравнении с контролем, снижению в сыворотке крови активности АлАт, ЩФ, содержания общего билирубина, холестерина, ТРГ в сыворотке крови и печени. Исследуемое извлечение значительно активировало гликогенсинтетическую функцию печени. Это подтверждалось и морфологической картиной печени.

- На гистологической картине у пораженных этанолом животных отмечался острый воспалительный процесс, увеличение размеров гепатоцитов с просветлением цитоплазмы, кариопикнозом и кариорексисом, нарушение кровообращения в органе (у отдельных животных контрольной группы выявлены обширные диапедезные кровоизлияния). У крыс получавших Хофитол и ВИКР, также просматривались клетки в состоянии гидропической дистрофии, более глубоко выражены явления

дискомплексации печеночных балок, наблюдались диапедезные кровоизлияния и гиперемия сосудов, тогда как при введении ВИКП и Карсила балочная структура печеночных долек была в целом сохранена. Меньшее количество гепатоцитов находилось в состоянии гидropической дистрофии, при этом гиперемии сосудов и диапедезных периваскулярных кровоизлияний не наблюдалось.

Следует отметить, что ВИКП обладает выраженным гепатопротекторным действием при поражении печени этанолом. Восстановление функционального состояния печени происходит более эффективно, по сравнению с введением ВИКР. По механизму фармакологического действия ВИКП сопоставимо с Карсилом, что подтверждается полученными данными биохимических и морфологических показателей печени.

ГЛАВА 6. РОЛЬ СВОБОДНО–РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО ПРИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ

6.1 Влияние извлечений из кориандра посевного травы на показатели прооксидантно–антиоксидантного баланса при токсическом поражении печени тетрахлорметаном

Токсическое поражение печени тетрахлорметаном приводит к активации процессов свободно–радикального окисления, которые сопровождаются глубокими изменениями в антиоксидантной системе, в частности ее ферментативного и неферментативного звена, что подтверждается повышением в сыворотке крови и печени содержания ТБК – активных продуктов, снижением активности ферментов антиоксидантной системы (СОД и каталазы) и содержания GSH–восстановленного [172, 187, 232].

Как видно из представленных данных (таблица А.1., А.2.; рисунок 38), при остром токсическом отравлении тетрахлорметаном (контроль) развивался дисбаланс в системе про–антиоксиданты, что характеризовалось значительным повышением содержания ТБК–активных продуктов в сыворотке крови на 175,1% ($p < 0,001$), и особенно, в печени на 226,7% ($p < 0,001$), падением активности важнейших антиоксидантных ферментов в ПФП, обезвреживающих активные формы кислорода – СОД (на 47%, $p < 0,01$), каталазы (на 65%, $p < 0,01$) и снижением содержания GSH–восстановленного (на 53%, $p < 0,05$).

Курсовое введение ВИКП и СИКП в дозе 150 мг/кг (таблица А.1, А.2; рисунок 38) на фоне интоксикации тетрахлорметаном, привело к восстановлению показателей перекисных процессов и маркеров антиоксидантной защиты. У животных достоверно снизилось, в сравнении с контролем, содержание ТБК–активных продуктов в сыворотке крови (на 25,6% и 47,3%) и печени (на 34,7% и 53,1%) соответственно, причем влияние СИКП оказалось эффективным. Наряду с уменьшением ТБК–продуктов в сы-

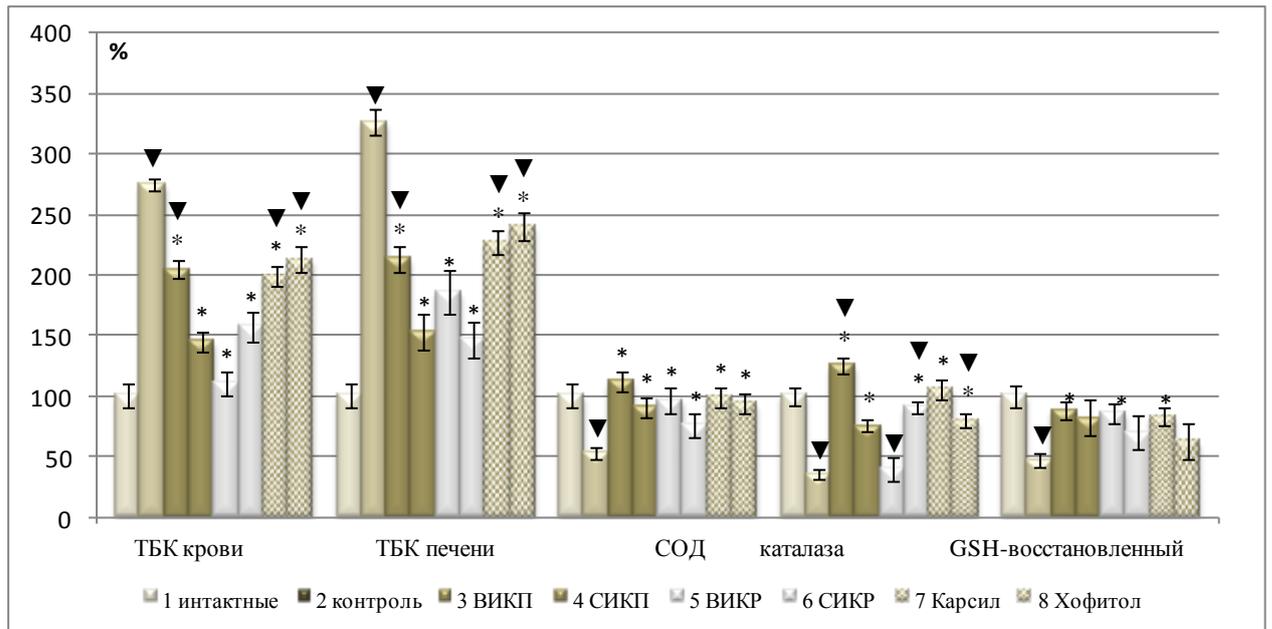


Рисунок 38 – Влияние курсового введения исследуемых веществ в дозе 150 мг/кг на функциональное состояние печени при поражении тетрахлорметаном

Условные обозначения: 100% - интактные животные; ▼ - достоверно по отношению к интактным; * - достоверно по отношению к контролю.

воротке крови и печени, достоверно увеличилась активность антиоксидантных маркеров в ПФП: СОД (на 111% и 71%), каталазы (на 257% и 114,3%), и содержание GSH–восстановленного (на 87,7% и 73,8%) соответственно.

При действии ВИКР и СИКР в дозе 150 мг/кг (таблица А.1, А.2; рисунок 38) также снизилось содержание ТБК–продуктов в крови (на 59,7% и 43%) и печени (на 42,8% и 55,1%), при одновременном повышении активности СОД (на 81,9% и 42,5%) и каталазы (на 14,3% и на 157,1%) соответственно, однако уровень GSH–восстановленного в печени достоверно повысился в группе животных, получавших ВИКР на 83,2%, относительно контроля.

Применение Карсила и Хофитола (таблица А.1, А.2; рисунок 38), в равной мере с действием ВИКП, вызвало достоверное снижение ТБК–активных продуктов в крови (на 27,7% и 22,6%) и печени (на 30,6% и 26,5%), повышение активности СОД (на 86% и 77%; достоверная разница к исследуемым извлечениям отсутствует) и каталазы (на 200% и 128,6%)

соответственно, при этом повышение содержания GSH–восстановленного в печени наблюдалось только в случае введения Карсила на 77,2% ($p<0,05$), по отношению к контрольной группе.

Для обоснования значения восстановления про-антиоксидантного равновесия в механизмах гепатопротекторного действия, были рассчитаны коэффициенты корреляции между изменениями биохимических показателей сыворотки крови и печени в опытных группах. Рассчитанные коэффициенты представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Влияние ВИКП и СИКП на корреляционные взаимосвязи показателей сыворотки крови и печени животных при поражении тетрахлолорметаном

Анализируемые пары показателей	Контроль (CCl ₄ гепатит)	ВИКП (150 мг/кг) ±CCl ₄	СИКП (150 мг/кг) ±CCl ₄	Карсил (150мг/кг) ±CCl ₄	Хофитол (150мг/кг) ±CCl ₄
ОБР / ТБК печени	+0,500	+0,828*	+0,900*	-0,028	+0,600
ОБ / ТРГ печени	+0,600	+0,314	-0,943**	-0,600	+0,500
ХС / ТРГ крови	+0,643	+0,405	+0,879***	-0,500	-0,100
ХС / Гликоген	+0,257	-0,886**	+0,771	-0,300	-0,600
ХС / GSH-восстановленный	+0,257	+0,143	+0,943**	+0,300	-0,028
ТРГ крови /GSH-восстановленный	+0,600	+0,314	+0,943**	-0,600	-0,400
ТБК печени /GSH-восстановленный	-1,00	-0,314	+0,700	-0,429	+0,828*
Гликоген / GSH-восстановленный	-0,829*	-0,200	+0,829*	+0,086	-0,371
СОД / GSH-восстановленный	+0,257	-0,143	-0,300	+0,829*	+0,257
СОД / Гликоген	+0,028	+0,886*	-0,400	-0,029	-0,943**

В связи с этим, можно сказать, что установленная тесная обратная корреляция между выраженной нормализацией биохимических показателей, характеризующих состояние углеводного, белкового, липидного обменов и повышением активности маркеров антиоксидантной системы, свидетельствует о важном значении восстановления баланса в системе про-антиоксиданты в механизмах гепатопротекторного действия.

6.2 Влияние водного извлечения из кориандра посевной травы на показатели прооксидантно–антиоксидантного баланса при токсическом поражении печени этанолом

В связи со злоупотреблением алкоголя возникают проблемы здоровья, включающие сопутствующее поражение внутренних органов и систем, в первую очередь печени. Хроническое потребление алкоголя сопровождается активацией ферментов этанолюкисляющей системы, что приводит к образованию свободных радикалов, в том числе гидроксипропиловых радикалов, образующихся непосредственно из этанола. В результате активируются процессы ПОЛ, которые, в свою очередь, способствуют повреждению клеточных мембран и развитию тяжелой патологии печени [54, 55, 221, 230].

При изучении механизма действия этанола как токсиканта, повреждающего печень (C_2H_5OH), нами также было установлено развитие окислительного стресса в этом органе, который характеризовался повышением в сыворотке крови и печени контрольных животных содержания ТБК-активных продуктов (на 90,8% и 60% соответственно), снижением активности антиоксидантных ферментов в печени СОД (на 39%), каталазы (на 60%), и содержания GSH–восстановленного (на 25%) соответственно (таблица А.3, А.4; рисунок 39).

Применение веществ и препаратов, защищающих печень способствовало восстановлению показателей интенсивности перекисных процессов и маркеров антиоксидантной защиты (рисунок 39). Так, при воздействии ВИКП у животных наблюдалось достоверное снижение, по отношению к контролю, содержания ТБК–продуктов в сыворотке крови (на 36,4%) и печени (на 41,7%) соответственно, повышение активности СОД (на 68,2%), каталазы (на 125%) и содержания GSH–восстановленного (на 51,3%).

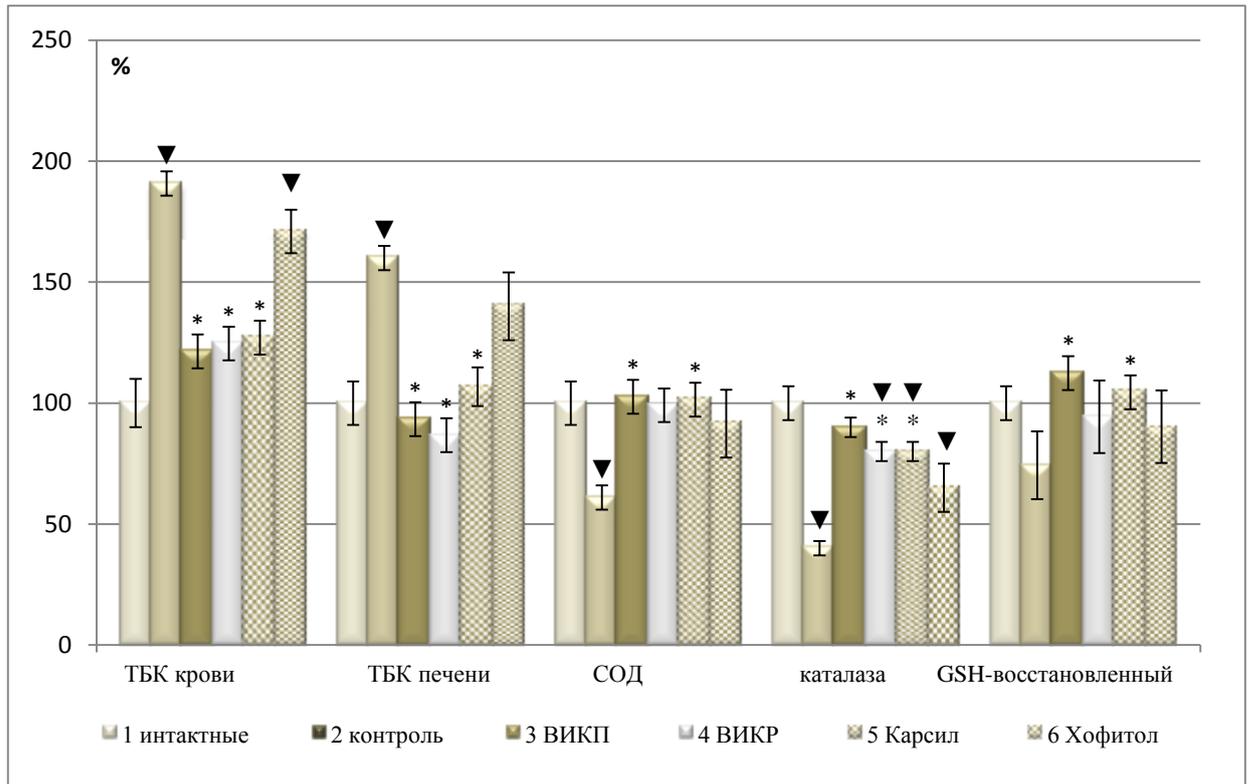


Рисунок 39 – Влияние исследуемых веществ в дозе 150 мг/кг на функциональное состояние печени при токсическом поражении этанолом

Условные обозначения: 100% - интактные животные; ▼- достоверно по отношению к интактным; * - достоверно по отношению к контролю.

При введении ВИКР у животных также наблюдалось достоверное, по отношению к контролю, снижение содержания ТБК–продуктов в сыворотке крови и печени (на 34,7% и 45,8% соответственно) и повышение активности СОД и каталазы (на 62,5% и 100% соответственно), но эти изменения были выражены в меньшей степени, чем у животных, получавших ВИКП.

Аналогичный эффект с действием ВИКП наблюдался в группе животных, получавших Карсил: достоверно снизилось, по отношению к контролю, содержание ТБК–продуктов в сыворотке крови (на 33,5%) и гомогенате печени (на 33,3%). Значительно возросла активность СОД (на 66,2%), каталазы (на 100%) и содержание GSH–восстановленного (на 40,6%) в печени. При курсовом введении Хофитола достоверных отличий, по отношению к показателям контрольных опытов, не отмечалось (таблица А.3, А.4).

Существенный вклад в понимание биологического эффекта ВИКП при токсическом поражении печени этанолом вносит анализ корреляционной матрицы показателей при курсовом воздействии изучаемых факторов. Так, применение ВИКП при данной патологической модели инициировало взаимосвязи с показателями белкового и углеводного обменов, т.е. АлАт / гликоген ($r= +0,829$, $p<0,05$), билирубин / гликоген ($r= +0,886$, $p<0,05$), а также между интенсивностью перекисного окисления и общим уровнем белка в сыворотке крови - общий белок / ТБК крови ($r= +0,862$, $p<0,01$), что видно из таблицы 14. Различие этиологии исследуемых патологических моделей (токсическое поражение этанолом и тетрахлорметаном) выражается в различных механизмах действия ВИКП при этих патологиях. Курсовое применение ВИКП при поражении тетрахлорметаном способствовало в большей степени, чем при этанольном поражении нормализации системы антиоксидантной защиты, что подтверждалось возникновением большего количества корреляционных взаимосвязей между показателями системы антиоксидантной защиты и другими биохимическими показателями метаболизма в крови и печени, например, ОБР / ТБК печени ($r= +0,828$, $p<0,05$), СОД / гликоген ($r= +0,886$, $p<0,05$).

Следует отметить, что применение СИКП при поражении тетрахлорметаном способствовало активизации гораздо большего количества корреляционных взаимосвязей между показателями интенсивности ПОЛ и системы антиоксидантной защиты (таблица 13), например, ТРГ крови / GSH-восстановленный ($r=+0,943$, $p<0,01$), а также между показателями углеводного обмена и системы антиоксидантной защиты – гликоген / GSH-восстановленный ($r=+0,829$, $p<0,05$). Полученные данные проведенных исследований указывают на то, что ВИКП и СИКП имеют различную эффективность, а также то, что курсовое применение ВИКП отличается метаболическими механизмами действия при токсических поражениях различной этиологии.

Таблица 14 – Влияние ВИКП на корреляционные взаимосвязи показателей сыворотки крови и печени животных при поражении этанолом

Анализируемые пары показателей	Контроль (алкогольный гепатит)	ВИКП (150мг/кг)	Карсил (150мг/кг)	Хофитол (150мг/кг)
АлАт / ТБК-продукты крови	-0,828*	-0,084	-0,029	-0,486
АлАт / ХС крови	+0,257	-0,261	-0,314	-0,928**
АлАт / Гликоген	-0,800	+0,829*	-0,371	+0,600
ЩФ / ХС крови	-0,543	-0,899**	+0,371	+0,319
ОБ / ТБК-продукты крови	-0,250	+0,862**	-0,314	+0,485
ОБР / Гликоген	-0,400	+0,886*	-0,600	-0,319
ОБР / ТРГ крови	+0,900	-0,267	+0,812*	+0,986***
ОБР / GSH-восстановленный	-0,400	+0,600	+0,828*	-0,579
Гликоген / СОД	-0,200	-0,300	-0,886*	-0,314
Гликоген / ТБК-продукты крови	+0,400	+0,428	+0,371	-0,943**

Таким образом, в результате проведенных нами исследований установлено, что при токсических поражениях печени, курсовое введение ВИКП, ВИКР и препаратов сравнения способствует сохранению, либо восстановлению исходного уровня активности эндогенной антиоксидантной системы, что предотвращает избыточное накопление перекисных продуктов, причем ВИКП в дозе 150 мг/кг, в этом отношении, является более эффективным, о чем свидетельствуют более высокие значения ферментов, отражающих состояние про-/ антиоксидантного равновесия в печени и в организме в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

- Токсические поражения печени проявляются активацией перекисного окисления липидов, что характеризуется увеличением содержания ТБК-активных продуктов в сыворотке крови и печени, а также существенным снижением активности ферментной антиоксидантной системы: СОД, каталазы и глутатионовой системы (GSH) [172, 187, 229], что в свою очередь сопровождается нарушениями белкового, пигментного и липидного обменов [103, 140, 169], повышением содержания в крови – лизосомальных маркеров клеточного цитолиза: АлАт и ЩФ [211, 219].
- У животных с токсическим поражением печени тетрахлорметаном и этанолом отмечается значительный рост ТБК–активных продуктов в сыворотке крови и печени, что характеризуется усилением процессов перекисного окисления мембран гепатоцитов, повлекшим за собой снижение активности ферментов антиоксидантной системы – СОД и каталазы. Прием ВИКП препятствует развитию окислительного стресса при обеих патологиях, снижает интенсивность ПОЛ и вызывает стабилизацию мембран гепатоцитов за счет прямого антиоксидантного действия, что подтверждается снижением ТБК-продуктов в сыворотке крови и печени, и повышением СОД, каталазы и GSH–восстановленного в печени, что играет существенную роль в механизме гепатопротекторного действия.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Общими свойствами современных растительных гепатопротекторных и желчегонных препаратов являются содержание полифенольных соединений (флавоноиды, флаволигнаны, коричные кислоты и др.) и наличие антиоксидантной активности [7, 8, 68, 152, 204, 240]. Доля же эффективных отечественных лекарственных средств этой группы на фармацевтическом рынке РФ невелика и составляет лишь 23% от зарубежной [142, 158]. По этой причине поиск новых отечественных гепатопротекторов, получаемых из растительного сырья считается перспективным. Таким объектом является растение Кориандр посевной (*Coriandrum sativum* L.) семейства *Apiaceae* (*Umbelliferae*). Химический состав надземной части травы кориандра представлен различными полифенольными соединениями: флавоноидами (апигенин, лютеолин, гиперозид, гесперидин, виценин, диосмин, ориентин, кверцетин, хризозеиол, катехин и др.), кумаринами (дикумарин, 4-оксикумарин, эскулетин, эскулин и др.) и фенолкарбоновыми кислотами (галловая, феруловая) [102, 108]. Такой полифенольный состав позволил предположить наличие у кориандра посевного широкого спектра биологической активности, в том числе антиоксидантной и гепатопротекторной [102, 118, 177].

Из литературных данных известно, что разнообразные биологические эффекты полифенолов проявляются как в водных, так и в спиртовых извлечениях [8, 230, 232, 238]. По этой причине из надземной части травы кориандра посевного нами были получены извлечения (ВИКП и СИКП), которые были доведены до сухого состояния и подвергнуты дальнейшему фармакологическому и химическому исследованию.

Острая токсичность извлечений при пероральном введении исследована на 72 крысах – самках линии Wistar. Результаты экспериментов острой токсичности при пероральном введении ВИКП и СИКП показали, что введение дозы 5500 мг/кг не вызвало гибели экспериментальных животных в

течение двухнедельного наблюдения, и согласно ГОСТУ 12.1.007-76, классификации Ходже и Стернера [17] изучаемые извлечения относятся к V классу «практически нетоксичным веществам» ($LD_{50} > 5000 \text{ мг/кг}$).

Эффективная терапевтическая доза определена с использованием классической модели поражения печени тетрахлорметаном (50% масляный раствор тетрахлорметана 0,15 мл/100 г массы тела трехкратно) по изменению биохимических показателей и проценту выживших животных. Биохимическими маркерами повреждения гепатоцитов служили показатели сывороточного содержания общего белка, общего билирубина, ТБК-активных продуктов и ТРГ печени. Было установлено, что ВИКП и СИКП в дозе 150 мг/кг способствовали достоверному, относительно контроля, изменению биохимических показателей, свидетельствующему о развитии гепатопротекции. Расчетный коэффициент гепатопротекции ВИКП и СИКП, по совокупности полученных экспериментальных данных, достоверно превышал показатели остальных исследуемых доз и в среднем составил 50%. Необходимо также отметить, что при введении ВИКП и СИКП в дозе 150 мг/кг отмечалось значительное сокращение продолжительности этаминалового сна крыс, максимальная выживаемость животных и максимальный желчегонный эффект. По-видимому, при этой дозе на метаболическом уровне, достигалось оптимальное для нормализации биохимических процессов, количественное соотношение участвующих в химических реакциях метаболитов. Таким образом, по совокупности полученных экспериментальных данных, расчетным значениям коэффициента гепатопротекции и проценту выживших животных, в качестве эффективной терапевтической дозы при пероральном применении изучаемых извлечений выбрана доза 150 мг/кг.

Изучение гепатопротекторного действия ВИКП и СИКП проведено на экспериментальных моделях поражения печени тетрахлорметаном и этанолом в установленных терапевтических дозах (150 мг/кг) при

пероральном введении с использованием комплекса функциональных, биохимических и гистоморфологических методик.

Установлено, что при токсическом поражении печени крыс тетрахлорметаном наблюдается развитие выраженного цитолиза (повышение активности АлАт на 106,3%), холестаза (повышение активности ЩФ на 81%), гипербилирубинемии, которая, по-видимому, связана как с воспалением желчевыводящих путей и нарушением оттока желчи, так и с нарушением целостности мембран гепатоцитов, что приводит к повышенному выходу билирубина в кровь (увеличение ОБР в 5,5 раз). Нарушается липидный обмен, что характеризуется повышением сывороточного ХС (на 42%) и ТРГ (на 150%) с одновременным увеличением количества ТРГ в печени (на 110,5%), что, вероятно, является одной из причин жирового перерождения печени. Нарушается белковосинтетическая функция печени, что отражается в уменьшении содержания сывороточного общего белка (на 27,2%), а также углеводный обмен, что подтверждается снижением содержания гликогена в печени (на 20,9%). Это в определенной степени свидетельствует об усилении анаэробных путей обеспечения клетки энергией и может косвенно указывать на нарушение процессов митохондриального окисления и фосфорилирования. Подобные изменения описаны в работах [103, 112, 135, 139, 164, 219]. Кроме этого, усиливается интенсивность ПОЛ, что подтверждается значительным повышением в сыворотке крови (в 1,8 раз) и печени (в 2,3 раза) содержания ТБК–продуктов, что, по мнению многих авторов [42, 139, 149], является важнейшим патогенетическим фактором повреждения печени тетрахлорметаном. Интенсификация ПОЛ, как известно, лежит в основе повреждения биомембран клетки [132], что запускает как механизмы гепатоцеллюлярного цитолиза, так и формирование внутрипеченочного холестаза. В свою очередь холестаз усугубляет метаболические нарушения, а детергентное действие компонентов желчи усиливает некробиоз гепатоцитов.

Гистологическая картина печени подтвердила данные биохимических исследований, на снимках отмечены выраженные патологические изменения: жировая дистрофия, лимфоцитарная инфильтрация, нарушение структуризации печеночных балок и некроз гепатоцитов.

Анализ полученных результатов показал, что по большинству биохимических маркеров применение ВИКП оказало более выраженное гепатозащитное действие, чем СИКП. В частности, введение ВИКП способствовало значительному и достоверному снижению сывороточной активности АлАт (-36,4%) и ЩФ (-43,1%), в то время как введение СИКП практически не изменяло эти показатели в сравнении с контролем. ВИКП, в большей мере, способствовало восстановлению белково-синтетической функции печени: содержание общего белка в сыворотке крови животных повысилось на 21,3%, чем при введении СИКП (повышение ОБ на 18,5%), по отношению к контролю. Такая же закономерность отмечалась и в отношении ХС (-40,7% у ВИКП против нулевого эффекта у СИКП), ТРГ сыворотки крови (-75% и -50%) и печени (-32,8% и -20,9%), а также гликогена печени (+55% и +7,7%) соответственно. Введение ВИКП более эффективно восстанавливало антиокислительный потенциал гепатоцитов: повышение активности СОД (+111%) и каталазы (+257%), чем СИКП (повышение активности ферментов на 71% и 114%), относительно контроля. Гепатопротекторные свойства ВИКП, в первую очередь, связаны с активацией антиоксидантной системы защиты клеток, предотвращающих развитие цитолитического синдрома и, как следствие, сохранение функциональной активности гепатоцитов. Сохранение активности антиоксидантных ферментов на уровне интактных показателей в условиях токсического поражения печени связано, с развитием компенсации патологического процесса. Большая эффективность ВИКП, по-видимому, напрямую коррелирует с большим содержанием в нем флавоноидов (1,55-1,67%), чем СИКП (1,42-1,47%), при этом наблюдаемый фармакологический эффект сравним с показателями групп, получавших ВИКР и Карсил.

В то же время на гистологической картине наблюдаются минимальные изменения в морфологии органа. В печени отсутствуют очаги ступенчатого некроза, жировые кисты и мононуклеарная инфильтрация, отмечаются участки слабовыраженного воспаления. В группе с Карсилом имеется большее количество гепатоцитов в состоянии жировой дистрофии, более выражена лимфоцитарная инфильтрация. У животных, получавших СИКП, извлечения из кукурузных рылец и Хофитол, восстановительные процессы на срезах печени выявлены в меньшей степени, отмечаются более выраженные патологические изменения в сравнении с введением ВИКП. Таким образом, динамика гистоморфологических изменений в печени в общем коррелирует с направленностью сдвигов биохимических показателей в крови и ткани печени, что свидетельствует о восстановлении метаболических процессов в пораженном органе при приеме ВИКП.

Дальнейшее изучение гепатопротекторной активности проведено на экспериментальной модели поражения печени этанолом (33% раствор этанола 0,75мл/100 г массы тела двухкратно). Острое алкогольное отравление также вызывает развитие поражения печени с теми же характерными сдвигами биохимических показателей, что наблюдается при введении тетрахлорметана. При токсическом поражении печени крыс этанолом также наблюдалось развитие гепатоцитолита (повышение АлАт на 37,5%), холестаза (повышение ЩФ на 39%, ОБР на 177,3%), нарушение липидного обмена (повышение ХС в крови на 10,5%, ТРГ в сыворотке крови и печени на 26,3% и 28,6%), снижение гликогенсинтетической (гликогена печени на 5%) и белковосинтетической (ОБ на 28,2%) функций печени. Из полученных результатов следует, что интоксикация этанолом приводит к нарушению метаболических процессов в органе. На гистологической картине отмечается острый воспалительный процесс, увеличение размеров гепатоцитов с просветлением цитоплазмы, кариопикнозом и кариорексисом, нарушение кровообращения в органе (у отдельных животных контрольной группы выявлены обширные диапедезные кровоизлияния).

Применение исследуемых веществ выявило идентичную направленность их воздействия на процессы нормализации изученных биохимических параметров. Так, введение ВИКП крысам с токсическим алкогольным гепатитом в дозе 150 мг/кг, в равной мере с действием ВИКР и Карсила, показало достоверное, в сравнении с контролем, снижение в сыворотке крови активности АлАт (на 10,6%), ЩФ (на 16%), уровня ОБР (на 28,6%), ХС (на 10,5%), ТРГ в сыворотке крови (на 27,7%) и печени (на 27,6%). Исследуемое извлечение значительно активировало гликогенсинтетическую функцию печени. Следует отметить, что ВИКП обладает выраженным гепатопротекторным действием при поражении печени этанолом. Восстановление функционального состояния печени происходит более эффективно по сравнению с введением ВИКР и Хофитола. По механизму фармакологического действия ВИКП сопоставимо с Карсилом, что подтверждается полученными данными биохимических и морфологической исследований. На гистологической картине при введении Хофитола и ВИКР просматриваются клетки в состоянии гидропической дистрофии, выражена дисконкомплексация печеночных балок, наблюдаются диапедезные кровоизлияния и гиперемия сосудов, тогда как при введении ВИКП и Карсила балочная структура печеночных долек в целом сохранена. Отмечается меньшее количество гепатоцитов в состоянии гидропической дистрофии. Гиперемии сосудов и диапедезных периваскулярных кровоизлияний не наблюдается.

Как известно, тетрахлорметановое и этаноловое повреждение гепатоцитов в значительной мере реализуется интенсификацией свободно – радикальных и перекисных процессов [79, 109]. Также известно, что антиоксидантный эффект полифенолов осуществляется не только за счет блокады образования агрессивных свободных кислородных радикалов и перекисей [183, 220], но и в значительной мере, за счет поддержания высокой активности клеточной антиоксидантной системы [146, 155, 240] и, в частности, - ферментной [212].

Установлено, что при токсическом поражении печени крыс тетрахлорметаном и этанолом развивался выраженный дисбаланс в системе про-/антиоксиданты, который характеризовался повышением содержания ТБК-активных продуктов в сыворотке крови (на 175,1% (CCl₄) и 90,8% (этанол)) и печени (на 226,3% (CCl₄) и 60% (этанол)). Одновременно регистрировалось снижение активности важнейших антиоксидантных ферментов в печени: СОД (на 47% и на 39%), каталазы (на 65% и на 60%) и содержания GSH-восстановленного (на 53% и на 25%) соответственно. Обращает на себя внимание, более выраженное свободно-радикальное и перекисное повреждение клеток, с одновременным снижением уровня активности печеночной АОС при воздействии тетрахлорметаном, чем этанолом. Полученные данные подтверждают мнение о том, что одной из важных причин активации свободнорадикального и перекисного повреждения клетки является снижение активности и эффективности ферментного - и неферментного звеньев АОС [61, 62, 70, 123].

Курсовое введение ВИКП способствовало снижению интенсивности свободно-радикального окисления и повышению активности эндогенной АОС как при тетрахлорметановом, так и при алкогольном поражении печени. При этом наблюдалось достоверное, относительно контроля, уменьшение содержания ТБК-продуктов в сыворотке крови (-25,6% и -36,4% соответственно) и печени (-34,7% и -41,7% соответственно). Одновременно повышалась активность СОД (+111% и +68,2% соответственно), каталазы (+257% и +125% соответственно) и содержания GSH-восстановленного (+87,7% и +51,3% соответственно) в печени. Применение Карсила на фоне тетрахлорметанового и алкогольного поражения печени также вызвало достоверное, по отношению к контролю и сопоставимое с ВИКП, снижение содержания ТБК-продуктов в сыворотке крови (-27,2% и -33,4% соответственно) и печени (-30,6% и -33,3% соответственно). В тоже время показатели эффективности антиоксидантной защиты гепатоцитов: СОД (+86% и +66,2% соответственно), каталаза (+200% и +100% соответственно)

и GSH–восстановленный (+77,2% и +40,6% соответственно), хотя и достоверно повысились, но в сравнении с ВИКП, и в одном и в другом случае, были менее выражены. Таким образом, прием ВИКП на уровне Карсила [52, 61, 99, 146, 153], препятствует развитию окислительного стресса при обеих патологиях, снижает интенсивность ПОЛ и вызывает стабилизацию мембран гепатоцитов, вероятно, за счет прямого антиоксидантного действия, что подтверждается снижением ТБК-продуктов в сыворотке крови и печени, и повышением СОД, каталазы и GSH–восстановленного в печени, что играет существенную роль в механизме гепатопротекторного действия. Тесная корреляционная взаимосвязь между эффективностью защитного действия и нормализацией антиоксидантных маркеров печени показывает, что в проявлении гепатопротекторного действия полифенольных соединений кориандра ведущее значение имеет не только ингибирование процессов ПОЛ, но и поддержание активности ферментов АОС.

В работах [23, 46, 53, 127, 167] отмечается, что гепатопротекторные свойства биологически активных веществ, в том числе флавоноидов и флавоноидосодержащих препаратов, сочетаются и коррелируют с их желчегонным эффектом. Его недостаточность при печеночной патологии приводит к накоплению желчных кислот, детергентное действие которых на клеточные мембраны сопровождается снижением синтеза АТФ, накоплением цитозольного кальция, активацией интрацеллюлярных гидролаз и, финально, некрозом гепатоцитов [140, 169].

Установлено, что ВИКП и СИКП, оказывает выраженное желчегонное действие у интактных животных, что подтверждается увеличением (на 85,3% и 76,8%) общего количества желчи, выделившейся за 3 часа, снижением холестерина (на 74% и 70,8%) и увеличением концентрации желчных кислот (на 135,7% и 13%) в желчи, в связи с чем увеличился холято-холестериновый коэффициент (на 77,1% и 32,8%) соответственно. При моделировании гепатита ВИКП, также в большей мере, восстанавливало

желчевыделительную функцию печени. Объем выделившейся желчи достоверно превысил показатель контрольных животных на 171,3%. При этом содержание желчных кислот в желчи превосходило значения интактной группы на 244%. Следует отметить, что показатели группы, получавшей СИКП, по выраженности фармакологического эффекта, уступают таковым ВИКП. Интересным представляется тот факт, что лечебно-профилактическое введение ВИКП привело к достоверному повышению содержания желчных кислот в составе желчи, относительно интактных значений, как на фоне модельной патологии, так и у здоровых животных, что свидетельствует о влиянии ВИКП на липидный обмен не только на уровне стабилизации показателей при токсическом поражении, но и как проявление самостоятельного биологического эффекта, превышающего по своей эффективности СИКП и сопоставимого с Карсилом и Хофитолом.

В связи с тем, что ВИКП при пероральном введении препятствует развитию окислительного стресса при воздействии тетрахлорметана и этанола, повреждающих печень, снижает интенсивность ПОЛ и вызывает стабилизацию мембран гепатоцитов за счет прямого антиоксидантного действия, появляется возможность создания препарата на его основе, сочетающего антиоксидантные и гепатопротекторные свойства.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженной гепатопротекторной и антиоксидантной активности ВИКП при токсическом поражении печени на разных экспериментальных моделях, что позволяет обосновать перспективность дальнейших более углубленных доклинических испытаний с целью разработки нового гепатопротекторного средства.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Установлена эффективная терапевтическая доза ВИКП и СИКП (150 мг/кг) при пероральном введении на классической модели поражения печени тетрахлорметаном по изменению биохимических показателей, расчетным значениям коэффициента гепатопротекции и проценту выживших животных.
2. Гепатопротекторные свойства ВИКП в дозе 150 мг/кг коррелируют с желчегонным эффектом, достоверно превышающим влияние извлечений из кукурузных рылец в опытах с интактными животными и сопоставимым с действием Карсила и Хофитола в условиях экспериментальной тетрахлорметановой модели.
3. ВИКП при пероральном введении в дозе 150 мг/кг на модели поражения печени тетрахлорметаном с учетом изменения биохимических маркеров, обладает гепатозащитным действием, превышающим влияние извлечений из кукурузных рылец и Хофитола, и сопоставимым с препаратом сравнения Карсилом. На гистологической картине у животных, получавших ВИКП отмечается достоверно меньший рост некротизированных гепатоцитов ($32\pm 4,0\%$), в сравнении с извлечениями из кукурузных рылец ($51\pm 6,0\%$ и $88\pm 5,0\%$), Карсилом ($48\pm 5,0\%$) и Хофитолом ($59\pm 6,0\%$).
4. ВИКП при пероральном введении в дозе 150 мг/кг на модели поражения печени этанолом способствует нормализации сывороточных и печеночных биохимических маркеров, обладает гепатозащитным действием, сопоставимым или, по некоторым показателям, превышающим влияние Карсила, механизм действия которого обусловлен антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами, что подтверждается степенью и характером морфологических изменений в срезах печени.
5. Введение ВИКП препятствует развитию окислительного стресса при воздействии тетрахлорметана и этанола, повреждающих печень, снижает интенсивность ПОЛ и вызывает стабилизацию мембран гепатоцитов за счет

прямого антиоксидантного действия, что является важным в механизме гепатозащитного действия.

6. Эффективность гепатопротекторного действия ВИКП, сопоставима или превышает эффективность эталонных гепатопротекторов Карсила и Хофитола, что позволяет рекомендовать ВИКП для последующих более углубленных доклинических исследований, необходимых для создания нового лекарственного средства, сочетающего гепатопротекторные и желчегонные свойства.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные свидетельствуют о выраженной гепатопротекторной, желчегонной и антиоксидантной активности ВИКП при токсическом поражении печени на разных экспериментальных моделях, что позволяет обосновать перспективность дальнейших углубленных доклинических исследований с целью разработки лекарственного препарата на его основе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активированные кислородные метаболиты в монооксигеназных реакциях / В.В. Ляхович [и др.] // Бюл. СО РАМН. – 2005. – № 4 (118) – С. 7–12.
2. Александрова, А.Е. Антигипоксическая и антиоксидантная активности некоторых синтетических и природных препаратов. Универсальность их протекторного действия / А.Е. Александрова // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 8 Междунар. съезда «Фитофарм 2004». Микели 21-23 июня 2004 г. – СПб., 2004. – С. 34–44.
3. Алкогольная болезнь печени / И.В. Маев [и др.] // Клиническая гепатология. – 2012. – № 2. – С. 33-40.
4. Анаболическая, антиоксидантная, гепатозащитная и противовоспалительная активность некоторых природных кумаринов и хромонов / Н.Ф. Комиссаренко [и др.] // Раст. ресурсы. – 1993. – Т. 29, № 3. – С. 1–7.
5. Антибактериальная активность флавоноидов некоторых видов цветковых растений / В.А. Бандюкова [и др.] // Раст. ресурсы. – 1987. – Т. 23, № 4. – С. 607–612.
6. Антиишемическая активность экстрактов из винограда культурного при экспериментальном инфаркте миокарда / А.Е. Александрова [и др.] // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 9 Междунар. съезда «Фитофарм 2005» и конф. молодых ученых Европейск. Фитохимич. Об-ва «Растения и Здоровье» 22-25 июня 2005 г. – СПб., 2005. – С. 55–59.

7. Антиоксидантная активность лекарственных растений юго-восточного региона Казахстана / О.А. Сапко [и др.] // Хим. - фармац. журн. – 2016. – Т. 50, № 9. – С. 33-37.
8. Антиоксидантные свойства экстрактов из растительного сырья / Р.Е. Хома [и др.] // Вісник Одеського національного університету. Хімія. – 2014. – Т. 19, № 2 (50). – С. 44-49.
9. Антиоксидантный и прооксидантный эффекты арбутина и гидрохинона в эксперименте *in vitro* / Н.Л. Волобой [и др.] // Бюл. сиб. мед. – 2011. – Т. 10, № 5. – С. 41-44.
10. Антиоксиданты в интенсивной терапии / Е.Р. Немцова [и др.] // Рос. мед. журн. – 2006. – № 4. – С. 18-22.
11. Антитромбогенная и антитромбоцитарная активность экстракта из древесины маакии амурской / А.М. Плотникова [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2009. – Т.147, № 2. – С. 164–167.
12. Асатиани, В.С. Новые методы биохимической фотометрии / В.С. Асатиани. – М.: Наука, 1965. – С. 495–510.
13. Бандюкова, В.А. Методы исследования природных флавоноидов / В.А. Бандюкова, А.Л. Шинкаренко, А.Л. Казаков. – Пятигорск: Изд-во Бальнеол. ин-т, 1977. – 72 с.
14. Бандюкова, В.А. О биологической активности гесперидина и гесперитина / В.А. Бандюкова, Ю.К. Василенко, Г.М. Фишман // Изучение препаратов растительного и синтетического происхождения: тез. докл. межобл. конф. (ч. II). – Томск, 1978. – С. 169–170.
15. Бандюкова, В.А. О влиянии генистеина на липидный обмен в опытах на животных / В.А. Бандюкова, Л.И. Лисевецкая, А.Л. Шинкаренко // Биол. науки. – 1972. – № 11. – С. 50–53.
16. Бандюкова, В.А. Полифенольные и тритерпеноидные соединения растений рода *Betula* / В.А. Бандюкова, В.Г. Беликов, Ю.В. Березовская // НИИЭМП. Хим.-фармац. пр-во. Обзорная информация. – М.; 1997. – Вып.5. – 23 с.

17. Березовская, И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И.В. Березовская // Хим. – фармац. журн. – 2003. – Т. 37, № 3. – С. 32–34
18. Беленький, М.П. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.П. Беленький. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л.: Медицина, 1963. – 149 с.
19. Биологическое изучение суммарного флавоноидного препарата из клевера красного / Л.И. Лисевицкая [и др.] // Изв. СКНЦВШ, естеств. науки. – 1973. – № 3. – С. 73–74.
20. Бобоходжаев, О. Факторы, способствующие лекарственному поражению печени при приеме противотуберкулезных препаратов / О. Бобоходжаев, М. Нуралиев, Х. Юлдошев // Вестн. ТНУ. Сер. естеств. наук. – 2014. – № 1-1 (126). – С. 227-230.
21. Больных, Е.А. Оценка выраженности суммарной антиоксидантной активности как один из критериев стандартизации лекарственного растительного сырья / Е.А. Больных // Science Time. – 2016. – № 4 (28). – С. 106-112.
22. Бондарева, К.С. Клиническая характеристика хронического гепатита и цирроза печени различной этиологии / К.С. Бондарева, П.В. Лебедев // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 5 (140). – С. 46-51.
23. Брытов, А.В. Фармако-токсикологические свойства Хофитола: дис. ...канд. ветеринар. наук: 06.02.03 / Брытов Андрей Владимирович. – СПб., 2007. – 155 с.
24. Буеверов, А.О. Гепатотоксичность антибактериальных препаратов в терапевтической практике / А.О. Буеверов, П.О. Богомолов, Е.Л. Буеверова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т. 17, № 3. – С. 207-216.
25. Василенко, Ю.К. Гиполипидемическое действие водорастворимого производного гесперидонхалкона / Ю.К. Василенко, В.А. Бандюкова,

- Г.М. Фишман // Успехи в изучении природы и синтетических лекарственных средств: Мат. докл. межобл. научн. конф. – Томск, 1982. – С. 144–145.
26. Венгеровский, А.И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени / А.И. Венгеровский // Бюл. сибир. мед. – 2002. – № 1. – С. 25–29.
27. Взаимодействие силибина и динидрокверцетина с ленгмюровскими монослоями лецитина и бислоями липосом / В.А. Куркин [и др.] // Фармация. – 2008. – № 2. – С. 41–46.
28. Владимиров, Ю.А. Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки / Ю.А. Владимиров // Соровск. образоват. журн. – 2000. – Т.6, №9. – С. 2–9.
29. Владимиров, Ю.А. Физико-химические основы фотобиологических процессов: учебник для вузов / Ю.А. Владимиров, А.Я. Потапенко. – 2-е изд., перераб. доп. – М.: Дрофа, 2006. – 288 с.
30. Влияние витаминов Р и С на развитие экспериментального атеросклероза / В.С. Смоленский [и др.] // Витаминные ресурсы и их использование. – М.: АНСССР, 1954. – С. 158–170.
31. Влияние лютеолина и лютеолин–7–глюкозида на липидный обмен при экспериментальном атеросклерозе / Л.И. Лисевицкая [и др.] // Актуальные вопросы фармации. – Пятигорск, 1968. – Вып. 1. – С. 178–180.
32. Влияние некоторых флавонов на энергетический метаболизм митохондрий (сообщение 2) / Р.П. Рустамова [и др.] // Вопр. биол. мед. и фармац. химии. – 2006. – № 2. – С. 16–20.
33. Влияние флавоноидов клевера красного и некоторых синтетических аналогов на показатели липидного обмена у животных с экспериментальным атеросклерозом / Ю.К. Василенко [и др.] // Изв. СКНЦВШ, естеств. науки. – 1978. – № 14. – С. 99–101.

34. Влияние экстракта зеленого чая и его компонентов на антиоксидантный статус и активность ферментов метаболизма ксенобиотиков у крыс / Л.В. Кравченко Л.В [и др.] // Вопросы питания. – 2011. – Т. 80, № 2. – С. 9-15.
35. Вольф, С.Б. Влияние противотуберкулезных препаратов на некоторые показатели метаболизма в клетках печени экспериментальных животных / С.Б. Вольф // Туберкулез, легочные болезни, ВИЧ-инфекция. – 2016. – №3 (26). – С. 35-40.
36. Гаврилов, В.В. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.В. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Л.М. Мансуль // Вопросы мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–121.
37. Гацура, В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – С. 24–48.
38. Генинг, Т.П. Оксидативный стресс в печени и его коррекция аскорбиновой кислотой / Т.П. Генинг, Д.А. Ксейко // Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке. 2012. – Т. 14, № 6. – С. 93-94.
39. Гепатиты в клинической практике и их фармакологическая коррекция / Е.Н. Музалевская [и др.] // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 537-547.
40. Гепатопротекторная активность экстракта из ягод жимолости при интоксикации четыреххлористым углеродом у крыс / С.Е. Фоменко [и др.] // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2014. – Т. 77, № 10. – С. 26-30.
41. Гепатопротекторное действие многокомпонентного растительного средства «Гепатон» / Т.А. Ажунова [и др.] // Раст. ресурсы. – 2008. – № 3. – С. 103–109.
42. Гепатопротекторные свойства изофлавоноидов из корней *Maackia Amurensis* при экспериментальном поражении печени

- четырёххлористым углеродом // Н.Ф. Кушнерова [и др] // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2014. – Т. 77, № 2. – С. 26-30.
43. Гепатотоксичность противоопухолевых препаратов / Г.В. Карпова [и др.] // Вестн. РАМН. – 2009. – № 11. – С. 17-21.
44. Гепатотоксичность противоопухолевых препаратов: современное состояние проблемы / Н.Т. Ватутин [и др.] // Рос. онкол. ж. – 2016. – Т. 21, № 6. – С. 325-333.
45. Гепатотропная терапия в лечении поражений печени / Д.С. Суханов [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2012. – Т. 57, № 5-6. – С. 41-52.
46. Геруш, О.В. Гепатопротекторная активность нового лекарственного средства растительного происхождения на модели хронического гепатита / О.В. Геруш, Л.В. Яковлева, Е.Б. Леницкая // Рецепт. – 2014. – № 5 (97). – С. 60-71.
47. Головкин, Д.Н. Возможности фитотерапии в лечении кашля у детей / Д.Н. Головкин, О.В. Шарова, А.В. Куркина // Фундам. исслед. – 2014. – № 4-3. – С. 484-492.
48. ГОСТ 33215 – 2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. – Введ. 01.07.16. – М.: Стандартинформ, 2014 – 48 с.
49. ГОСТ 33216 – 2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. – Введ. 01.07.16. – М.: Стандартинформ, 2014 – 38 с.
50. Государственная фармакопея СССР: в 2-х вып. – 11 изд. доп. – М.: Медицина, 1987. – 1990. – Вып.1,2.
51. Государственная фармакопея Российской Федерации. [Электронный ресурс]. – 13-е изд. – Режим доступа: <http://femb.ru/feml>.
52. Грищенко, Е.Б. Роль гепатопротекторов в терапии заболеваний печени / Е.Б. Грищенко, М.И. Щекина // Фарматека. – 2014. – № 14. – С. 76-79.

53. Громова, О.А. Хофитол – стандартизированный экстракт Артишока. Биохимический состав и фармакологические эффекты / О.А. Громова, И.Ю. Торшин // Трудный пациент. – 2009. – Т. 7, № 4-5. – С. 24-31.
54. Дашинамжилов, Ж.Б. Терапевтическая эффективность фитосбора «Диг-да-ши-тан» в комплексной терапии алкогольного повреждения печени у больных хроническим алкоголизмом / Ж.Б. Дашинамжилов // Традиционная медицина. – 2015. – № 2 (41). – С. 46-49.
55. Деннис, В.П. Биохимия чужеродных соединений / В.П. Деннис. – М.: Медицина, 1973. – 288 с.
56. Доркина, Е.Г. Гепатопротекторные свойства флавоноидов (фармакодинамика и перспективы клинического изучения): автореф. дис. ...д-ра. биол. наук: 14.03.06 / Доркина Елена Григорьевна. – Волгоград, 2010. – 48 с.
57. Дроговоз, С.М. Современные подходы к терапии заболеваний гепатобилиарной системы / С.М. Дроговоз, Е.Г. Щекина, А.Н. Ушакова // Провизор. – 2008. – № 8. – С. 28–31.
58. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях 1986 года [Электронный ресурс] — Доступ из справ.-правовой системы Консультант Плюс.
59. Зайцев, В.Г. Защита клеток от экзогенных и эндогенных активных форм кислорода: методологические подходы к изучению / В.Г. Зайцев, В.И. Закревский // Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: сб. науч. тр. – СПб., 1998. – Т. 2. – С. 401–405.
60. Зезеров, Е.Г. Биохимические механизмы острого и хронического действия этанола на организм человека / Е.Г. Зезеров // Вопр. биологич. мед. и фармац. химии. – 1998. – № 2. – С. 47–55.
61. Изучение гепатозащитного действия различных субстанций из растений рода бархатцы / Е.Г. Доркина [и др.] // Человек и лекарство: тез. докл. 9 Рос. нац. конф. 8-12 апреля 2002 г. – М., 2002. – С. 609.

62. Изучение процесса перекисного окисления липидов в модельной системе микроорганизмов / И.С. Милентьева [и др.] // Science Time. – 2015. – № 5 (17). – С. 272-276.
63. Изучение холеретических свойств флавоноидных соединений из чистецов прямого и брошенного / И.Х. Пасенчик [и др.] // Фармац. журн. – 1971. – № 3. – С. 64–69.
64. Ильченко, Л.Ю. Лекарственная болезнь печени. Роль гепатопротекторов в ее терапии / Л.Ю. Ильченко, Т.И. Корович // Медицинский совет. – 2013. – № 10. – С. 32-37.
65. Исследование гиполипидемического и противоатеросклеротического действия коричных кислот, их структурных аналогов и производных / Е.Г. Доркина [и др.] // Регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров. Материалы. – Пятигорск, ПятГФА, 2001. – С. 179 – 181.
66. Исследование защитного действия суммы флавоноидов из *Epilobium algidum* при остром токсическом поражении печени тетрахлометаном / Е.Г. Доркина [и др.] // Регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров. Материалы. – Пятигорск, ПятГФА, 2001. – С. 188–189.
67. Казюлин, А.Н. Лекарственная гепатотоксичность в клинической практике / А.Н. Казюлин, Е.В. Переяслова // Медицинский совет. – 2012. – № 9. – С. 37-44.
68. Казюлин, А.Н. Фитопрепараты в терапии заболеваний гепатобилиарной системы / А.Н. Казюлин // Consilium Medicum. – 2015. – Т. 17, № 8. – С. 28-34.
69. Калинин, А.В. Злоупотребление алкоголем и алкогольная болезнь печени / А.В. Калинин // Фарматека. – 2012. – № 13 (246). – С. 19-25.
70. Кантюков, С.А. Состояние процессов свободно-радикального окисления при остром поражении печени / С.А. Кантюков, Л.В.

- Кривохижина, Р.Р. Фархутдинов // Человек. Спорт. Медицина. – 2011. – № 39 (256). – С. 107-112.
71. Каримов, Х.Я. Динамическая вязкость крови и микроциркуляция печени при аллоксановом диабете в сочетании с токсическим гепатитом / Х.Я. Каримов, Б.У. Ирискулов, Х.А. Аскараров // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1996. – Т. 122, № 1. – С. 20–22.
72. Карпова, Е.А. Коэффициент окислительного стресса при патологии печени и применении нового наноконпозитного препарата селена / Е.А. Карпова, О.П. Ильина // Вестн. ИрГСХА. – 2014. – № 61. – С. 88-94.
73. Колб, В.Г. Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1982. – 336 с.
74. Комиссаренко, Н.Ф. Антигрибковая активность некоторых природных флавоноидов, фуранохромонов, кумаринов и антрахинов / Н.Ф. Комиссаренко, С.Ф. Дмитрук, А.Н. Комиссаренко // Раст. ресурсы. – 1991. – Т. 27. № 1. – С. 3–10.
75. Кондратова, Л.А. Проблема оценки влияния окислительного стресса на биомолекулы клетки / Л.А. Кондратова, М.Л. Золотавина // Евразийский союз ученых. – 2015. – № 12-1 (21). – С. 26-29.
76. Коновалова, В.В. Сравнительная оценка гепатопротекторной активности препаратов Гептрал, Липотон, Гамавит / В.В. Коновалова, Н.Л. Андреева // Ветеринарный врач. – 2014. – № 2. – С. 11-15.
77. Куркин, В.А. Фармакогнозия: учеб. для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В.А. Куркин. – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: Офорт; СамГМУ, 2007. – 1239 с.
78. Куркин, В.А. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений / В.А. Куркин В.А, А.В. Куркина, Е.В. Авдеева // Фундам. исслед. – 2013. – № 11 (9). – С. 1897-1901.
79. Кушнерова, Н.Ф. Влияние олигомерных проантоцианидинов на обмен этанола *in vivo* / Н.Ф. Кушнерова, В.Г. Спрыгин // Актуальные

- проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 6 Междунар. съезда 27 июня – 2 июля 2002 г. – СПб., 2002. – С. 619–622.
80. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте – 3-е изд. перераб. и доп. / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. – Киев.: Вища школа, 1983. – 383 с.
81. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / под. ред. В.В. Меньшикова. - М.: - Медицина, 1987. – 366 с.
82. Ланг, Т.А. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов: пер. с англ. Т.А. Ланг, М. Сесик. – М.: Практическая медицина, 2011. – 480 с.
83. Лекарственные поражения печени и их лечение в клинике туберкулеза / А.В. Мордык [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 9. – С. 47-53.
84. Лелевич, С.В. Метаболические нарушения при алкогольной интоксикации / С.В. Лелевич // Вопросы наркологии. – 2016. – № 3. – С. 71-81.
85. Лисевицкая, Л.И. Влияние кверцетина и флавоноидных соединений препаратов из желтого и кавказского рододендронов на изменение некоторых показателей холестеринového обмена у белых крыс с экспериментальной гиперхолестеринемией / Л.И. Лисевицкая, А.Л. Шинкаренко, Э.Т. Оганесян // Биол. науки. – 1968. – № 12. – С. 50–52.
86. Литвинчук, М.Д. Точный и быстрый метод оценки активности желчегонных средств на крысах / М.Д. Литвинчук, З.И. Новосилец // Журн. эксперим. биологии и медицины. – 1980. – № 6. – С. 750–752.
87. Логинов, А.Ф. Лекарственные поражения печени: диагностика, лечение / А.Ф. Логинов, Л.И. Буторова, В.А. Логинов // РМЖ. – 2016. – Т. 24, № 11. – С. 721-727.

88. Майер, К.П. Гепатит и последствия гепатита / К.П. Майер. – М.: ГЭОТАР – Мед., 1999. – 424 с.
89. Макаров, В.Г. Антиоксиданты и реакционно-активные формы кислорода. Их роль и механизм действия / В.Г. Макаров, М.Н. Макарова // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 8 Междунар. съезда «Фитофарм 2004». Миккели 21-23 июня 2004 г. – СПб., 2004. – С. 121–132.
90. Макарова, Н.В. Антиоксидантная активность пищевых продуктов на основе цитрусовых фруктов / Н.В. Макарова, Э.В. Мусифуллина // Изв. ВУЗ. Пищевая технология. – 2013. – № 1 (331). – С. 30-32.
91. Макарова Н.В. Статистика в Excel: учеб. пособие / Н.В. Макарова, В.Я. Трофимец. – М.: Финансы и статистика, 2002. – 368 с.
92. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: в 2-х ч. / М.Д. Машковский. – М.: Медицина, 1996. – Ч.1. – 732 с.
93. Медикаментозные поражения печени / А.Г. Мусин [и др.] // Мед. вестн. Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 6. – С. 106-111.
94. Мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие комплексного растительного средства «Литофит» в тест-системах *in vitro* / Ю.А. Батуева [и др.] // Сиб. мед. журн. (Иркутск). – 2015. – Т. 136, - № 5. – С. 122-124.
95. Методы статистической обработки медицинских данных: методические рекомендации для ординаторов, аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников / А.Г. Кочетлов [и др.]. – М.: РКНПК, – 2012. – 42 с.
96. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
97. Метод определения субклеточной генерации супероксиданиона у здоровых животных при токсическом повреждении печени / Г.Н.

- Близнецова [и др.] // Вестн. ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация. – 2004. – № 2. – С. 108–111.
98. Методы биохимических исследований / под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.
99. Минушкин, О.Н. Некоторые аспекты применения растительных средств при патологии печени / О.Н. Минушкин, Л.В. Масловский // Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 4, № 34 (297). – С. 19-23.
100. Мирошниченко В.П. Исследование холято-холестериновой функции при вирусном гепатите и холелитиазе новым методом фотометрического анализа: дис. ...канд. мед. наук: Мирошниченко Валентин Павлович. – Запорожье, 1978. – 128 с.
101. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия: учеб. / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – 4-е изд., перераб. и доп.–М.: Медицина, 2002. – 656 с.
102. Нерсисян, З.М. Химическое исследование травы кориандра посевного (*Coriandrum sativum*) с целью получения фармакологически активных веществ: автореф. дис. ...канд. фармац. наук: 15.00.02. / Нерсисян Захар Мкртычевич. – Пятигорск, 2007. – 24 с.
103. Никитин, Ю.П. Печень и липидный обмен / Ю.П. Никитин, С.А. Курилович, Г.С. Давидик. – Новосибирск: Наука, 1985. – 192 с.
104. Николайчук, Л.В. Сахароснижающие растения / Л.В. Николайчук. – Минск: Ураджай, 1989. – 191 с.
105. Новиков, В.Е. Возможности фармакологической протекции функций печени / В.Е. Новиков, Е.И. Климкина // Вестн. Смоленской медицинской академии. – 2005. – № 3. – С. 100–116.
106. Новиков, К.Н. Роль активных форм кислорода в биологических системах при воздействии факторов окружающей среды: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.16; 03.00.02. / Новиков Кирилл Николаевич. – М., 2004. – 45 с.

107. Новый метод оценки функционального состояния печени в клинике внутренних болезней и при диспансеризации некоторых контингентов населения. – метод. реком. – М.: МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, 1990. – 28 с.
108. Оганесян Э.Т. Изучение химического состава травы кориандра посевного / Э.Т. Оганесян, З.М. Нерсесян, А.Ю. Пархоменко // Хим-фармац. журн. – 2007. – Т. 41, № 3. – С. 30–34.
109. Окислительный стресс в патогенезе алкогольной болезни печени / Л.Ф. Панченко [и др.] // Вопр. наркологии. – 2013. – №2. – С. 82-91.
110. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова [и др.]. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
111. Оковитый, С.В. Клиническая фармакология антигипоксантов (ч.1) / С.В. Оковитый // Фарминдекс Практик. – 2004. – № 6. – С. 30–39.
112. Оковитый, С.В. Митохондриальная дисфункция различных поражений печени / С.В. Оковитый, С.В. Радько // Доктор. ру. – 2015. – № 12 (113). – С. 30-33.
113. Определение антиоксидантной активности экстрактов растительного сырья методом катодной вольтамперометрии / Е.И. Короткова [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2003. – Т. 37, № 9. – С. 55–56.
114. Оценка антиоксидантной и антитоксической эффективности природного флавоноида дигидрокверцетина / Л.В. Кравченко [и др.] // Токсикол. вестн. – 2005. – № 1. – С. 14–20.
115. Палковский, О.Л. Роль активных форм кислорода в повреждении гепатоцитов при инфекционно-воспалительных процессах / О.Л. Палковский // Проблемы здоровья и экологии. – 2008. – № 2 (16). – С. 62-65.
116. Пальцев, М. А. Патологическая анатомия: учеб. для студ. мед. вузов / М.А. Пальцев. – М.: Медицина, 2001. – 321 с.

117. Пасечник, И.Х. Изучение холеретических свойств флавоноидных соединений, выделенных из листьев мяты перечной / И.Х Пасечник// Фармакология и токсикология. – 1966. – Т. 29, № 6 – С. 373–375.
118. Пат. 2314822 Рос. Федерация МКИ А61К36/23. Способ получения сухого экстракта из травы кориандра посевного, обладающего антистрессорным, седативным, ноотропным и гипотензивным действием / Э.Т. Оганесян [и др.] (РФ). – №2314822; заявл. 01.03.2006; опубл. 20.01.2008. Бюл. №4. – 3 с.
119. Пат. 2157230 Рос. Федерация, МКИ А61К35/78. Желчегонный сбор / А.И. Суханов (РФ). – №2157230; заявл. 28.06.1999; опубл. 10.10.2000. Бюл. №1. – 4 с.
120. Пат. 2138280 Рос. Федерация, МКИ А61К35/78. Состав обладающий седативным действием / И.В. Трутаев, Г.Ф. Федорин (РФ). – №2138280; заявл.16.04.1998; опубл. 27.09.1999. Бюл. №32. – 3 с.
121. Пат. 2238554 Российская Федерация, МКИ G01 N33/15 N27/26. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных веществ / В.П. Пахомов [и др.] (РФ). – № 2003123072/15; заявл. 25.07. 03; опубл. 20.10.04. Бюл. № 29. – 3 с.
122. Пахомова, И.Г. НПВП-индуцированные поражения желудочно-кишечного тракта по данным эксперимента / И.Г. Пахомова, М.Н. Макарова, В.А. Егошина // Гастроэнтерол. СПб. – 2014. – № 1-2. – С. 27-30.
123. Показатели системы глутатиона и ферменты холестаза при острой алкогольной интоксикации / Н.А. Терехина [и др.] // Перм. мед. журн. – 2016. – Т. 33, № 4. – С. 73-77.
124. Полонский, В.М. Применение препарата ЛИВ.52 при токсических, алкогольных и лекарственных поражениях печени / В.М. Полонский // Фарматека. – 2005. – № 7. – С. 23–29.
125. Поражения печени у токсикоманов / Л.Ю. Ильченко [и др.] // Гепатология. – 2003. – № 2. – С. 22–26.

126. Преодоление гепатотоксичности метотрексата: роль тритерпеноидов / Б.А. Фролов [и др.] // Клин. онкогематол. Фундам. исслед. и клин. практика. – 2013. – Т. 6, № 1. – С. 1-10.
127. Применение препарата Гепабене в терапии хронического бескаменного холецистита / И.В. Маев [и др.] // Consilium Medicum. – 2012. – Т. 14, № 8. – С. 36-40.
128. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под общ. ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч.1. – 944 с.
129. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
130. Саенко, Ю.В. Роль оксидативного стресса в патологии сердечно-сосудистой системы у больных с заболеваниями почек (Сообщение I. Патофизиология оксидативного стресса) / Ю.В. Саенко, А.М. Шутов // Нефрология и диализ. – 2004 – Т. 6, № 1. – С. 34–37.
131. Сазонтова, Т.Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т.Г. Сазонтова, Ю.В. Архипенко // Патол. физиология и эксперим. терапия – 2007. – № 3. – С. 2–18.
132. Саратиков, А.С. Эффективность ферментиндуцирующих средств при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном / А.С. Саратиков, Т.П. Новожеева, А.И. Венгеровский // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2003. – Т. 66, № 4. – С. 47–49.
133. Семенов А.А. Природные противоопухолевые соединения (структура- механизм действия) / А.А. Семенов. – Новосибирск: Наука, 1979. – 222 с.
134. Сентебова, Н.А. Предложения по унификации методов определения триглицеридов в сыворотке крови / Н.А. Сентебова, Н.В.

- Салицкая // Унификация лабораторных методов исследований. – М., 1978. – Вып.15. – С. 67–75.
135. Сергеева, Е.О. Изучение воздействия флавоноидов на энергообмен, митохондриальные процессы и микросомальную систему в печени при остром CCl_4 – гепатозе у крыс / Е.О. Сергеева Е.О, Е.Г. Доркина, Л.А. Саджая // Современная наука и инновации. – 2015. – № 2 (10). – С. 140-146.
136. Сернов, Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М., 2000. – 352 с.
137. Сидоров, К.К. Методы определения острой токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия) / К.К. Сидоров. – М.: Наука, 1970. – 209 с.
138. Скакун, Н.П. Тетрациклиновые поражения печени и их лечение / Н.П. Скакун, А.Н. Олейник // Врачеб. дело. – 1984. – Т. 11, № 11. – С. 91–95.
139. Сомова, Т.Ю. Морфофункциональные изменения в гепатоцитах крыс при активации перекисного окисления липидов / Т.Ю. Сомова // Морфологические ведомости. – 2010. – № 1. – С. 89-92.
140. Состояние желчевыводящей системы при хронических гепатитах различной этиологии / В.Л. Останко [и др.] // Урал. мед. журн. – 2010. – № 10 (75). – С. 101-104.
141. Состояние системы глутатиона и активность некоторых NADPH-генерирующих ферментов в печени крыс при действии мелатонина в норме и при токсическом гепатите / А.Н. Пашков [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, № 5. – С. 520–524.
142. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: справочник, OVPPEE – Астра Фарм Сервис. – М., 2000. – 532 с.
143. Спрыгин, В.Г. Влияние комплексного полифенольного препарата «Калифен» на процессы восстановления биохимических показателей печени после поражения этиловым спиртом / В.Г. Спрыгин, Н.Ф.

- Кушнерова // Вопр. биологич. мед. и фармац. химии. – 2002. – № 4. – С. 22–26.
144. Спрыгин, В.Г. Природные олигомерные протоантоцианидины – перспективные регуляторы метаболических нарушений / В.Г. Спрыгин, Н.Ф. Кушнерова // Биология моря. – 2006. – Т. 32, № 2. – С. 115–124.
145. Сравнительное изучение гепатозащитного действия индивидуальных и суммарных флавоноидов из кожуры цитрусовых / Е.Г. Доркина [и др.] // Регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров: материалы... Пятигорск, 2001. – С. 189–191.
146. Сравнительное исследование антиоксидантной активности некоторых флавоноидов и гепатопротекторных лекарственных препаратов на основе плодов расторопши пятнистой / В.А. Куркин [и др.] // Современ. пробл. науки и образ. – 2016. – № 6. – 203 с.
147. Сравнительная оценка гепатозащитной активности флавоноидов при курсовой алкоголизации у крыс / Е.О. Сергеева [и др.] // Фармация и фармакология. – 2014. – № 5 (6). – С. 29-34.
148. Статистический анализ медико–биологических данных с использованием пакетов статистических программ Statistica, SPSS, NCSS, SYSTAT: методическое пособие / Н.В. Макарова – СПб.: Политехника – сервис, 2012. – 178 с.
149. Топчий, Н.В. Гепатотоксичность – наиболее вероятные причины и возможности оптимальной коррекции Гептралом / Н.В.Топчий, А.С. Топорков // РМЖ. – 2013. – Т. 21, – № 5. – С. 249-257.
150. Топчий, Н.В. Применение адеметионина в терапии хронических заболеваний печени / Н.В.Топчий, А.С.Топорков, Н.Н. Кузенкова // Медицинский совет. – 2016. – № 9. – С. 124-129.
151. Трухан, Д.И. Лекарственные поражения печени: актуальные вопросы диагностики и лечения / Д.И. Трухан, А.Л. Мазуров // Медицинский совет. – 2016. – № 5. – С. 70-73.

152. Турсыматова, О.И. Биологическая активность флавоноидов / О.И. Турсыматова, М.М. Дильмаханова // Наука и Мир. – 2015. – Т. 1, № 5. – С. 28-29.
153. Фармакотерапевтические эффекты и клинические возможности эталонного препарата Силимарина / Н.Б. Губергриц [и др.] // Фарматека. – 2012. – № 2. – С. 24-31.
154. Филиппенко, Т.А. Антиоксидантное действие экстрактов лекарственных растений и фракций их фенольных соединений / Т.А. Филиппенко, Н.Ю. Грибова // Химия растительного сырья. – 2012. – № 1. – С. 77-81.
155. Флавоноиды как элемент антиоксидантной защиты *Polygonum Aviculare* L. в условиях урбанизированных территорий / Д.С. Елагина [и др.] // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. – 2016. – № 6. – С. 54-61.
156. Флавоноидный состав и антибактериальная активность некоторых растений Субарктики / В.А. Бандюкова [и др.] // 3 Укр. конф. по медиц. ботанике: тез. докл. ч. 1. АН Украины. Центр. бот. сад, Киев. – 1992. – 15 с.
157. Флавоноиды тысячелистника мелкоцветного и тысячелистника вязолистного и их фармакологические свойства / М.А. Баймухамбетов [и др.] // Современ. изыскания в области фармации. Ярослав. гос. мед. акад. – Ярославль, 1996. – С. 117–118.
158. Характеристика гепатопротекторных лекарственных средств, представленных на фармацевтическом рынке России / В.А. Егоров [и др.] // Фармация. – 1999. – №6. – С. 23–25.
159. Харченко, Ю.А. Гепатопротекторные свойства новых препаратов / Ю.А. Харченко, С.В. Ерёменко, О.О. Авдонина // Современ. пробл. науки и образ. – 2012. – № 1. – С. 215.
160. Хроническая интоксикация этанолом: метаболические изменения, коррекция нарушений / А.И. Конопля [и др.] // Токсикологический вестник. – 2015. – № 5. – С. 25-30.

161. Чиков, П.С. Витаминные и лекарственные растения / П.С. Чиков, Ю.П. Лаптев. – М.: Колос, 1976. – 368 с.
162. Чумаков, В.Н. Количественный метод определения активности цинк-, медь-зависимой супероксиддисмутазы в биологическом материале / В.Н.Чумаков, Л.Ф. Осинская // Вопр. мед. химии. – 1977. – № 5. – С. 712–716.
163. Шанин, Ю.Н. Антиоксидантная терапия в клинической практике / Ю.Н. Шанин, В.А. Шанин, Е.В. Зиновьев. – СПб.: ЭЛБИ, 2003. – 128 с.
164. Ширяева, А.П. Функциональное состояние дыхательной цепи митохондрий гепатоцитов крыс при экспериментальном токсическом гепатите: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.25 / А.П. Ширяева. – СПб, 2008. – 25 с.
165. Экспериментальное обоснование применения Ропрена для профилактики поражений печени, вызванных изониазидом / Г.Н. Можокина [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. –Т. 91, № 7. – С. 47-53.
166. Экспериментально-клиническое изучение растительного противовирусного препарата хелетена / Л.Д. Шипулина [и др.] // «Человек и лекарство». Тез. докл. 1 Рос. нац. конгр, 12-16 марта 1992. – М. – 1992. – С. 299.
167. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой как потенциальное средство терапии токсических гепатитов / Л.Г. Дворникова [и др.] // Изв. СНЦРАН. – 2012. – Т. 14, № 5-3. – С. 714-717.
168. Эффективность нового гепатопротектора Диронакс при экспериментальном поражении печени этанолом / И.Р. Кильметова [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 3. – С. 17-18.
169. Фадеенко, Г.Д. «Гептрал» в лечении внутрипеченочного холестаза при хронических заболеваниях печени / Г.Д. Фадеенко, В.М. Чернова // Современ. гастроэнтерол. – 2011. – № 4 (60). – С. 94-100.

170. Яшин, А.Я. Прибор для определения антиоксидантной активности растительных лекарственных экстрактов и напитков / А.Я. Яшин, Я.И. Яшин // Журн. междунар. информационная система по резонансным технологиям. – 2004. – № 34. – С. 10–14.
171. Alcohol induces mitochondrial redox imbalance in alveolar macrophages / Y. Liang [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – № 65. – P. 1427-1434.
172. Amelioration effects of phytoestrogens on CCl₄ – induced oxidative stress in the livers of male Wistars rats / R. Aneja [et al.] // Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol. – 2005. – Vol. 33, № 2. – P. 201–213.
173. Antibacterial activity and proposed action mechanism of a new class of synthetic tricyclic flavonoids / C. Babii [et al.] // J. Appl. Microbiol. – 2016. – Vol. 120, № 3. – P. 630-637.
174. Antibacterial activity of polyphenolic fraction of Kombucha Against Enteric Bacterial Pathogens / D. Bhattacharya [et al.] // Curr. Microbiol. – 2016. – Vol. 73, № 6. – P. 885-896.
175. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models / H. Parhiz [et al.] // Phytother Res. – 2015. – Vol. 29, № 3. – P. 323-331.
176. Antioxidant and hepatoprotective effects of procyanidins from Wild Grape (*Vitis amurensis*) seeds in ethanol-induced cells and rats / M. J. Bak [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – Vol. 17, № 5. – P. 758-759.
177. Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and Caraway (*Carum carvi* L.) (Apiaceae) / I. Samojlik [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2010. – Vol. 58, № 15. – P. – 8848–8853.
178. Antioxidant galloylated flavonol glycosides from *Calliandra haematocephala* / F.A. Moharram [et al.] // Nat. Prod. Res. – 2006. – Vol. 20, № 10. – P. 927–934.

179. Arora, A. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system / A. Arora, M.G. Nair, G.M. Strasburg // *Free Radic. Biol. Med.* – 1998. – Vol. 24, № 9. – P. 1355–1363.
180. Assini, J.M. Citrus flavonoids and lipid metabolism / J.M. Assini, E.E. Mulvihill, M.W. Huff // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2013. – Vol. 24, №1. – P. 34–40.
181. Bataller, R. Liver fibrosis in alcoholic liver disease / R. Bataller, B. Gao // *Semin Liver Dis.* – 2015. – Vol. 35, № 2. – P. 146-156.
182. Bilberry extracts induce gene expression through the electrophile element / M. Myhrstad [et al.] // *Nutr. Cancer.* – 2006. – Vol. 54, № 1. – P. 94–101.
183. Caro, A.A. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP2E1 / A.A. Caro, A.I. Cederbaum // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2004. – Vol. 44, № 1. – P. 27–42.
184. Choi, E.J. The prooxidant, rather than antioxidant, acts of daidzein in vivo and in vitro: daidzein suppresses glutathione metabolism / E.J. Choi // *Eur. J. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 542, № 7. – P. 162–169.
185. *Coriandrum sativum* – review of advances in phytopharmacology / A.H. Momin [et al.] // *IJPSR.* – 2012. – Vol. 3, № 5. – P. 1233-1239.
186. Cotelle, N. Role of flavonoids in oxidative stress / N. Cotelle // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2001. – Vol. 1, № 6. – P. 569-590.
187. Cu (II)-disulfide complexes with superoxide dismutase- and catalase-like activities protect mitochondria and whole cells against oxidative stress / M.E. Aliaga[et al.] // *Free Radic Biol. Med.* – 2014. – № 75. – P. 50-51.
188. Demethyleneberberine, a natural mitochondria-targeted antioxidant, inhibits mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and steatosis in alcoholic liver disease mouse model / P. Zhang [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2015. – Vol. 352, № 1. – P. 139-147.

189. Diabetic cardiovascular disease induced by oxidative stress / Y. Kayama [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16, №10. – P. 25234-25263.
190. Dröge, W. Free radical in the physiological control of cell function / W. Dröge // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol. 82, № 1. – P. 47–95.
191. Dvorak, Z. Silybin and dehydrosilybin inhibit cytochrome P450 1A1 catalytic activity: a study in human keratinocytes and human hepatoma cells / Z. Dvorak, R. Vrzal, J. Ulrichova // *Cell.Biol. Toxicol.* – 2006. – Vol. 22, № 2. – P. 81–90.
192. Effect of flavonoids on glutathione level, lipid peroxidation and cytochrome P450 CYP1A1 expression in human laryngeal carcinoma cell lines / K. Durgo [et al.] // *Food Technol. Biotechnol.* – 2007. – Vol. 45, № 1. – P. 69–79.
193. Effect of salicylic acid and structurally related compounds in the accumulation of phytoalexins in cotyledons of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars / D. Durango [et al.] // *Molecules.* – 2013. - Vol. 18, № 9. – P. 10609-10628.
194. Effects of triterpenoid from *Schisandra chinensis* on oxidative stress in alcohol-induced liver injury in rats / B. Li [et al.] // *Cell Biochem. Biophys.* –2015. – Vol. 71, № 2. – P. 803-811.
195. Erden, I. Beneficial effects of quercetin on oxidative stress induced by ultraviolet A / I. Erden, A. Kahraman, T. Kohen // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2001. – Vol. 26, № 6. – P. 536–798.
196. Essential requirement of reduced glutathione (GSH) for the antioxidant effect of the flavonoid quercetin / R. Ferraresi [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2005. – Vol. 39, № 11. – P. 1249–1258.
197. Ethanol induced mitochondria injury and permeability transition pore opening: role of mitochondria in alcoholic liver disease / M. Yan [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 13, № 16. – P. 2352-2356.

198. Evaluation of antifungal activity of standardized extract of *Salvia rhytidea* Benth. (Lamiaceae) against various *Candida* isolates / S. Salari [et al.] // *J. Mycol. Med.* – 2016. – Vol. 26, № 4. – P. 323-330.
199. Extraction and antioxidant activity of flavonoids of *Morus nigra* / R.Z. Feng [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, № 12. – P. 22328-22336.
200. Flavonoids from Artichoke (*Cynara scolymus* L.) up-regulate endothelial-type nitric-oxide synthase gene expression in human endothelial cells / H. Li [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2004. – Vol. 10, № 3. – P. 926–932.
201. Flavonoids from *Matteuccia struthiopteris* and Their Anti-influenza Virus (H1N1) Activity / B. Li [et al.] // *J. Nat. Prod.* – 2015. – Vol. 78, № 5. – P. 987-995.
202. Free radicals scavenging action and antioxidant activities of proanthocyanidines from *Vitis vinifera*. A mechanism for their capillary protective action / F.R. Maffei [et al.] // *Arzn. – Forsh.* – 1994. – Vol. 44, № 5. – P. 592–601.
203. Free radicals scavenging efficiency of few naturally occurring flavonoids: a comparative study / M. Rajendran [et al.] // *J. Agric. Food. Chem.* – 2004. – Vol. 52, № 24. – P. 7389–7394.
204. Frei, B. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies / B. Frei, J.V. Higdon // *J. Nutr.* – 2003. – Vol. 133, № 10. – P. 3275–3284.
205. Glutathione mediated reductive activation and mitochondrial dysfunction play key roles in lithium induced oxidative stress and cytotoxicity in liver / M.R. Eskandari [et al.] // *Biometals.* – 2012. – Vol. 25, № 5. – P. 863-873.
206. Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expressions of antioxidant enzyme system / F. Puiggros [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – Vol. 53, №15. – P. 6080–6086.

207. Han, K.H. Relationships among alcoholic liver disease, antioxidants, and antioxidant enzymes / K.H. Han, N. Hashimoto, M. Fukushima // *World J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 22, № 1. – P. 37-49.
208. Hepatic mitochondrial DNA depletion after an alcohol binge in mice: probable role of peroxynitrite and modulation by manganese superoxide dismutase / I. Larosche [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2010. – Vol. 332, № 3. – P. 886-897.
209. Hepatic mitochondrial dysfunction induced by fatty acids and ethanol / D. Gyamfi [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 53, № 11. – P. 2131-2145.
210. Hepatoprotective activity of *Peganum harmala* against ethanol-induced liver damages in rats / E. Bourogaa [et al.] // *Arch. Physiol. Biochem.* – 2015. – Vol. 121, № 2. – P. 62–67.
211. Hepatoprotective effects of polymethoxyflavones against acute and chronic carbon tetrachloride intoxication / T.W. Kim [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2016. – № 91. – P. 91–99.
212. Higdon, J.V. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions / J.V. Higdon, B. Frei // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2003. – Vol. 43, № 1. – P. 89–143.
213. Horvatova, K. The free radical scavenging activity of four flavonoids determined by the comet assay / K. Horvatova, L. Novotny, A. Vachalkova // *Neoplasma.* – 2003. – Vol. 50, № 4. – P. 291–295.
214. Influence of sonication treatments and extraction solvents on the phenolics and antioxidants in star fruits / H.V. Annegowda [et al.] // *J. Food Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 49, № 4. – P. 510-514.
215. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids isolated from *Tanacetum microphyllum* / J.A. Guerra [et al.] // *Int. Immunopharmacol.* – 2006. – Vol. 6, № 11. – P. 1723-1728.

216. Inhibitory activity of flavonoids from *Prunus davidiana* and other flavonoids on total ROS and hydroxyl radical generation / H.A. Jung [et al.] // *Arch. Pharm. Res.* – 2003. – Vol. 26, № 10. – P. 809–815.
217. Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites / J.P.E. Spencer [et al.] // *Biochem. J.* – 2003. – Vol. 372, № 1. – P. 173–181.
218. Kachadourian, R. Flavonoids-induced glutathione depletion: potential implications for cancer treatment / R. Kachadourian, B. Day // *Free Radic. Bio. Med.* – 2006. – Vol. 1, № 41. – P. 65–76.
219. Kamel, R. Hepatoprotective effect of methylsulfonylmethane against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats / R. Kamel, E.M. El Morsy // *Arch. Pharm. Res.* – 2013. – Vol. 36, № 9. – P. 1140-1148.
220. Kessova, I. CYP2E1: biochemistry, toxicology, regulation and function in ethanol-induced liver injury / I. Kessova, A.I. Cederbaum // *Curr. Mol. Med.* – 2003. – Vol. 3, № 6. – P. 509–518.
221. Lieber, C.S. The discovery of the microsomal ethanol oxidizing system and its physiologic and pathologic role / C.S. Lieber // *Drug. Metab. Rev.* – 2004. – Vol. 36, № 3–4. – P. 511–529.
222. Long-term combined administration of quercetin and daidzein inhibits quercetin-induced suppression of glutathione antioxidant defenses / E.J. Choi [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2005. – Vol. 43, № 5. – P. 793–798.
223. Louvet, A. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment / A. Louvet, P. Mathurin // *Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol.* – 2015. – Vol. 12, № 4. – P. 231-242.
224. Miller, G.L. Protein determination for barge numbers of samples / G.L. Miller // *Anal. Chem.* – 1959. – Vol. 35, № 5. – P. 964–966.
225. Mitochondrial function in liver disease / J. Sastre [et al.] // *Front Biosci.* – 2007.– Vol. 12, № 4.– P.1200–1209.
226. Montgomery, R. Determination of glycogen / R. Montgomery // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1957. – Vol. 67, № 2. – P. 378.

227. Nitric oxide and hypoxia exacerbate alcohol-induced mitochondrial dysfunction in hepatocytes / B.R. Zelickson [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2011. – № 12. – P. 1573-1582.
228. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Cause or Effect of Metabolic Syndrome / C. Grander [et al.] // *Visc. Med.* – 2016. – Vol. 32, № 5. – P. 329-334.
229. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological system: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes / R. Masella [et al.] // *J. Nutr. Biochem.* – 2005. – Vol. 16, - № 10. – P. 577–586.
230. Nwozo, S.O. Hepatoprotective effect of aqueous extract of *Aframomum melegueta* on ethanol-induced toxicity in rats / S.O. Nwozo, B.E. Oyinloye // *Acta Biochim. Pol.* – 2011. – Vol. 58, № 3. – P. 355-358.
231. Ohkawa, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thyobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ochihi, K. Vagi // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 95, № 2. – P. 351–358.
232. Onoja, S.O. Hepatoprotective and antioxidant activity of hydromethanolic extract of *Daniella oliveri* leaves in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats / S.O. Onoja, G.K. Madubuike, M.I. Ezeja // *J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 26, № 5. – P. 465-470.
233. Oxidized quercetin reacts with thiols rather than with ascorbate: implication for quercetin supplementation / A.W. Boots [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – Vol. 308, № 3. – P. 560–565.
234. Ozgova, S. Different antioxidant effects of polyphenols on lipid peroxidation and hydroxyl radicals in the NADPH-, Fe-ascorbate- and Fe-microsomal system / S. Ozgova, J. Hermanek, I. Gut // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 66, № 7. – P. 1127–1137.
235. Panche, A.N. Flavonoids: an overview / A.N. Panche, A.D Diwan, S.R Chandra // *J. Nutr. Sci.* – 2016. – Vol. 29, № 5. - P. 4–7.

236. Pathogenesis of alcoholic chronic hepatitis / N. Hayashi [et al.] // *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi.* – 2014. – Vol. 49, № 5. – P. 219–226.
237. Pharmacological study of *Mentha longifolia* phenolic extracts /N. Mimica- Dukic [et al.] // *Int. Y. Pharmacognosy.* – 1996. – Vol. 34. №5. – P. 359–364.
238. Phenolics-rich extracts from *Silybin marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats / N. Skottova [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2004. – Vol. 50, №2. – P. 123–130.
239. Physiological concentrations of dietary polyphenols regulate vascular endothelial cell expression of genes important in cardiovascular health / Nicholson SK [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2010. – Vol. 103. № 10. – P. 1398–1403.
240. Pietta, P.G. Flavonoids as antioxidants / P.G. Pietta // *J. Nat. Prod.* – 2000. – Vol. 63, № 7. – P. 1035–1042.
241. Plasma quercetin metabolites: structure-antioxidant activity relationships / G.C.J. Moskaug [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2004. – Vol. 432, № 1. – P. 109–121.
242. Polyphenols and endogenous antioxidant defences: effects on glutathione and polyphenol related enzymes / C. Giovannini [et al.] // *Ann. Ist. Super. Sanita.* – 2006. – Vol. 42, № 3. – P. 336–347.
243. Polyphenols and glutathione synthesis regulation / J. Moskaug [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2005. – Vol. 81, № 1. – P. 277–283.
244. Pro-oxidative properties of flavonoids in human lymphocytes / G.C. Yen [et al.] // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2003. – Vol. 67, № 6. – P. 1215–1222.
245. Protection of nicotinic acid against oxidative stress-induced cell death in hepatocytes contributes to its beneficial effect on alcohol-induced liver

- injury in mice / X. Dou [et al.] // *J. Nutr. Biochem.* – 2013. – Vol. 24, № 8. – 1520-1528.
246. Protective effect of Cistanchis A on ethanol-induced damage in primary cultured mouse hepatocytes / H. Luo [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2016. – № 83. – P. 1071-1079.
247. Protective effects of ferulic acid and related polyphenols against glyoxal- or methylglyoxal-induced cytotoxicity and oxidative stress in isolated rat hepatocytes / A.A. Maruf [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* – 2015. – Vol. 5, № 234. – P. 96-104.
248. Protective effect of quercetin in gentamicin-induced oxidative stress in vitro and in vivo in blood cells. Effect on gentamicin antimicrobial activity / P.S. Bustos [et al.] // *Environ Toxicol. Pharmacol.* – 2016. – № 48. – P. 253-264.
249. Quercetin, a glycoside form of quercetin, prevents lipid peroxidation in vitro / C. Wagner [et al.] // *Brain Res.* – 2006. – Vol. 1107, № 1. – P.192–198.
250. Red wine polyphenols prevent endothelia damage induced by CCl₄ administration / P. Babal [et al.] // *Physiol. Res.* – 2006. – Vol. 55, № 3. – P. 251–254.
251. Seyoum, A. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids / A. Seyoum, K. Astres, F.K. El-Fiky // *Phytochem.* – 2006. – Vol. 67, № 11. – P. 2058–2070.
252. The effect of polyphenolic extract from pine bark, on the Pycnogenol level of glutathione in children suffering from attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) / M. Dvorakova [et al.] // *Redox Rep.* – 2006. – Vol. 11, № 4. – P. 163–172.
253. The effects of unripe grape extract on systemic blood pressure, nitric oxide production, and response to angiotensin II administration / Nematbakhsh [et al.] // *Pharmacognosy Res.* – 2013. – Vol. 5, № 2. – P. 60-64.

254. The intestinal anti-inflammatory effect of quercetin is associated with an inhibition in NOS expression / D. Camuesco [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 143. – P. 908–918.
255. The interaction of flavonoids with mitochondria: effects on energetic processes / D.G. Dorta [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* – 2005. – Vol. 152, № 2–3. – P. 67–78.
256. The role of ethanol metabolism in development of alcoholic steatohepatitis in the rat / M.J. Ronis [et al.] // *Alcohol.* – 2010. – Vol. 44, № 2. – P. 157-169.
257. Transgenic mouse models for alcohol metabolism, toxicity, and cancer / Cl. Heit [et al.] // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2015. – № 815. – P. 375-387.
258. Uchiyama, M. Determination of Malonaldehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test / M. Uchiyama, M. Mihara // *Anal. Biochem.* – 1978. – Vol. 94, № 86. – P. 271–278.
259. Wheeler, M.D. Endotoxin and kupffer cell activation in alcoholic liver disease / M.D. Wheeler // *Alcohol Res. Health.* – 2003. – Vol. 27, №4. – P. 300–306.
260. Wu, D. Alcohol, oxidative stress and free radical damage / D. Wu, A.I. Cederbaum // *Alcohol Res. Health.* – 2003. – Vol. 27, № 4. – P. 277–284.
261. 320. Zima, T. Oxidative stress and signal transduction pathways in alcoholic liver disease / T. Zima, M.Kalousova // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2005. – Vol. 29, № 11. – P. 110–115.

Приложение А

Таблица А.1.

Изменение биохимических показателей в сыворотке крови при введении исследуемых веществ в дозе 150 мг/кг животным с токсическим поражении печени тетрахлорметаном

№	Серии опытов	Интактные, n=9	Контроль (вода очищенная +CCl ₄), n=6	ВИКП +CCl ₄ , n=8	СИКП +CCl ₄ , n=10	ВИКР +CCl ₄ , n=6	СИКР +CCl ₄ , n=6	Карсил +CCl ₄ , n=6	Хофитол +CCl ₄ , n=6
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	АлАт, мккат/л	0,48±0,015	0,99±0,035 +106,3% И P ₁ <0,02**	0,63±0,060 -36,4% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01	1,15± 0,116 +16,1% К P ₁ <0,05*** P ₂ >0,05 P ₃ <0,001	0,53±0,128 -46,5% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,02 P ₃ >0,05 P ₄ <0,001*	0,44±0,079 -55,6% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01* P ₄ <0,001** P ₆ >0,05	0,57±0,035 -42,4% К P ₁ <0,05 P ₂₋₃ >0,05 P ₄ <0,001 P ₇₋₈ >0,05	0,66±0,056 -33,3% К P _{1,8} <0,05 P ₂ <0,001 P _{3,7,9} >0,05 P ₄ <0,001
2	ЩФ, Ед/л	226,3±22,00	409,6±60,50 +81% И P ₁ <0,05	233,0±28,11 -43,1% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05	407,0±51,41 -0,7% К P ₁ <0,05 P ₂ >0,05 P ₃ <0,05	242,5±29,00 -40,8% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	169,4±29,80 -58,5% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,02* P ₄ <0,02* P ₆ >0,05	238,3±8,26 -41,8% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,02 P _{3,7} >0,05 P ₄ <0,01 P ₈ <0,05	264,7±24,10 -35,4% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P _{3,7,9} >0,05 P _{4,8} <0,05

Продолжение таблицы А.1.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	Общий белок, г/л	91,5±1,95	66,6±5,10 -27,2% И P ₁ <0,01***	80,8±1,48 +21,3% К P ₁ <0,01 P ₂ <0,05	79,0±0,86 +18,5% К P ₁ <0,001** P ₂ <0,05 P ₅ >0,05	84,0±3,07 +26,4% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05* P ₃ >0,05	78,5±1,27 +17,9% К P ₁ <0,001* P ₂ <0,05 P _{4,6} >0,05	81,1±0,90 +21,7% К P ₁ <0,001 P ₂ <0,02 P ₃₋₄ >0,05 P ₇₋₈ >0,05	76,5±2,33 +14,8%К P ₁ <0,001** P ₂₋₄ >0,05 P ₇ <0,05 P ₈₋₉ >0,05
4	Общий билирубин, мкмоль/л	5,3±0,22	34,6±1,26 +552,8% И P ₁ <0,001***	23,5±1,45 -32,1% К P ₁ <0,001 P ₂ <0,02	23,5±2,45 -32,1% К P ₁ <0,001* P ₂ <0,01 P ₅ >0,05	25,2±2,30 -27,2% К P ₁ <0,001* P ₂ <0,02 P ₃ >0,05	22,2±2,80 -35,8% К P ₁ <0,001 P ₂ <0,01 P _{4,6} >0,05	24,4±0,46 -29,5% К P ₁ <0,001 P ₂ <0,001 P ₃₋₄ >0,05 P ₇₋₈ >0,05	26,6±0,95 -23,1% К P ₁ <0,001** P ₂ <0,001 P ₃₋₄ >0,05 P ₇₋₈ >0,05 P ₉ <0,001
5	Общий холестерин, ммоль/л	1,9±0,20	2,7±0,35 +42,1% И P ₁ <0,05	1,6±0,23 -40,7% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05	2,7±0,22 0% К P ₁ <0,05; P ₂ >0,05; P ₅ <0,02*	2,3±0,50 -14,8% К P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	2,1±0,17 -22,2% К P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₄ <0,05 P ₆ >0,05	1,8±0,21 -33,4% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P _{3,7,8} >0,05 P ₄ <0,01	1,9±0,06 -29,6% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P _{3,7-9} >0,05 P ₄ <0,01

Продолжение таблицы А.1.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6	Триглице- риды, ммоль/л	0,8±0,08	2,0±0,40 +150% И P ₁ <0,05	0,5±0,07 -75% К P ₁ <0,05 P ₂ <0,01** P ₄ <0,01*	1,0±0,12 -50% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₅ >0,05	0,5±0,10 -75% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,02 P ₃ <0,05	0,7±0,12 -65% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P _{4,6} >0,05	0,7±0,05 -65% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01 P ₃₋₄ <0,05 P ₇₋₈ >0,05	0,9±0,19 -55% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P _{3,7} <0,05 P ₄ >0,05 P ₈₋₉ >0,05
7	ТБК- активные продукты, мкмоль/л	2,85±0,540	7,84±0,487 +175,1% И P ₁ <0,001	5,83±0,155 -25,6% К P ₁ <0,001 P ₂ <0,01	4,13±0,280 -47,3% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001	3,16±0,418 -59,7% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001	4,49±0,434 -42,7% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01 P ₄ >0,05 P ₆ <0,05	5,67±0,218 -27,2% К P ₁ <0,001 P ₂ <0,001 P ₃ >0,05 P _{4,7} <0,001 P ₈ <0,05	6,07±0,258 -22,6% К P ₁ <0,001 P ₂ <0,01 P _{3,9} >0,05 P _{4,7} <0,001 P ₈ <0,01
<p>Примечание: n- количество животных, P₁- вероятность различия к интактным, P₂- вероятность различия к контролю, P₃- вероятность различия к опытам с ВИКП, P₄- вероятность различия к опытам со СИКП, P₅- вероятность различия между ВИКП и СИКП, P₆- вероятность различия между ВИКР и СИКР, P₇- вероятность различия к опытам с ВИКР, P₈- вероятность различия к опытам со СИКР, P₉- вероятность различия между Карсилом и Хофитолом, (*-p<0,05;**-p<0,01;***-p<0,001)- однофакторный дисперсионный анализ (t-критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой тестом Данна).</p>									

Таблица А.2.

Изменение биохимических показателей в печени при введении исследуемых веществ в дозе 150 мг/кг животным с токсическим поражении печени тетрахлорметаном

№	Серии опытов	Интактные, n=6	Контроль (вода очищенная +CCl ₄), n=6	ВИКП +CCl ₄ , n=6	СИКП +CCl ₄ , n=6	ВИКР +CCl ₄ , n=6	СИКР +CCl ₄ , n=6	Карсил +CCl ₄ , n=6	Хофитол +CCl ₄ , n=6
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Глигоген, г/кг	6,60±0,277	5,22±0,432 -20,9% И P ₁ <0,05	8,09±0,768 +55% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01##	5,62±0,443 +7,7% К P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₅ <0,05#	7,58±0,428 +45,1% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01# P ₃ >0,05 P ₄ <0,05#	5,18±0,454 -0,9%К P ₁ <0,05 P ₂ >0,05 P ₃ <0,01## P ₄ >0,05 P ₆ <0,01#	7,84±0,539 +50,2% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01## P _{3,7} >0,05 P ₄ <0,05# P ₈ <0,01##	6,98±0,524 +33,6% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃₋₄ >0,05 P _{7,9} >0,05 P ₈ <0,05
2	Триглицериды, мкмоль/г	14,29±1,532	30,09±2,309 +110,5% И P ₁ <0,001###	20,24±1,886 -32,8% К P ₁ <0,05# P ₂ <0,01#	23,82±1,904 -20,9% К P ₁ <0,01# P ₂ <0,05 P ₅ >0,05	23,46±1,992 -21,9% К P ₁ <0,05# P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	27,67±2,430 -8% К P ₁ <0,001### P _{2,4,6} >0,05	20,59±1,909 -31,5% К P ₁ <0,05 P ₂ <0,05# P ₃₋₇ >0,05 P ₈ <0,05	22,37±1,974 -25,7% К P ₁ <0,05# P ₂ <0,05 P ₃₋₉ >0,05

Продолжение таблицы А.2.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	ТБК-активные продукты, нмоль/мг белка	0,15±0,046	0,49±0,047 +226,3% И P ₁ <0,001####	0,32±0,051 -34,7% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05	0,23±0,086 -53,1% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05# P ₅ >0,05	0,28±0,062 -42,8% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	0,22±0,060 -55,1% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01# P ₄ >0,05 P ₆ <0,001	0,34±0,027 -30,6%К P ₁ <0,001 P ₂ <0,05 P ₃₋₈ >0,05	0,36±0,031 -26,5%К P ₁ <0,001 P ₂ <0,05 P ₃₋₉ >0,05
4	Каталаза печени, нмоль/мин/мг белка	0,20±0,013	0,07±0,019 -65% И P ₁ <0,01##	0,25±0,032 +257% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,001##	0,15±0,017 +114,3% К P ₁ <0,05 P ₂ <0,01# P ₅ <0,05	0,18±0,042 +157% К P ₁ <0,02 P ₂ >0,05 P ₃ <0,01#	0,18±0,009 +157% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,001 ## P ₄ >0,05 P ₆ <0,001	0,21±0,019 +200% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,001 ## P _{3,8} >0,05 P _{4,7} <0,05	0,16±0,012 +128,6% К P ₁ <0,05 P ₂ <0,01# P _{3,9} <0,05 P _{4,7,8} >0,05
5	СОД ПФП, уд. акт/мг белка	80,28±8,366	42,57±2,989 -47% И P ₁ <0,01	89,82±10,203 +111% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01	72,80±7,489 +71% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01 P ₅ >0,05	77,42±14,217 +81,9% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	60,63±8,507 +42,5% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₄ >0,05 P ₆ >0,05	79,16±9,121 +86% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01 P ₃₋₈ >0,05	75,29±9,391 +77% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃₋₉ >0,05

Продолжение таблицы А.2.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6	Глутатион печени, г/кг	54,11±11,994	25,43±4,884	47,73±8,138	44,23±7,952	46,58±4,039	37,79±4,038	45,08±3,855	33,53±3,019
			-53% И P ₁ <0,05	+87,7% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05	+73,8% К P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₅ >0,05	+83,2% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,01 P ₃ >0,05	+49% К P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P _{4,6} >0,05	+77,2% К P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃₋₄ >0,05 P ₇₋₈ >0,05	+32% К P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₃₋₈ >0,05 P ₉ <0,05
<p>Примечание: n- количество животных, P₁- вероятность различия к интактным, P₂- вероятность различия к контролю, P₃- вероятность различия к опытам с ВИКП, P₄- вероятность различия к опытам со СИКП, P₅- вероятность различия между ВИКП и СИКП, P₆- вероятность различия между ВИКР и СИКР, P₇- вероятность различия к опытам с ВИКР, P₈- вероятность различия к опытам со СИКР, P₉- вероятность различия между Карсилом и Хофитолом, (# - p<0,05;## - p<0,01;### - p<0,001)–достоверная разница между значениями показателя (t-критерий Ньюмена-Кейлса).</p>									

Таблица А.3.

Изменение биохимических показателей в сыворотке крови при введении исследуемых веществ в дозе 150 мг/кг животным с токсическим поражении печени этанолом

№	Серии опытов	Интактные, n=9	Контроль (вода очищ. +33% этанол), n=9	ВИКП +33% этанол, n=9	ВИКР +33% этанол, n=9	Карсил +33% этанол, n=6	Хофитол +33% этанол, n=6
1	2	3	4	5	6	7	8
1	АлАт, мккат/л	0,48±0,015	0,66±0,015 +37,5% И P ₁ <0,05**	0,59±0,023 -10,6% К P ₁ <0,05; P ₂ <0,05	0,65±0,019 -1,5% К P ₁ <0,05**; P ₂ >0,05; P ₃ <0,05	0,58±0,029 -12,1% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05 P ₃ >0,05; P ₄ <0,05	0,56±0,050 -15,1% К P ₁ >0,05 ; P ₂ <0,05 P ₃₋₅ >0,05
2	ЩФ, Ед/л	226,3±22,00	314,6±12,11 +39% И P ₁ <0,05**	264,6±10,62 -16% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05	270,4±16,20 -14% К P ₁ >0,05; P ₂ >0,05; P ₃ >0,05	267,8±9,18 -15% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,01; P ₃₋₄ >0,05	283,5±9,93 -9,9% К P ₁ <0,05; P ₂ <0,05; P ₃₋₅ >0,05
3	Общий белок, г/л	91,5±1,95	65,7±1,90 -28,2% И P ₁ <0,001***	68,0±1,06 +3,5% К P ₁ <0,001***; P ₂ >0,05	71,4±0,93 +8,7% К P ₁ <0,001; P ₂ <0,05; P ₃ >0,05	70,9±1,14 +8% К P ₁ <0,001; P ₂ <0,05; P ₃₋₄ >0,05	70,7±1,39 +7,7% К P ₁ <0,001; P ₂ <0,05; P ₃₋₅ >0,05

1	2	3	4	5	6	7	8
4	Общий билирубин, мкмоль/л	5,3±0,22	14,7±0,46 +177,3% И P ₁ <0,001***	10,5±0,18 -28,6% К P ₁ <0,001***; P ₂ <0,001	12,0±0,31 -18,4% К P ₁ <0,001**; P ₂ <0,01; P ₃ <0,01	11,2±0,29 -23,8% К P ₁ <0,001; P ₂ <0,001*; P ₃ <0,05; P ₄ <0,05	12,7±0,22 -13,6% К P ₁ <0,001**; P ₂ <0,001; P ₃ <0,05; P ₄ >0,05; P ₅ <0,001
5	Общий холестерин, ммоль/л	1,9±0,20	2,10±0,050 +10,5% И P ₁ <0,05	1,88±0,047 -10,5% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05	1,85±0,082 -12% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05; P ₃ >0,05	1,92±0,077 -8,6% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05*; P ₃ >0,05; P ₄ >0,05	1,94±0,109 -7,6% К P ₁ >0,05; P ₂ >0,05; P ₃ >0,05; P ₄ >0,05; P ₅ >0,05
6	Триглицериды, ммоль/л	0,8±0,08	1,01±0,043 +26,3% И P ₁ <0,05	0,73±0,040 -27,7% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05*	0,70±0,070 -30,7% К P ₁ <0,05; P ₂ <0,05*; P ₃ >0,05	0,84±0,036 -16,9%К P ₁ >0,05; P ₂ <0,01 P ₃ <0,05; P ₄ >0,05	0,88±0,039 -13% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05; P ₃ <0,05; P ₄ <0,05; P ₅ >0,05
7	ТБК-активные продукты, мкмоль/л	2,85±0,540	5,44±0,220 +90,8% P ₁ <0,01***	3,46±0,115 -36,4% P ₁ >0,05; P ₂ <0,001**	3,55±0,127 -34,7% P ₁ >0,05; P ₂ <0,001*; P ₃ >0,05	3,62±0,227 -33,4% P ₁ >0,05; P ₂ <0,05*; P ₃ >0,05; P ₄ >0,05	4,87±0,262 -10,4% P ₁ <0,01*; P ₂ >0,05; P ₃ <0,001; P ₄ <0,001; P ₅ >0,05
<p>Примечание: n- количество опытов; P₁- вероятность различия к интактным; P₂- вероятность различия к контролю; P₃- вероятность различия к опытам с ВИКП; P₄- вероятность различия к опытам с ВИКР; P₅- вероятность различия к Карсилу; (*-p<0,05;**-p<0,01;***-p<0,001)- однофакторный дисперсионный анализ (t-критерий Краскелла–Уоллиса с постобработкой тестом Данна).</p>							

Таблица А.4.

Изменение биохимических показателей в печени при введении исследуемых веществ в дозе 150 мг/кг животным с токсическим поражении печени этанолом

№	Серии опытов	Интактные, n=6	Контроль (вода очищенная +33% этанол), n=6	ВИКП +33% этанол, n=6	ВИКР +33% этанол, n=6	Карсил +33% этанол, n=6	Хофитол +33% этанол, n=6
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Гликоген, г/кг	6,60±0,277	6,27±0,810 -5% И P ₁ >0,05	10,82±1,396 +72,6% К P ₁ <0,05#; P ₂ <0,05#	10,05±1,280 +60,3% К P ₁ <0,05; P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	9,63±0,648 +53,7% К P ₁ <0,01; P ₂ <0,05; P ₃₋₄ >0,05	8,87±0,586 +41,5% К P ₁ <0,01; P ₂ <0,05; P ₃₋₅ >0,05
2	Триглицериды, мкмоль/г	14,29±1,536	18,38±0,860 +28,6% И P ₁ <0,05#	13,31±0,862 -27,6% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,01#	12,28±0,968 33,6% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,01##; P ₃ >0,05	12,45±0,834 -32,3% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,001##; P ₃₋₄ >0,05	14,73±1,157 -19,8% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,001#; P ₃₋₅ >0,05

Продолжение таблицы А.4.

1	2	3	4	5	6	7	8
3	ТБК-активные продукты, нмоль/мг белка	0,15±0,024	0,24±0,036 +60% И P ₁ <0,05#	0,14±0,018 -41,7% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05#	0,13±0,028 -45,8% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05#; P ₃ >0,05	0,16±0,008 -33,3% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05#; P ₃₋₄ >0,05	0,21±0,026 -12,5% К P ₁ >0,05; P ₂ >0,05; P ₃₋₅ >0,05
4	Каталаза, нмоль/мин /мг белка	0,20±0,013	0,08±0,026 -60% И P ₁ <0,01#	0,18±0,015 +125% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,01##	0,16±0,017 +100% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05#; P ₃ >0,05	0,16±0,019 +100% К P ₁ <0,05; P ₂ <0,05#; P ₃₋₄ >0,05	0,13±0,020 +62,5% К P ₁ <0,05; P ₂ >0,05; P ₃₋₅ >0,05
5	СОД ПФП, уд. акт/мг белка	80,28±8,366	48,96±9,785 -39% И P ₁ <0,05#	82,40±5,809 +68,2% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,02#	79,54±8,691 +62,5% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05#; P ₃ >0,05	81,38±7,625 +66,2% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05#; P ₃₋₄ >0,05	73,46±7,128 +20,4% К P ₁ >0,05; P ₂ >0,05#; P ₃₋₅ >0,05
6	Глутатион, г/кг	54,11±11,994	40,20±4,183 -25% И P ₁ >0,05	60,82±5,578 +51,3% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05	51,10±4,015 +27%К P ₁ >0,05; P ₂ >0,05; P ₃ >0,05	56,52±5,432 +40,6% К P ₁ >0,05; P ₂ <0,05; P ₃₋₄ >0,05	48,81±4,038 +21,4% К P ₁ >0,05; P ₂ >0,05; P ₃₋₅ >0,05
<p>Примечание: n- количество опытов; P₁- вероятность различия к интактным; P₂- вероятность различия к контролю; P₃- вероятность различия к опытам с ВИКП; P₄- вероятность различия к опытам с ВИКР; P₅- вероятность различия к Карсилу, (# - p<0,05;## - p<0,01;### - p<0,001)– достоверная разница между значениями показателя (t-критерий Ньюмена-Кейлса)</p>							