

ПОТАПОВА АННА АЛЕКСАНДРОВНА

**НЕФРО- И ГЕПАТОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ
ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО (SCUTELLARIA BAICALENSIS GEORGI)
И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ПРИ СОЧЕТАННЫХ
ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

ВОЛГОГРАД, 2017

Диссертационная работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: **Доркина Елена Григорьевна**
доктор биологических наук, доцент

Официальные оппоненты:
доктор фармацевтических наук,
доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Каленикова Елена Игоревна

доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»
Минздрава России

Батищева Галина Александровна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2017 г. в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1 и на сайте www.volgmed.ru.

Автореферат разослан «___» «_____» 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Бугаева Любовь Ивановна

Актуальность темы исследования

Нарушение функций печени или почек при возникновении патологического процесса в одном из этих органов, а также их одновременное поражение при воздействии вредных для организма эндогенных и экзогенных факторов, делает актуальным создание новых эффективных гепато- и нефропротекторных препаратов, нормализующих строение, метаболизм и функции данных органов. Повышение эффективности фармакотерапии заболеваний печени и почек определяется широкой распространенностью этих патологий в общей структуре заболеваемости. По статистическим данным в РФ за 2011 г. диагностируемые хронические заболевания печени и почек встречаются в 8,2% и 7,8% случаев соответственно [Козырева М.П. и соавт., 2013]. Подобные сочетанные поражения печени и почек наиболее часто развиваются при профессиональных интоксикациях, острых отравлениях, при панкреатите, остром или хроническом гепатите, циррозе печени, заболеваниях желчных путей, сепсисе, инфекциях, ожогах, гемолитической анемии, лекарственных поражениях, циркуляторных расстройствах и др. [Лопаткина Т.Н. и соавт., 2006, Ключарева А.А. и соавт., 2007, Маммаев С.Н. и соавт., 2008, Пиманов С.И., 2008, Власов А.П. и соавт., 2011], а также при использовании таких лекарственных средств, как нестероидные противовоспалительные препараты, антибиотики, сульфаниламиды, диуретики, противотуберкулезные препараты, цитостатики и т.д. [Абаев В.М. и соавт., 2000, Чумакова О.В. и соавт., 2002, Новиков И.Н. и соавт., 2007, Yıldız A. et al., 2000, Stefanovic V. et al., 2002].

Для лечения и профилактики заболеваний печени и почек в основном используются растительные средства, содержащие, как правило, широкий спектр метаболически близких организму биологически активных веществ и обладающие низкой токсичностью. Перспективными в плане поиска новых гепато- и нефропротекторов следует считать фитопрепараты, содержащие флавоноиды, обладающие антиоксидантными свойствами, поскольку общим патогенетическим механизмом, участвующим в поражении печени и почек является развитие окислительного стресса с активацией процессов перекисного окисления липидов и белков, истощением антиоксидантной системы защиты, что приводит к нарушению целостности мембран и гибели клеток [Осипов А.Н. и соавт., 1990, Владимиров Ю.А., 2000; Максимова Т.А., 2001, Доркина Е.Г., 2004].

Большое количество флавоноидов (более 60) выделено из корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* G.), наиболее активным из которых является байкалин. Несмотря на то, что байкалин обладает широким спектром фармакологической активности, включая нефропротекторное и гепатозащитное действия, из-за плохой растворимости в воде и низкой биодоступности при пероральном применении, его использование в клинике ограничено. С физико-химическими свойствами флавоноидов связана невозможность их применения в инъекционных формах. В связи с этим, в последние годы все большее внимание ученых привлекает создание

новых форм доставки флавоноидов, к числу которых относятся микрокапсулы, наноконплексы, нанокристаллы, липосомы и др. [Леонова М.В., 2009]. В то же время, в медицинской практике на настоящем этапе препараты на основе флавоноидов продолжают использоваться в виде капсул и таблеток и для достижения терапевтического эффекта их необходимо применять в больших дозах с высокой кратностью, чтобы получить эффективную концентрацию в плазме крови.

Создание растворимых лекарственных форм на основе флавоноидов могло бы обеспечить 100% биодоступность такого препарата и возможность подачи в организм минимального количества действующих веществ при максимальной эффективности их действия.

Исходя из этого, следует считать актуальным изучение в сравнительном аспекте гепато- и нефрозащитного действия флавоноида байкалина из шлемника байкальского при различных способах введения (пероральный и парентеральный) с целью создания различных форм лекарственных препаратов для одновременного лечения заболеваний печени и почек.

Степень разработанности проблемы

История изучения эффективности лечения заболеваний печени и почек насчитывает не одно десятилетие [Мамаев С.Н. и соавт., 2008, Arroyo V et al., 2002, Briglia A.E. et al., 2002], но, по-прежнему, остается довольно невысокой степень разработанности проблемы терапии сочетанных повреждений печени и почек [Лопаткина Т.Н. и соавт., 2006, Gonva T.A. et al., 2013, Kiser T.N. et al., 2014,], в особенности поиск и применение таких препаратов, которые обладали бы одновременно гепато- и нефропротекторными свойствами [Nafiu M. et al., 2011, Moller S et al., 2012].

Ведущая роль окислительного стресса в патогенезе токсических, лекарственных, алкогольных и пр. поражений как печени, так и почек [Зенков Н.К. и соавт., 2001, Мышкин В.А. и соавт., 2011, Ponce-Canchihuaman et al., 2010, Ping Ma et al., 2014], а также наличие тесной морфофункциональной связи между этими органами делает возможным и необходимым целенаправленный поиск новых эффективных средств для предупреждения и лечения данных патологий [Cherniac E.P. et al., 2012, Brai V.I. et al., 2014]. К тому же, многие препараты, которые в настоящее время применяются в комплексной терапии заболеваний печени, не всегда соответствуют требованиям, предъявляемым к гепатопротекторам [Щекатихина А.С., 2009, Vargas-Mendoza N. et al., 2014], а также невелик ассортимент лекарственных средств, нормализующих функциональную активность почек [Регистр ЛС, 2011].

В настоящее время имеются единичные исследования по созданию водорастворимых форм байкалина. Так, получен полусинтетический препарат байкалинат-лизин и изучена его способность повышать эффективность химиотерапевтического лечения экспериментальных опухолей [Литвиненко В.И. и соавт. 1998, 2012]. Гепатозащитное и нефрозащитное действие байкалина продемонстрировано на моделях поражениях печени тетрахлолметаном [Ажунова

Т.А., 1990, Park S.W. et al., 2008, Huang H.L. et al., 2012], парацетамолом [Т.А.Ажунова, 1987], при поражениях почек, наблюдающихся при ишемии-реперфузии [M. Lin et al., 2014], остром панкреатите [X.R. Zhang et al., 2007], применении цитостатика цисплатина [B.D. Sahu et al., 2015]. Но сравнения эффективности действия байкалина с эталонными гепато- и нефропротекторами не проводилось, а также отсутствуют исследования по применению шлемника байкальского при сочетанных поражениях печени и почек.

Цель исследования

Экспериментальное обоснование гепатонепропротекторного действия сухого экстракта шлемника байкальского (СЭ ШБ) и его водорастворимой формы (СЭ-2-ГП-β-ЦД) при сочетанных поражениях печени и почек и при различных способах введения.

Задачи исследования

1. Определить среднелетальные и оптимальные терапевтические дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях на моделях поражения почек хлоридом ртути (II) и поражения печени тетрахлометаном.
2. Изучить фармакокинетику байкалина у крыс при пероральном и внутрибрюшинном введениях СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в оптимальных терапевтических дозах.
3. Провести изучение нефропротекторного и гепатопротекторного действия СЭ ШБ при пероральном и СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введениях на моделях поражения почек хлоридом ртути (II) и поражения печени парацетамолом у крыс по нормализации маркеров основных патосиндромов и гистологической картине органов по сравнению с действием урокама и легалона.
4. Провести изучение эффективности гепатонепропротекторного действия СЭ ШБ при пероральном и СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введениях при сочетанных поражениях печени и почек циклофосфаном у крыс по нормализации маркеров основных патосиндромов и гистологической картине органов по сравнению с таковой урокама и легалона.
5. Изучить влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях на интенсивность перекисного окисления липидов, антиоксидантную систему печени и почек крыс при действии различных токсикантов.
6. Изучить антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие байкалина на модельных системах *in vitro* и влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на морфофункциональное состояние, интенсивность ПОЛ *in vivo* и антиоксидантную систему печени и почек у здоровых животных.

Научная новизна полученных результатов

Впервые получена водорастворимая форма СЭ ШБ с использованием 2-ГП-β-ЦД (СЭ-2-ГП-β-ЦД) и спектрофотометрически доказано повышение растворимости СЭ ШБ в воде в 5 раз.

Установлено, что СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях обладают выраженным нефропротекторным действием, эффективность которого выше, чем препарата урокам, а также гепатозащитным действием при поражении печени парацетамолом, превышая действие легалона, о чем свидетельствует гистоморфологическая картина органа.

Доказано, что выраженность нефропротекторного и гепатопротекторного действия СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении практически равнозначна или по некоторым параметрам превышает таковую при пероральном применении СЭ ШБ, но при этом оптимальная терапевтическая доза снижается в 20 раз.

Впервые показано, что при внутрибрюшинном введении водорастворимой формы СЭ-2-ГП-β-ЦД в 20-тикратно более низкой дозе по сравнению с пероральным введением СЭ ШБ создаются примерно равные или даже более высокие концентрации байкалина в плазме крови, а также в органах-мишенях (печень и почки).

Установлено, что СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях одновременно проявляют выраженное и гепатозащитное, и нефрозащитное действие на фоне введения цитостатика циклофосфана, повреждающего печень и почки, воздействуя на патогенетические механизмы развития патологического процесса и в том, и в другом органе.

Доказано, что *урокам*, обладая нефрозащитной активностью, оказывает и гепатозащитное действие, хотя и менее выраженное, практически *не влияя при этом* на восстановление системы АОЗ в печени, а *легалон*, обладая гепатозащитной активностью, оказывает и нефрозащитное действие, также менее выраженное, *практически не влияя* на восстановление системы АОЗ в почках. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и при внутрибрюшинном введениях обеспечивают *наиболее полное восстановление про-антиоксидантного равновесия одновременно в обоих органах* и оказывают *более выраженное гепатозащитное действие*, чем *урокам* и *более выраженное нефрозащитное действие*, чем *легалон*, т.е. обеспечивают равнозначную эффективную защиту и печени и почек, что позволяет рассматривать данные препараты, как препараты *гепатонепфрозащитного действия*.

Впервые выявлено существование тесной корреляционной взаимосвязи между выраженностью гепато- и нефрозащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях и коэффициентом окислительного стресса, что указывает на первостепенное значение восстановления про-антиоксидантного равновесия в механизмах гепатонепфропротекции.

Доказано, что применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях оказывает стимулирующее влияние на глутатионовое звено NADPH – GSH-зависимой АОС: повышает содержание глутатиона восстановленного в печени у здоровых животных и активности Г-S-T и Г-6-ФДГ в печени и почках в условиях развития окислительного

стресса при действии различных токсикантов, что более выражено при внутрибрюшинном введении СЭ ШБ.

Установлено, что антиоксидантное действие байкалина в липосомальной системе Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ сравнимо с действием кверцетина, а мембраностабилизирующее действие – с кверцетином и α -токоферолом. Антиоксидантное действие байкалина, так же, как и кверцетина, проявляется и *in vivo*.

Теоретическая и практическая значимость

Показано повышение растворимости байкалина в воде при использовании 2-ГП- β -ЦД, что делает возможным создание растворимой лекарственной формы для парентерального введения, минуя ЖКТ, и приводит к значительному снижению оптимальной терапевтической дозы при сохранении лечебного эффекта. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие, что восстановление про-/антиоксидантного равновесия достигается не только за счет прямого антиоксидантного действия байкалина, но и повышения активности эндогенной системы АОЗ, в особенности ее глутатионового звена, что представляется более значительным для преодоления окислительного стресса и повышения устойчивости систем к действию повреждающих факторов. Выявленная тесная связь эффективности защитного действия с восстановлением баланса в системе ПОЛ/АОС показывает, что к применению препаратов нужно подходить не только с позиций подавления ими ПОЛ, но и с учетом более легкого и быстрого возврата биосистем в состояние про-/антиоксидантного равновесия.

В связи с выявленной способностью байкалина воздействовать на патогенетические звенья патологического процесса в печени и почках, вызванного действием цитостатика циклофосфана, что сопровождалось нормализацией состояния печени и почек, показана возможность создания препаратов, которые сочетали бы свойства гепато- и нефропротекторов, т.е. имели бы несколько органов-мишеней. Полученные результаты показали наличие выраженной гепато- и нефрозащитной активности СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях на различных экспериментальных моделях, в связи с чем данные субстанции могут быть рекомендованы для дальнейших более углубленных доклинических исследований и создания различных форм лекарственных препаратов при сочетанных поражениях печени и почек.

Методология и методы исследования

Эксперименты выполнялись в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств [Миронов А.Н. и соавт., 2012] с использованием современных методов. В работе применялся комплексный синдромальный подход к оценке эффективности гепато- и нефропротекторного действия сухого экстракта шлемника байкальского. Были использованы классические модели поражения печени и почек для изучения соот-

ветственно гепато- и нефрозащитного действия в сравнении с эталонными препаратами, а затем изучалась эффективность гепатонепропротекции СЭ ШБ при различных способах введения при сочетанном поражении печени и почек циклофосфаном. Исследование осуществлялось на половозрелых самцах и самках крыс Wistar, а также на белых мышах.

Реализация результатов исследования

Результаты работы внедрены в учебный процесс, используются в научной работе на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета; кафедрах фармакологии, фармакологии и биофармации ФУВ Волгоградского государственного медицинского университета, кафедре клинической фармакологии, аллергологии и иммунологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Высокая эффективность СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях, связанная с воздействием на основные звенья патогенеза поражений печени и почек и выявленная способность обеспечивать одновременную защиту печени и почек при действии различных токсикантов, позволяет их рекомендовать для дальнейшего доклинического исследования с целью разработки различных лекарственных форм препаратов для терапии сочетанных поражений печени и почек в качестве гепатонепропротекторов.
2. СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении обладает равнозначной, а по некоторым параметрам более выраженной эффективностью гепато- и нефрозащитного действия, но его оптимальная терапевтическая доза является в 20 раз более низкой, чем при пероральном применении, при этом создаются равные или даже более высокие концентрации байкалина в плазме крови, а также в органах-мишенях (печень и почки).
3. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях препятствуют развитию окислительного стресса и восстанавливают нарушенное про- / антиоксидантное равновесие при воздействии токсикантов, повреждающих печень и почки, снижая интенсивность ПОЛ и вызывая стабилизацию мембран за счет прямого антиоксидантного действия и способности усиливать глутатионовое звено эндогенной системы АОЗ, что более выражено при внутрибрюшинном введении, и является важным в механизме гепатонепрозащитного действия.

Степень достоверности и апробация полученных результатов

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментальных исследований, проведенных на крысах обоего пола и мышах; использованием современных методов, высокотехнологического оборудования, параметрических и непараметрических критериев статистической обработки данных.

Основные положения диссертационной работы доложены на 67^й, 68^й, 69^й научных конференциях «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск 2012-2014 г.), на XI Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы науки» (г. Москва, 2013 г.), на Международной заочной научно-практической конференции «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (г. Новосибирск, 2013 г.), на 71-й, 72-й и 73-й научно-практической конференции «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (г. Волгоград, г. Пятигорск 2013-2015 гг.), на региональной научно-практической конференции «Инновации молодых учёных Северного Кавказа - экономике России», проводимой в рамках программы «УМНИК» Федерального Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере в 2013 году (г. Ставрополь, 2013), на Всероссийской научной интернет-конференции с международным участием «Фармакологическая наука – от теории к практике» (г. Казань, 2014), на Северо-Кавказском молодежном Форуме «Машук–2014» (г. Пятигорск, 2014), на IV Международной научно-практической конференции «Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия» (г. Новосибирск, 2014), на III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Беликовские чтения» (г. Пятигорск, 2014). Работа апробирована на расширенном заседании кафедры биохимии и микробиологии.

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из которых 7 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для изложения основных положений диссертационного исследования.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно осуществлен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников литературы по теме диссертационной работы. Непосредственно автором проделана статистическая обработка и описание полученных результатов. Автор принимал активное участие в проведении экспериментальных исследований, формулировке задач, выводов и подготовке публикаций по основным положениям диссертационной работы, оформлении рукописи.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 168 страницах машинописного текста, иллюстрирована 56 рисунками и 24 таблицами. Диссертация состоит из введения, 7 глав (обзор литературы; материал и методы исследования; результаты собственных исследований и их обсуждение), заключения, выводов, списка литературы, включающего 318 источников, из которых 139 на русском языке и 179 на иностранных языках, двух приложений А и Б.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе приведены данные исследований отечественных и зарубежных авторов о сочетанных поражениях печени и почек и основных принципах их терапии. В первом разделе рассматриваются причины и механизмы развития данных патологий, а также современные

подходы к их лечению. Во втором разделе главы приводятся литературные данные по применению шлемника байкальского при поражениях печени тетрахлорметаном, железом, этанолом, парацетамолом, для лечения печеночной и почечной недостаточности, вызванной острым панкреатитом и ишемией, а также антиоксидантное, мембраностабилизирующие и противовоспалительным действие флавоноидов шлемника байкальского и его основного флавоноида - байкалина. Третий раздел посвящен вопросу использования циклодекстринов для улучшения водорастворимости лекарственных средств.

Во второй главе диссертации приведено описание **материалов и методов** исследования. В качестве объектов исследования в работе использовали СЭ ШБ производства компании Shenzhen Naturactive (КНР) и СЭ-2-ГП-β-ЦД, полученный на кафедре неорганической химии под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента Л.И. Щербаковой.

Исследования проведены на 559 белых половозрелых крысах Wistar обоего пола весом 180-250 г и 108 белых мышах массой 20-25 г, содержащихся в условиях вивария (температура 22-24⁰С) с естественным световым режимом на стандартной диете. Эксперименты проводили в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики», с соблюдением Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей», 1986 г.

Среднелетальную дозу (ЛД₅₀) СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД определяли на 108 белых мышах самках массой 20-25 г [Сернов Л.Н., Гацура В.В., 2000, Миронов А.Н. и соавт., 2012]. Кроме того, было проведено определение ЛД₅₀ 2-ГП-β-ЦД. Критерием оценки служила выживаемость животных, наблюдение вели в течение 14 дней. Расчет проводили методом наименьших квадратов с использованием пробит-анализа, определяли дозы ЛД₁₆, ЛД₅₀ и ЛД₈₄.

Определение оптимальных терапевтических доз СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД было проведено с использованием классических моделей поражения печени тетрахлорметаном [Блюгер А.Ф., Карташова О.Я., 1983] и поражения почек хлоридом ртути [Мондодоев А.Г. и др., 2010]. Об эффективности гепато- и нефрозащитного действия судили: 1) по степени нормализации биохимических и функциональных маркеров поражения печени или почек; 2) по проценту выживших животных (по «конечной точке»); 3) по коэффициенту гепато- и нефропротекции. В качестве биохимических маркеров основных патосиндромов поражения печени, таких как: 1) цитолиз; 2) холестаз; 3) жировая дистрофия, определяли соответственно *в сыворотке крови*: 1) активность АлАт; 2) активность ЩФ и содержание ОБ; *в печени*: 3) содержание ТРГ.

В качестве биохимических и функциональных маркеров поражения почек определяли содержание креатинина и мочевины в сыворотке крови и моче, объем мочи после 2,5 % водной нагрузки и рассчитывали скорость клубочковой фильтрации. Коэффициенты гепато- и нефро-

протекции рассчитывали для каждого показателя, а также средний коэффициент с учетом всех показателей, по формуле: $H = \left[1 - \left(\frac{O-N}{K-N} \right) \right] \times 100\%$,

где H - коэффициент протекции; O – значение показателя в опытных группах; K – значение показателя у животных, получавших только токсин; N – значение показателя у интактных животных [Rajesh et al., 2004].

Изучение нефрозащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД проведено на модели поражения почек хлоридом ртути (II) в установленных оптимальных терапевтических дозах (300 и 15 мг/кг соответственно) в сравнении с урокамом в дозе 1,25 мл/кг (терапевтическая доза) при лечебно-профилактическом введении. В сыворотке крови определяли содержание мочевины, креатинина, показатели электролитного состава крови (концентрации калия, натрия, кальция, фосфора), показатели белкового (общий белок и его фракции: альбумины и глобулины) и углеводного обменов (содержание глюкозы). Исследовали диурез с 2,5% водной нагрузкой, рассчитывали СКФ, весовой индекс почек. В моче определяли содержание белка, лейкоцитов, эритроцитов, мочевины и креатинина. Биохимические показатели в сыворотке крови и моче определяли на автоматическом биохимическом анализаторе BS-380 «Mindray» с использованием стандартных наборов реагентов «DiaSys», «Ольвекс диагностикум». Присутствие в моче белка, лейкоцитов, эритроцитов определяли с помощью диагностических полосок на анализаторе мочи CL-50 НТИ (High Technology, США).

Изучение гепатопротекторного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД проводили на модели поражения печени парацетамолом [Венгеровский А.И., 2005]. В качестве препарата сравнения использовали легалон, который вводили перорально в рекомендованной для силибинина дозе 100 мг/кг [Мионов А.Н. и соавт., 2012]. В сыворотке крови определяли маркеры белкового (общий белок, альбумины, глобулины и активность холинэстеразы), углеводного (содержание глюкоза) и липидного (концентрации ТРГ и холестерина) обменов, синдрома холестаза (содержание общего билирубина и его фракций: прямого и непрямого билирубина, активностей γ-ГТ и ЩФ), синдрома цитолиза (активностей ЛДГ, АлАт, АсАт). Для оценки степени жировой дистрофии в гомогенатах печени определяли содержание ТРГ.

Изучение гепатонепрозащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД проводили на фоне сочетанного поражения печени и почек циклофосфаном [Харитонов Ю.В., 2009]. Эффективность гепатонепрозащитного действия оценивали по степени нормализации биохимических и функциональных маркеров основных патосиндромов поражения печени и почек, а также по гистоморфологической картине этих органов. Патоморфологическое исследование печени и почек крыс проводили под руководством кандидата медицинских наук, доцента кафедры морфологии и патологии Ю.А. Огурцова.

Для оценки восстановления про-антиоксидантного равновесия изучали влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при действии различных токсикантов в сравнении с урокамом и легалоном на интенсивность ПОЛ: в гомогенате почек и печени определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК); в постъядерной фракции (ПЯФ) - измеряли интенсивность Fe²⁺-аскорбат индуцированного ПОЛ, и на эффективность системы антиоксидантной защиты (АОЗ) путём определения активностей каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатион-S-трансферазы (Г-S-T), глутатионпероксидазы (ГП), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) в ПЯФ печени и почек и содержанию глутатиона восстановленного (GSH) в этих органах. Для оценки про-антиоксидантного равновесия рассчитывали коэффициент окислительного стресса по формуле:

$$K = \frac{\text{прооксиданты (ДК} \times \text{Fe}^{2+}\text{-аскорбатзависимое ПОЛ)}}{\text{антиоксиданты (СОД} \times \text{каталаза} \times \text{ГП} \times \text{Г-S-T} \times \text{Г-6-ФДГ} \times \text{GSH)}} ,$$

где K - коэффициент окислительного стресса; прооксиданты – произведение показателей ПОЛ, выраженных в относительных единицах к норме; антиоксиданты – произведение показателей АОС, выраженных в относительных единицах к норме [Доркина Е.Г., 2010].

Проводили изучение влияния курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на морфофункциональное состояние печени и почек, интенсивность ПОЛ и показатели АОЗ у здоровых животных. В течение 14 дней опытные животные получали СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг перорально в виде водной суспензии, СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг внутрибрюшинно. В качестве контролей служили группы животных, которым внутрибрюшинно вводили эквивалентное количество воды перорально (контроль 1), внутрибрюшинно (контроль 2) 2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг внутрибрюшинно (контроль 3). В качестве вещества сравнения использовали кверцетин, который вводили в терапевтической дозе 85 мг/кг по той же схеме, что и исследуемые соединения. В гомогенатах и ПЯФ печени и почек крыс, получавших кверцетин, определяли показатели ПОЛ (интенсивность Fe²⁺-аскорбатиндуцированного ПОЛ, содержание ДК) и АОС (содержание GSH, активности Г-S-T, Г-6-ФДГ, каталазы, ГП, СОД).

Фармакокинетику байкалина изучали у крыс на кафедре фармацевтической и токсикологической химии под руководством доцента, к.ф.н., Ремезовой И.П. Забор проб крови и образцов печени и почек проводили через 10, 20, 30 минут и через 1, 2, 4, 6, 8 и 10 часов после внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг, а также через 15, 30 минут и через 1, 2, 4, 6, 8 и 10 часов после перорального введения СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг. Обнаружение и количественное определение байкалина в извлечениях проводили методом ВЭЖХ на приборе «Миллихром А-02».

Антиоксидантное действие байкалина было изучено в сравнении с кверцетином *in vitro* на модели Fe²⁺-индуцированного ПОЛ в липосомальной системе, полученной на основе фосфатидилхолина [Мельянцева Л.П. и соавт., 1994]. Мембраностабилизирующее действие байкалина

определяли в сравнении с кверцетином и α -токоферолом по В.Б. Спиричеву и Н.В. Блажевич [Строев Е.А., Макарова В.Г., 1986]. Расчет величины IC_{50} выполнен с использованием метода регрессионного анализа в программе Microsoft Excel (пакет Office 2007, Microsoft, США).

Результаты экспериментов обрабатывали методом вариационной статистики. Для количественных показателей вычисляли среднее арифметическое значение (M), стандартную ошибку (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 и тест Манна-Уитни. Для многопараметровых исследований статистическая обработка результатов проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа, поправки Бонферрони и теста Ньюмана-Кейлса в случае нормального распределения данных [Савилов Е.Д., 2011, Новиков Д.А., 2005, Кочетов А.Г., 2012, Платонов А.Е., 2000]. Для выявления взаимосвязи между эффектами рассчитывали коэффициенты корреляции. Расчет и статистическая обработка экспериментальных данных выполнялись с использованием программ Statistica 6.0, StatPlus 2009, Microsoft Office Excel 2007.

Глава 3 Определение среднелетальной и оптимальных терапевтических доз сухого экстракта шлемника байкальского и его водорастворимой формы

В результате проведенных исследований было установлено, что LD_{50} СЭ ШБ при пероральном применении составляет 16 452 мг/кг, что соответствует IV классу – малотоксичные вещества, а LD_{50} СЭ-2-ГП- β -ЦД при внутрибрюшинном введении составляет 366 мг/кг, что соответствует III классу – умеренно токсичные вещества, согласно классификации ГОСТ 12.1.007–76 [Березовская И.В., 2003]. При определении LD_{50} 2-ГП- β -ЦД установлено, что данное соединение при внутрибрюшинном способе введения также можно отнести к IV классу – малотоксичные вещества, так как рассчитанная доза LD_{50} составляет 1995 мг/кг.

Установлено, что при лечебно-профилактическом введении СЭ ШБ в дозах 50, 100, 300 и 500 мг/кг и СЭ-2-ГП- β -ЦД в дозах 5, 15 и 25 мг/кг на фоне поражения печени тетрахлорметаном и почек хлоридом ртути (II) по степени нормализации биохимических и функциональных маркеров, коэффициентам гепато- и нефропротекции и проценту выживших животных оптимальной терапевтической дозой СЭ ШБ является доза 300 мг/кг, а СЭ-2-ГП- β -ЦД- доза 15 мг/кг.

Проведенные фармакокинетические исследования показали (рисунок 1), что изменение концентрации байкалина в сыворотке крови при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП- β -ЦД имеет двухфазный характер в отличие от перорального введения СЭ ШБ, причем второй пик повышения концентрации после внутрибрюшинного введения совпадает с максимумом, который достигается через 6 часов после перорального введения. При этом максимальная концентрация байкалина при введении СЭ ШБ достоверно выше на 60%, чем при введении СЭ-2-ГП- β -ЦД, но затем после достижения пика наблюдается ее более быстрое снижение по сравнению с

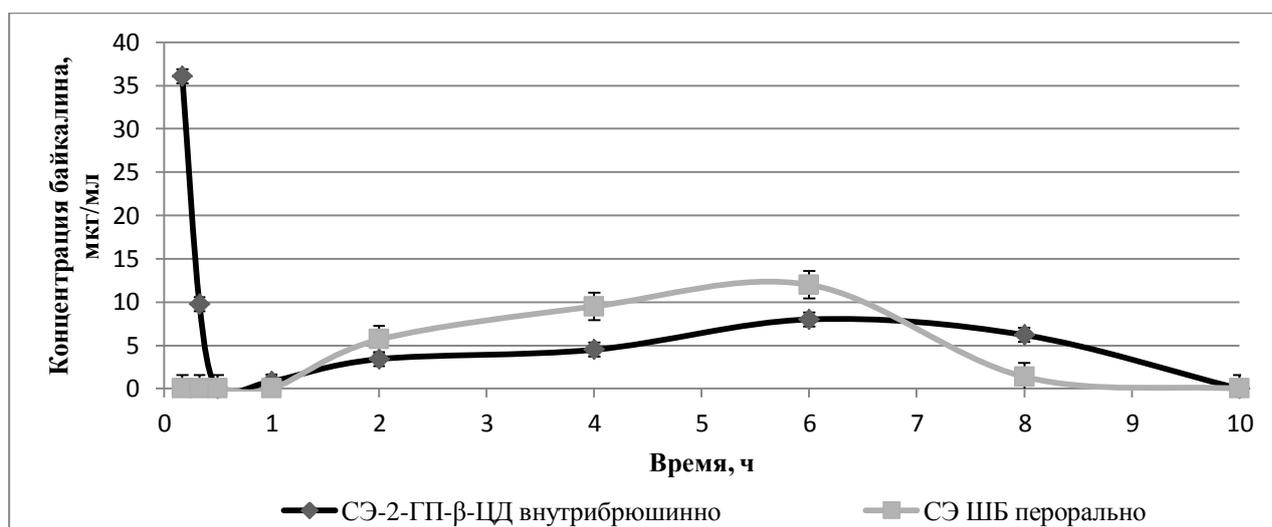


Рисунок 1 - Концентрация байкалина в сыворотке крови крыс при пероральном введении СЭ ШБ и при внутривнутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД

внутрибрюшинным введением, когда более высокие концентрации поддерживаются более длительный период времени (с 7 до 10 часов). Площади под фармакокинетической кривой «концентрация-время» при обоих способах введения ($56,6 \pm 6,42$ и $47,4 \pm 3,92$ мкг*ч/мл) существенно не различаются, хотя используемая доза при внутривнутрибрюшинном введении в 20 раз меньше. Максимальная концентрация байкалина в печени, которая достигается после внутривнутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД через 4 часа, почти в 2 раза выше его максимальной концентрации в этом органе через 6 часов после перорального введения СЭ ШБ. В почках создаются практически равные концентрации байкалина после внутривнутрибрюшинного и перорального введения исследуемых субстанций через 8 часов, несмотря на существенные различия в оптимальных терапевтических дозах СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Таким образом, эффективные концентрации байкалина в крови и тканях после внутривнутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД достигаются при его применении в значительно меньшей дозе, чем СЭ ШБ, per os. Кроме того, более медленная элиминация байкалина из крови и печени позволяет сделать заключение о наличии определенной пролонгированности действия СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Глава 4 Сравнительное изучение нефрозащитного действия сухого экстракта шлемника байкальского, его водорастворимой формы и урокама на экспериментальной модели поражения почек хлоридом ртути (II)

При токсическом поражении почек хлоридом ртути (II) наблюдается развитие азотемического (повышение содержания в крови мочевины на 291% и креатинина на 62% со снижением их в моче на 34% и 63%), нефротического (снижение в крови белка, альбуминов и глобулинов на 27%, 42% и 24%) и мочевого (появление белка и эритроцитов в моче, повышение лейкоцитов в 38 раз) патосиндромов со снижением диуреза (на 54%), фильтрующей способности по-

чек (на 89%), увеличением их весового индекса (на 49% и 32%), нарушением электролитного состава крови со значительными дистрофическими и структурными изменениями, выявленными на гистологических срезах в корковом и мозговом слое почек, что сопровождалось активацией ПОЛ (повышение ДК в 6 раз и накопления МДА в 2,1 раза) и снижением активности системы АОЗ (каталазы- на 24%, СОД- на 63%, Г-6-ФДГ - на 47%, ГП- на 31%, Г-S-T- на 70%, GSH- на 53%). Как видно из представленных в таблице 1 результатов по восстановлению пока-

Таблица 1

Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама на восстановление показателей основных патосиндромов при повреждении почек хлоридом ртути (II) у крыс

Испытуемые вещества и препарат, доза	Показатели функционального состояния почек					
	Показатели азотемического синдрома (мочевина, креатинин в моче, мочевины, креатинин в сыворотке крови, СКФ)	Электролитный состав крови (калий, натрий, фосфор, кальций)	Показатели нефротического синдрома (общий белок, альбумины, глобулины в крови)	Показатели мочевого синдрома (белок, эритроциты и лейкоциты в моче)	Диурез	Весовой индекс почек (левой и правой почек)
СЭ ШБ, 300 мг/кг	+++ ±	±±±±	+ ± +	+++	+	++
% нефропротекции	91±8,9%	66±8,2%	91±2,1%	93±1,9%	92%	81±15,1%
СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг	++ ± + +	± ± ± ±	+ ± +	+++	+	++
% нефропротекции	89±6,7%	56±10,5%	97±2,5%	92±5,3%	86%	77±5,8%
Урокама, 1,25мл/кг	- - ± + ±	± - ± ±	± - ±	+++	±	++
% нефропротекции	49±17,3%	39±11,2%	48±8,6%	82±3,6%	54%	68±4,2%

Примечания: «+» - полная нормализация показателя (отсутствие достоверных отличий по сравнению с интактными животными, P>0,1), «±» - неполная нормализация (имеются достоверные отличия по сравнению с интактными и животными патологического контроля, P<0,05), «-» - отсутствие эффекта (отсутствие достоверных отличий по сравнению с животными патологического контроля, P> 0,1)

зателей основных патосиндромов при применении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама на фоне введения хлорида ртути (II), изучаемые субстанции и препарат сравнения в равной степени препятствуют развитию мочевого синдрома и снижению весового индекса почек, но проявляют более выраженное действие, чем урокам в отношении устранения азотемического и нефротического синдромов, восстановления диуреза и электролитного состава крови.

При этом достоверной разницы в эффективности действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД по нормализации показателей всех патосиндромов не выявлено. По рассчитанному среднему коэффициенту нефропротекции с учетом нормализации всех показателей основных патосиндромов СЭ ШБ (86±5,7%) и СЭ-2-ГП-β-ЦД (83±8,1%) обладают равнозначной эффективностью нефрозащитного действия, которая достоверно превышает действие урокама (57±5,8%) в 1,5 раза, что подтверждается гистоморфологической картиной почек. Процент канальцев мозгово-

го вещества почек, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества, у крыс, которые получали СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокам составляет соответственно 33%±5,2%, 38%±6,4% и 64%±4,8%.

При введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на фоне применения хлорида ртути показатели, отражающие интенсивность ПОЛ, активности каталазы и СОД, а также содержание GSH полностью нормализовались, а подъем активностей Г-S-T (+416%) у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, и Г-6-ФДГ у животных, получавших СЭ ШБ (+197%), СЭ-2-ГП-β-ЦД (+171%) и урокам (+213%) был настолько значителен, что превышал таковые активности у здоровых животных. У группы крыс, получавшей урокам, активность Г-S-T повышалась в меньшей мере (+124%), чем в других опытных группах, и достоверно отличалась от нормы. Под влиянием урокама также не наблюдалось полной нормализации интенсивности ПОЛ.

Глава 5 Сравнительное изучение гепатозащитного действия сухого экстракта шлемника байкальского, его водорастворимой формы и легалона при поражении печени парацетамолом

При токсическом поражении печени парацетамолом наблюдается развитие цитолиза (повышение АлАт на 699%, АсАт на 201%), холестаза (увеличение ЩФ и ОБ на 101% и 307%), нарушение белково-синтетической функции печени, накопление в ней триглицеридов (на 336%) с выраженной гидропической дистрофией и развитием фокального колликвационного некроза, выявляемых на гистологической картине печени (процент некроза - 7,0±0,1%). Кроме того, выявляется сдвиг про/антиоксидантного равновесия в сторону усиления ПОЛ: увеличение ДК на 324% и снижение активностей каталазы, СОД и Г-S-T на 36%, 53% и 65% соответственно, уровня GSH - на 65%. Как видно из представленных в таблице 2 результатов по восстановлению при применении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона маркеров основных патосиндромов

Таблица 2

Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона на восстановление показателей основных патологических синдромов при повреждении печени парацетамолом у крыс

Испытуемые вещества и препараты, доза, мг/кг	Основные патологические синдромы повреждения печени			
	Цитолиз (ЛДГ, АлАт, АсАт)	Холестаз (ЩФ, γ-ГТ, ОБ, ПБ)	Печеночно-клеточная недостаточность	
			белково-синтетическая функция (общий белок, альбумины, ХЭ)	метаболическая функция (глюкоза сыв., ТРГ печени и ТРГ сыв., ХС сыв.)
СЭ ШБ, 300	± ± ±	± ± + ±	+ ± ±	+ ± ± ±
% гепатопротекции	78±2,1%	79±11,7%	69±11,8%	73±4,3%
СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15	± ± ±	± ± + ±	+ ± ±	+ ± ± ±
% гепатопротекции	70±8,8%	71±14,7%	61±13,8%	70±3,9%
Легалон, 100	± ± ±	± ± ± ±	+ ± ±	+ ± ± ±
% гепатопротекции	63±9,5%	60±13,6%	64±4,1%	74±5,3%

Примечания: «+» - полная нормализация показателя (отсутствие достоверных отличий по сравнению с интактными животными, P>0,1), «±» - неполная нормализация (имеются достоверные отличия по сравнению с интактными и животными патологического контроля, P<0,05)

поражения печени парацетамолом, исследуемые субстанции в большей степени, чем легалон предотвращают *развитие холестаза*, поскольку наряду со снижением активности ЩФ и γ -ГТ наблюдается уменьшение содержания ОБ соответственно на $77\pm 1,6\%$ и $74\pm 2,4\%$ по сравнению с патологическим контролем, что достоверно не отличается от такового у интактных крыс (т.е. отмечается полная нормализация), тогда как при введении легалона данный показатель снижается в меньшей степени - на $61\pm 2,6\%$, что достоверно отличается от нормы, т.е. отмечается его неполная нормализация, как и других маркеров холестаза.

В целом же, не выявлено достоверных различий среднего процента восстановления показателей всех изучаемых синдромов при введении СЭ ШБ ($75\pm 4,0\%$), СЭ-2-ГП- β -ЦД ($68\pm 5,0\%$) и легалона ($65\pm 4,2\%$), хотя легалон и имеет наименьшее значение данного коэффициента.

Исходя из гистоморфологической картины печени, можно сделать вывод о более выраженном гепатозащитном действии СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД, чем препарата сравнения на фоне поражения парацетамолом, поскольку при введении легалона сохраняются нарушения балочной структуры органа, более выраженные признаки гидропической дистрофии, имеется достоверно более высокий процент некротизированных гепатоцитов - $3,5\pm 0,42\%$ в сравнении с $1,8\pm 0,15\%$ - для СЭ ШБ и с $1,2\pm 0,11\%$ - для СЭ-2-ГП- β -ЦД.

При изучении ПОЛ и АОС было установлено, что на фоне поражения печени парацетамолом СЭ-2-ГП- β -ЦД более эффективно, чем СЭ ШБ и легалон восстанавливает показатели АОЗ, поскольку при его введении отмечается наиболее выраженный подъем активности Г-S-T (+355%) до значений, которые достоверно превышают норму.

При изучении биохимических маркеров состояния печени и почек, а также гистологической картины этих органов у животных после курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД не выявлено их достоверных отличий от соответствующих контролей и нормы, что позволяет продемонстрировать отсутствие отрицательного воздействия исследуемых субстанций на здоровые печень и почки, что является необходимым условием для препаратов, перспективных в плане разработки гепатопротекторов и нефропротекторов.

Глава 6 Сравнительное изучение гепатонепрозоащитного действия сухого экстракта шлемника байкальского, его водорастворимой формы, легалона и урокама при сочетанном поражении печени и почек циклофосфаном

Установлено, что введение циклофосфана вызывает развитие синдромов цитолиза (повышение АлАт на 39%), холестаза (увеличение ЩФ и ОБ на 21% и на 45%), с накоплением ТРГ в печени (повышение на 277%), что свидетельствует о *поражении печени*. Кроме того, регистрируется развитие азотемического (повышение креатинина в крови на 32%, в моче на 49%, мочевины в крови – на 41%, снижение СКФ на 43%), нефротического синдромов (уменьшение

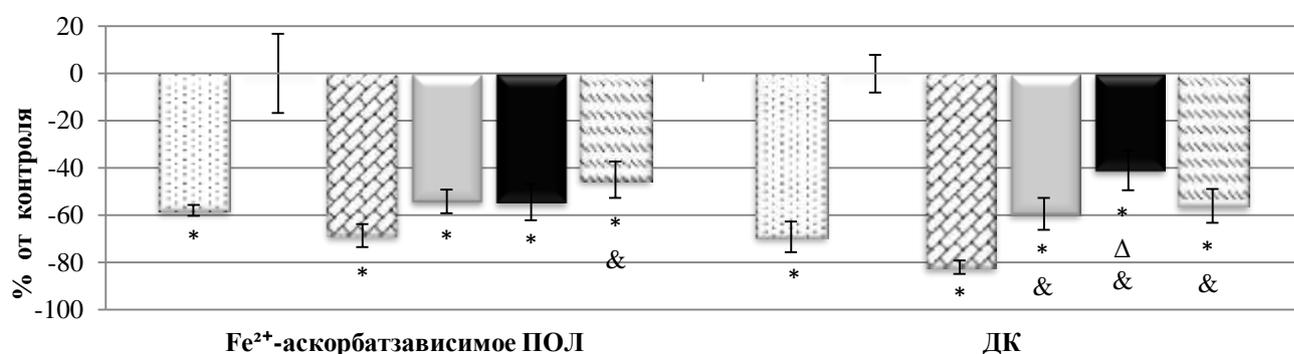
содержания белка на 14%, альбуминов на 19%, глобулинов на 18%) и снижение диуреза (на 27%), что указывает на *поражение почек* и подтверждается наличием на гистологических срезах печени и почек значительных дистрофических и структурных изменений в этих органах. Одновременно наблюдается нарушение про-антиоксидантного равновесия и развитие окислительного стресса в печени и почках: повышается содержание ДК (на 225% и 296%) и интенсивность Fe^{2+} -аскорбатзависимого ПОЛ (на 138% и 150%) и снижаются активности Г-6-ФДГ (на 43% и 62%), Г-S-T (на 43% и 56%), ГП (на 41% и 26%), СОД (на 49% и 55%) и каталазы (на 55% и 33%), а также количество GSH (на 63% и 34%) .

Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозах 300 мг/кг и 15 мг/кг соответственно на фоне введения циклофосфана у крыс оказывает выраженное гепатопротективное действие. Коэффициенты гепатопротекции, рассчитанные для СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, легалона и урокама с учетом восстановления всех изученных показателей основных патосиндромов составляют $94 \pm 5,5\%$, $95 \pm 4,9\%$, $86 \pm 7,5\%$ и $80 \pm 7,7\%$ соответственно и достоверно не отличаются между собой. В то же время урокам в меньшей степени, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД способствует восстановлению содержания общего билирубина и его фракций в сыворотке крови, ТРГ и гликогена в печени. Применение легалона приводит к нормализации практически всех изученных показателей, но не влияет на гликогенсинтезирующую функцию печени и полностью не предотвращает развитие жировой дистрофии (содержание ТРГ в печени остается в 1,8 раза выше нормы). На гистологической картине печени наибольший процент некротизированных гепатоцитов выявляется у крыс, получавших урокам ($2,35 \pm 0,28\%$), чем у животных, получавших легалон ($1,8 \pm 0,15\%$), СЭ ШБ ($0,72 \pm 0,08\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($0,60 \pm 0,07\%$). Наиболее приближена к интактной группе гистологическая картина печени крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД.

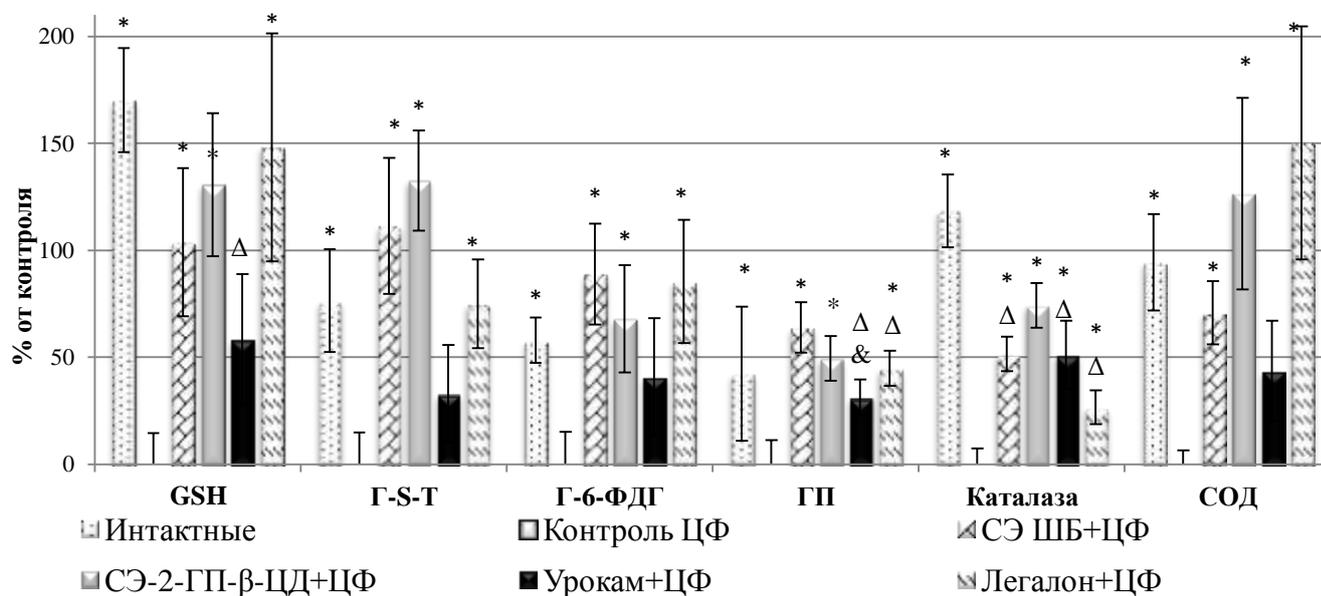
Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозах 300 мг/кг и 15 мг/кг соответственно на фоне введения циклофосфана у крыс оказывает выраженное нефропротективное действие сравнимое с таковым урокама по коэффициентам нефропротекции: $95 \pm 4,3\%$, $85 \pm 2,8\%$ и $77 \pm 5,4\%$ соответственно, но более эффективное, чем при использовании легалона ($51 \pm 10,5\%$). Легалон в меньшей степени, чем СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокам препятствует развитию азотонемического синдрома и нормализует диурез. Изучение гистологической картины подтверждает меньшую эффективность легалона: процент канальцев почек, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества, у крыс, леченных легалоном, составляет $51 \pm 3,8\%$, тогда как у крыс, которые получали урокам $-43 \pm 4,2\%$, а у животных, леченных СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, канальцев, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества, не обнаружено. Гистологическая картина почек наиболее приближена к интактной группе у крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на фоне введения ЦФ приводит к нормализации почти всех исследованных показателей ПОЛ и АОЗ, как в печени (рисунок 2), так и в почках (рисунок 3). У животных, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД наблюдается достоверное снижение содержания ДК по сравнению с контрольной группой крыс (на 82% и 59%), уменьшение интенсивности Fe²⁺-аскорбатзависимого ПОЛ (на 70% и 54%), а также полная нормализация активностей почти всех ферментов АОЗ и содержания GSH. При этом при введении СЭ-2-ГП-β-ЦД также полностью восстанавливается и активность каталазы, в отличие от применения СЭ ШБ, когда активность данного фермента хотя и повышается, но остается достоверно более низкой, чем в норме. При введении легалона в печени полностью нормализуются показатели ПОЛ и восстанавливаются активности всех АО ферментов,

Показатели ПОЛ



Показатели АОС



P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса)

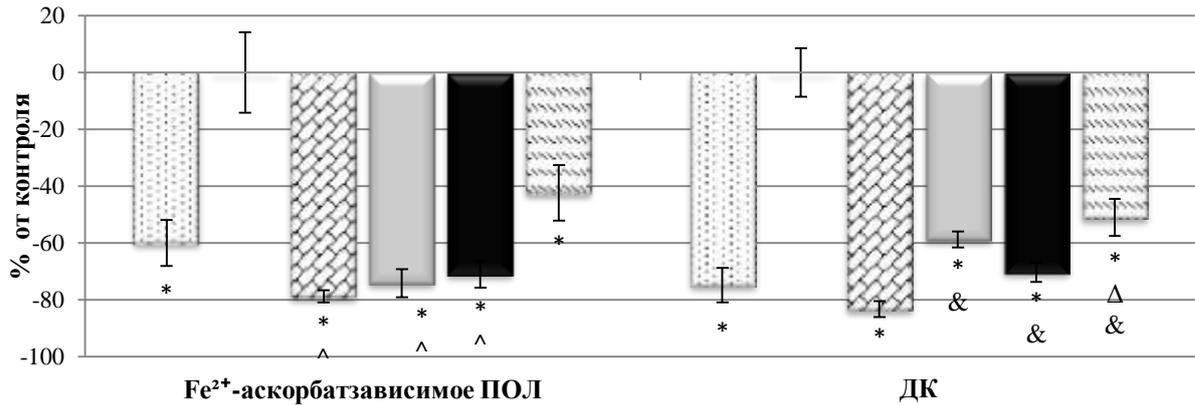
*- достоверно по отношению к контролю;

Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

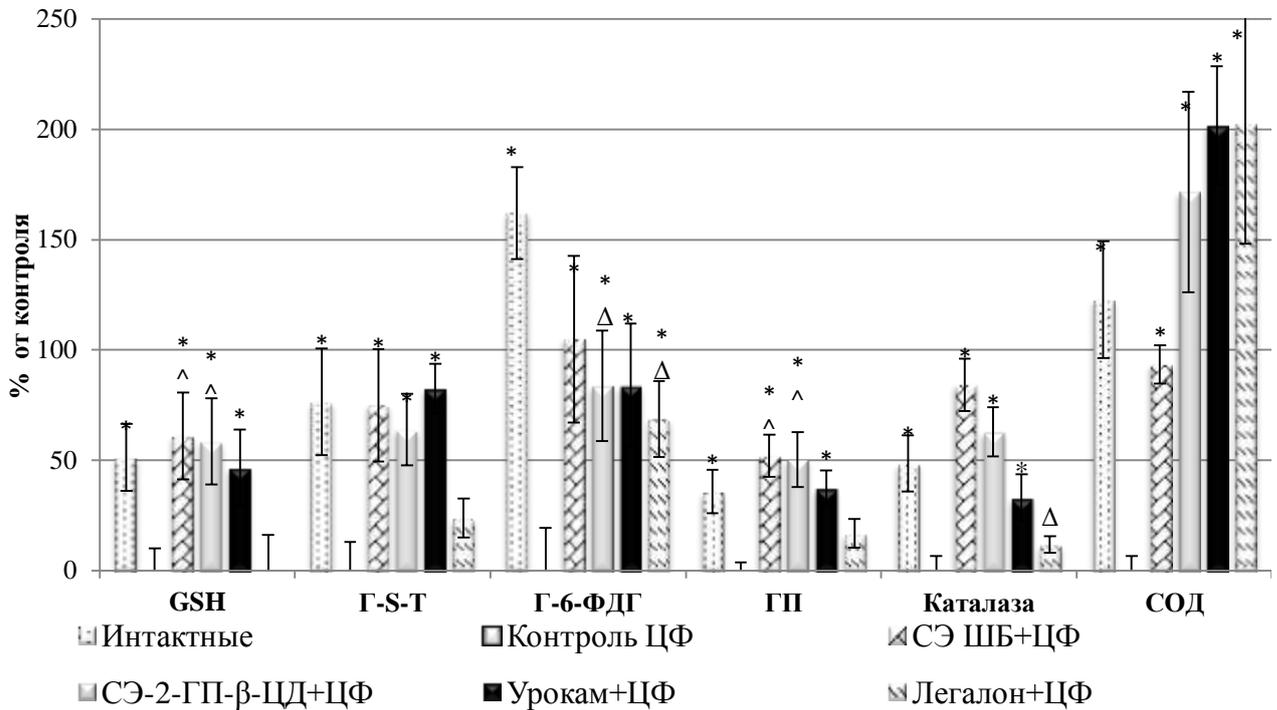
& - достоверно по отношению к животным, получавшим СЭ ШБ

Рисунок 2 -Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на систему ПОЛ/АОС печени на фоне введения циклофосфана

Показатели ПОЛ



Показатели АОС



P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса)

* - достоверно по отношению к контрольным животным;

Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

& - достоверно по отношению к животным, получавшим СЭ ШБ;

^ - достоверно по отношению к животным, получавшим легалон.

Рисунок 3 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на систему ПОЛ/АОС почек на фоне введения циклофосфана у крыс

лишь активности каталазы и ГП достоверно отличаются от нормы (-42% и -15%), но в почках этого не наблюдается: не повышается содержание GSH, активности Г-S-T и ГП, не полностью нормализуются активности СОД, каталазы и содержание ДК. Напротив, при введении урокама в почках все исследуемые показатели ПОЛ и АОС достоверно не отличаются от нормы, а в печени ряд показателей (активности СОД, Г-S-T, Г-6-ФДГ, ГП и содержание GSH) либо вообще

не изменяются по сравнению с патологическим контролем, либо не полностью восстанавливаются - ДК (на 93% выше нормы) и активность каталазы (на 30% ниже нормы).

Для интегральной оценки восстановления равновесия в системе про-антиоксиданты, был рассчитан коэффициент окислительного стресса (как отношение произведения показателей ПОЛ к произведению показателей АОС, выраженных в относительных единицах к норме). При применении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на фоне введения ЦФ в печени этот коэффициент был наиболее приближен к 1 (СЭ ШБ - 0,7, СЭ-2-ГП-β-ЦД- 1,4). Использование легалона также привело к значительному снижению коэффициента окислительного стресса до 2,8, но в меньшей степени, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД. При применении урокама этот показатель был равен 13,8, что почти в 6 раз выше, чем для СЭ ШБ (таблица 3).

Таблица 3

Значения коэффициента окислительного стресса при поражении печени циклофосфаном и при введении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона

Группы животных	Прооксиданты (ПОЛ x ДК), в отн.ед. к норме	Антиоксиданты (каталаза x СОД x GSH x Г-S-T x ГП x Гл-6-ФДГ), в отн.ед. к норме	К _{про/антиоксиданты}
Интактные	1	1	1
Контроль (ЦФ)	7,74	0,017	455
СЭ ШБ 300мг/кг + ЦФ	0,42	0,63	0,7
СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг+ЦФ	1,44	1,02	1,4
Урокам 1,25 мл/кг + ЦФ	2,08	0,15	13,8
Легалон 100 мг/кг + ЦФ	1,88	0,66	2,8

В почках наиболее эффективное восстановление баланса в системе ПОЛ/АОС выявлено при применении СЭ ШБ-2-ГП-β-ЦД и урокама, когда коэффициенты окислительного стресса были практически равны 1. У животных, получавших легалон, этот коэффициент был выше, чем в данных группах, в 10 раз (таблица 4).

Таблица 4

Значения коэффициента окислительного стресса при поражении почек циклофосфаном при введении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона

Группы животных	Прооксиданты (ПОЛ x ДК), в отн.ед. к норме	Антиоксиданты (каталаза x СОД x GSH x Г-S-T x ГП x Гл-6-ФДГ), в отн.ед. к норме	К _{про/антиоксиданты}
Интактные	1	1	1
Контроль (ЦФ)	9,9	0,031	319
СЭ ШБ 300мг/кг + ЦФ	0,36	0,73	0,5
СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг+ЦФ	0,95	0,99	0,96
Урокам 1,25 мл/кг + ЦФ	0,84	0,86	0,97
Легалон 100 мг/кг + ЦФ	2,8	0,26	10,7

Для обоснования значения восстановления про-антиоксидантного равновесия в механизмах гепато- и нефропротекторного действия были рассчитаны коэффициенты корреляции

между % гепато- и нефропротекции и соответствующими коэффициентами окислительного стресса. Рассчитанные коэффициенты оказались равными -0,97– для печени и -0,96 - для почек.

В связи с этим, можно сказать, что установленная тесная обратная корреляция между выраженностью защитного действия и коэффициентом окислительного стресса свидетельствует о важном значении восстановления баланса в системе про-антиоксиданты в механизмах гепато- и нефрозащитного действия.

Глава 7 Изучение антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия байкалина и влияния курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД здоровым животным на перекисное окисление липидов и систему антиоксидантной защиты в печени и почках

На основании исследований, проведенных в модельных системах *in vitro*, было установлено, что основной компонент СЭ ШБ байкалин, относящийся к флавонам, обладает антиоксидантной активностью в липосомальной системе при Fe^{2+} - индуцированном ПОЛ сравнимой с таковой кверцетина: $IC_{50} 21,7 \times 10^{-6}$ М и $35,8 \times 10^{-6}$ М соответственно, а также байкалин обладает мембраностабилизирующим действием, которое сравнимо с действием кверцетина и α-токоферола по торможению перекисного гемолиза эритроцитов: $IC_{50} - 6,8 \times 10^{-5}$ М, $9,7 \times 10^{-5}$ М и $11,9 \times 10^{-5}$ М соответственно.

Исследование состояния системы ПОЛ/АОЗ *in vivo* показало, что в организме животных при введении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД регистрируется *снижение интенсивности ПОЛ в печени и почках и повышение содержания GSH в печени* (на 40% и 51% соответственно). Подавление накопления продуктов ПОЛ при введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД является, скорее всего, следствием прямого антиоксидантного действия байкалина, входящего в состав СЭ ШБ, в условиях *in vivo*. Подобные изменения наблюдаются и при введении кверцетина, антиоксидантные свойства которого хорошо изучены и доказаны. Увеличение уровня GSH в печени вносит значительный вклад в повышение устойчивости к действию факторов, вызывающих окислительный стресс и некроз, поскольку позволяет обеспечить достаточно эффективную защиту от пагубного действия пероксида водорода, липоперекисей и инактивацию разнообразных ксенобиотиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение оптимальных терапевтических доз СЭ ШБ и его водорастворимой формы, полученной при использовании 2-ГП-β-ЦД, проведенное на классических моделях поражения печени и почек, показало, что доза СЭ-2-ГП-β-ЦД, при которой наблюдается наиболее выраженное гепато-и нефрозащитное действие, в 20 раз ниже, чем доза СЭ ШБ (15 и 300 мг/кг соответственно). Фармакокинетические исследования выявили, что при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг обеспечивается создание практически *таких же концентраций байкалина в органах-мишенях - печени и почках*, что и при пероральном введении СЭ ШБ.

При токсическом поражении почек хлоридом ртути (II) СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД оказывают в установленных терапевтических дозах выраженное и равное по эффективности нефрозащитное действие, которое по коэффициенту нефропротекции достоверно превышает действие урокама в 1,5 раза, что подтверждается гистологической картиной органа.

Изучение гепатозащитной активности СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения печени парацетамолом в сравнении с легалоном в оптимальных терапевтических дозах (300, 15 и 100 мг/кг соответственно) выявило, что по коэффициенту гепатопротекции с учетом биохимических маркеров основных патосиндромов данные субстанции обладают одинаковой выраженностью гепатозащитного действия, которая сравнима с таковой легалона, но они в большей степени предупреждают развитие холестаза и нормализуют гистоморфологические показатели.

При *сочетанном поражении печени и почек*, вызванном циклофосфаном, применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозах 300 мг/кг и 15 мг/кг оказывает *выраженное гепато- и нефрозащитное действие*. Рассчитанные коэффициенты *гепатопротекции* СЭ ШБ ($94 \pm 5,5\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($95 \pm 4,9\%$) с учетом нормализации всех биохимических показателей достоверно не отличаются от таковых у легалона ($86 \pm 7,5\%$) и урокама ($80 \pm 7,7\%$), а *коэффициент нефропротекции* СЭ ШБ ($95 \pm 4,3\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($85 \pm 2,8\%$) сравним с таковым урокама ($77 \pm 5,4\%$), но достоверно выше, чем у легалона ($51 \pm 10,5\%$) в 1,5-1,7 раза. При этом гистологическая картина печени и почек наиболее приближена к интактной группе у крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД.

В механизмах гепато- и нефрозащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД большое значение имеет преодоление окислительного стресса, развивающегося при действии токсикантов, и восстановление нарушенного про-антиоксидантного равновесия, на что указывает наличие тесной обратной корреляции *между коэффициентами гепато-нефропротекции и коэффициентами окислительного стресса*. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД эффективно восстанавливают про-антиоксидантное равновесие *одновременно в обоих органах* и обеспечивают их *равнозначно выраженную* защиту, в то время как урокам *более эффективно* препятствует развитию *окислительного стресса в почках*, чем в печени, а легалон – наоборот - в печени, чем в почках, т.е. можно сказать, что исследуемые субстанции являются *гепатонепфропротекторами*. Наши результаты свидетельствуют, что в восстановление баланса в системе про-антиоксиданты под влиянием СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД вносят вклад *собственная антиоксидантная активность байкалина, его мембраностабилизирующее действие* и потенцирование *глутатионового звена системы АОЗ*.

Наличие выраженной гепато- и нефрозащитной активности СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, выявленное на экспериментальных моделях поражения печени и почек при их пероральном и внутрибрюшинном введениях, в большинстве случаев – равнозначную, но по некоторым параметрам более высокую при внутрибрюшинном введении, а также превышающую действие эта-

лонных гепато- и нефропротекторов, свидетельствует о перспективности создания различных лекарственных форм на основе СЭ ШБ и их дальнейшего доклинического изучения в качестве препаратов для одновременной терапии заболеваний печени и почек

ВЫВОДЫ

1. Эффективными дозами СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при их испытании в качестве гепато-и нефропротекторов на моделях поражения печени тетрахлорметаном и поражения почек хлоридом ртути (II) по степени восстановления биохимических показателей и проценту выживших животных являются соответственно дозы 300 мг/кг и 15 мг/кг, что составляет 1/55 и 1/25 от LD₅₀.
2. После внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг максимальная концентрация байкалина в сыворотке крови наблюдается через 10 мин и 6 часов (36,1±2,99 и 7,3 ±0,18 мкг/мл), а после перорального введения СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг – через 6 часов (11,7±0,44 мкг/мл). Максимальная концентрация байкалина в печени и почках после внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД достигается через 4 и 8 часов и составляет 8,1±0,74 и 2,8±0,25 мкг/г, а после перорального введения СЭ ШБ - через 6 и 8 часов и составляет 4,5±0,52 и 2,1±0,21 мкг/г.
3. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения почек хлоридом ртути (II) по коэффициенту нефропротекции с учетом нормализации всех показателей основных патосиндромов проявляют равнозначное (86±5,7% и 83±8,1%), но в 1,5 раза достоверно более выраженное, чем у препарата сравнения урокама (57±5,8%) нефрозащитное действие, что подтверждается гистологической картиной почек. Урокам значительно уступает СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД по устранению азотемического и нефротического синдромов, восстановлению электролитного состава крови и нормализации диуреза.
4. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при поражении печени парацетамолом по коэффициенту гепатопротекции с учетом нормализации всех показателей основных патосиндромов проявляют равнозначное (75±4,0% и 68±5,0%) и сопоставимое с препаратом сравнения легалон (65±4,2%) гепатозащитное действие. У животных, получавших легалон, более выражены признаки холестаза и выявляется достоверно более высокий процент некротизированных гепатоцитов на гистологической картине печени (3,5±0,42% в сравнении с 1,8± 0,15% и 1,2±0,11%).
5. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при сочетанном поражении печени и почек цитостатиком циклофосфаном одновременно проявляют выраженное нефрозащитное и гепатозащитное действие, которое по коэффициенту нефропротекции (95±4,3% и 85±2,8%) сопоставимо с урокамом (77 ±5,4%), но достоверно выше, чем у легалона (51± 10,5%) в 1,5 – 1,7 раза, а по коэффициенту гепатопротекции (94±5,5% и 95±4,9%) сопоставимо с урокамом (80±7,7%) и легалон (86±7,5%). Урокам в меньшей степени, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, препятствует развитию

синдрома холестаза, жировой дистрофии печени и нормализует метаболическую функцию печени. Легалон в наименьшей степени восстанавливает диурез, содержание креатинина в моче, не влияет на гликогенсинтезирующую функцию печени и полностью не предотвращает развитие жировой дистрофии. Наибольший процент некротизированных гепатоцитов выявляется у крыс, получавших урокам ($2,35 \pm 0,28\%$), чем у животных, получавших легалон ($1,8 \pm 0,15\%$), СЭ ШБ ($0,72 \pm 0,08\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($0,60 \pm 0,07\%$). Гистологическая картина печени и почек в наибольшей степени приближена к интактной группе у крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД.

6. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД препятствуют развитию окислительного стресса при воздействии различных токсических агентов (хлорид ртути, парацетамол, циклофосфан), повреждающих печень и почки, снижают интенсивность ПОЛ и повышают эффективность эндогенной системы АОЗ, особенно глутатионового звена (Г-6-ФДГ и Г-S-T), более эффективно, чем препараты сравнения легалон, урокам. СЭ-2-ГП-β-ЦД в большей степени, чем СЭ ШБ повышает активность Г-S-T в печени и почках на фоне введения парацетамола и хлорида ртути (II) и более эффективен в отношении нормализации активности каталазы в печени на фоне введения циклофосфана.

7. Байкалин снижает интенсивность Fe^{2+} - индуцированного ПОЛ в липосомальной системе *in vitro*, что сравнимо с таковым действием кверцетина ($IC_{50} 21,7 \cdot 10^{-6} M$ и $35,8 \cdot 10^{-6} M$), а также вызывает торможение перекисного гемолиза эритроцитов практически в той же степени, что кверцетин и α-токоферол ($IC_{50} 6,8 \times 10^{-5} M$, $9,7 \times 10^{-5} M$ и $11,9 \times 10^{-5} M$). Курсовое введение СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и кверцетина здоровым животным в терапевтических дозах снижает интенсивность ПОЛ в печени и почках *in vivo* и повышает содержание GSH в печени.

8. В механизмах гепато- и нефрозащитного действия важное значение имеет восстановление баланса в системе про-/антиоксиданты и стабилизация мембран за счет собственной антиоксидантной активности байкалина и стимуляции глутатионовой системы антиоксидантной защиты в печени и почках.

9. Высокая эффективность гепато-и нефрозащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, связанная с влиянием на основные патогенетические звенья поражения печени и почек, сопоставимая или превышающая эффективность эталонных гепато- и нефропротекторов, позволяет рекомендовать их для дальнейшего углубленного доклинического изучения в качестве гепатонепропротекторов и разработки различных лекарственных форм, в том числе инъекционных и инфузионных растворов. Парентеральное введение СЭ ШБ позволяет обеспечить равнозначную эффективность при значительном снижении дозы по сравнению с пероральным применением, а по некоторым параметрам и увеличить выраженность гепато- и нефрозащитного действия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные свидетельствуют о выраженной гепатонепрофрозозащитной активности при пероральном и внутривенном введениях СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при действии различных токсикантов, что говорит о перспективности разработки на их основе различных форм лекарственных препаратов для одновременной терапии заболеваний печени и почек.

Высокая эффективность гепатонепрофрозозащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на фоне применения циклофосфана позволяют рекомендовать их дальнейшие исследования для разработки *препаратов сопровождения*, в том числе и инъекционных или инфузионных лекарственных форм, при противоопухолевой терапии циклофосфаном для снижения побочного действия на печень и почки.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Изучение нефропротекторного действия сухого экстракта из корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) и его комплекса включения с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином при интоксикации хлоридом ртути (II) / Е.Г.Доркина, **А.А.Потапова**, Е.О.Сергеева и др. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2013.- № 4 (48).- С. 107-109.
2. Влияние сухого экстракта из корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) на развитие окислительного стресса, вызванного циклофосфаном / **А.А.Потапова**, Е.Г.Доркина, Е.О.Сергеева и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6; URL: www.science-education.ru/113-11672.
3. Изучение влияния сухого экстракта из корней шлемника байкальского на функциональное состояние и гистоморфологические изменения почек при их экспериментальном поражении хлоридом ртути (II) / **А.А.Потапова**, Е.Г.Доркина, Е.О. Сергеева // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014.- Т.16.- №1(3). С.800-803.
4. Влияние курсового введения сухого экстракта шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) на показатели функционального состояния, интенсивность перекисного окисления липидов, антиоксидантную систему печени и почек у здоровых животных / **А.А. Потапова**, Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5; URL: www.science-education.ru/128-21951.
5. Влияние сухого экстракта из корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) на функциональное состояние печени и почек при их повреждении циклофосфаном в эксперименте / А.А. Потапова, Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева и др. // Известия Самарского научного центра РАН. – 2015.- Т.17, №5. С. 179-182.
6. Потапова А.А.Изучение фармакокинетики байкалина при различных способах введения сухого экстракта шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) / **А.А. Потапова**, Е.Г. Доркина, И.П. Ремезова // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6; URL: <http://www.science-education.ru/130-22875>.
7. Изучение мембраностабилизирующего и антиоксидантного действия байкалина / **А.А. Потапова**, Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева и др. // Современная наука и инновации.- 2016.- № 1(13). С. 148-152.

Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:

1. Сравнительное изучение гепатозащитного действия сухого экстракта из корней шлемника байкальского и его комплекса включения с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином /**А.А. Потапова**, Е.Г. Доркина, Л.И. Щербакова и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2013. – Вып. 68. – С.331 -334

2. Потапова А.А. Изучение нефропротекторного действия комплекса включения сухого экстракта из шлемника байкальского с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином / **А.А. Потапова** // Материалы 71-й открытой науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины». – 2013. - С.532-533.
3. Изучение гепато- и нефропротекторного действия сухого экстракта из шлемника байкальского и его комплекса включения с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином / Е.Г. Доркина, **А.А.Потапова**, Л.И. Щербакова и др. // Теоретические и практические аспекты современной медицины» г. Новосибирск Материалы межд. заочн. науч.-практ. конф., 2013. С.77-89.
4. Потапова, А.А. Исследование острой токсичности экстракта шлемника байкальского и комплекса включения с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином / **А.А. Потапова** // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр.– Пятигорск, 2014. – Вып. 69. – С. 293-295.
5. Изучение влияния сухого экстракта из шлемника байкальского и его комплекса включения с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином на про-антиоксидантное равновесие при поражении почек хлоридом ртути / Е.Г.Доркина, **А.А.Потапова**, Е.П.Парфентьева и др. // Актуальные вопросы науки. Материалы XI Межд. научн.-практ. конф. – 2013.- С.190-194.
6. Потапова А.А.Влияние сухого экстракта из шлемника байкальского на функциональное состояние почек у белых крыс при использовании циклофосфана / **А.А. Потапова** //Сб. материалов конф. Фармакологическая наука - от теории к практике Всероссийская научная Интернет-конференция с международным участием. Казань - 2014. - С. 72-73.
7. Потапова, А.А.Изучение нефро- и гепатозащитного действия сухого экстракта шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) при применении циклофосфана / **А.А. Потапова**, Е.Г. Доркина, С.Ю. Маширова // Международный Научный Институт "Educatio". – 2014. - № 3.- С.82-85.
8. Новикова, С.В.Изучение гепатопротекторного действия сухого экстракта шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) при поражении печени парацетамолом / С.В.Новикова, Т.Н.Полякова, **А.А.Потапова** // Материалы 72-й открытой науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины». – 2014. - С.602-603.
9. Изучение гепатопротекторного действия сухого экстракта шлемника байкальского при поражении ванкомицином / **А.А. Потапова**, Е.Г. Доркина, А.Ю. Терехов и др. // Фармация и фармакология. – 2015. - №1(8). - С.49-52.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

GSH - глутатион восстановленный	ПБ – прямой билирубин
γ-ГТ - γ-глутамилтрансфераза	ПОЛ – перекисное окисление липидов
АлАт – аланинаминотрансфераза	ПЯФ – постъядерная фракция
АОА – антиокислительная активность	СОД – супероксиддисмутаза
АОЗ - антиоксидантная защита	СЭ ШБ – сухой экстракт шлемника байкальского
АОС – антиоксидантная система	СЭ - 2-ГП-β-ЦД – водорастворимая форма
АсАт –аспартатаминотрансфераза	сухого экстракта шлемника байкальского с 2-
Г–6-ФДГ–глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	гидроксипропил-β-циклодекстрином
Г-S-T – глутатион-S-трансфераза	ТРГ – триглицериды
ГП – глутатионпероксидаза	ЦФ – циклофосфан
ДК – диеновые конъюгаты	ЩФ - щелочная фосфатаза
ОБ – общий билирубин	

ПОТАПОВА АННА АЛЕКСАНДРОВНА

**НЕФРО- И ГЕПАТОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ
ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО (SCUTELLARIA BAICALENSIS GEORGI)
И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ПРИ СОЧЕТАННЫХ
ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Подписано к печати __. __. 2017 г. Формат 60x84/16.
Бумага книжно-журнальная. Печать ротапунктная Усл. -печ. л. __.
Тираж 100 экз. Заказ __
Отпечатано в типографии