

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор биологических
наук, доцент
Доркина Елена Григорьевна

Пятигорск, 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Сочетанные повреждения печени и почек: причины и механизмы развития. Современные подходы к лечению	13
1.2 Перспективы применения шлемника байкальского как гепато- и нефропротектора	21
1.3 Методы улучшения растворимости лекарственных веществ	25
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1 Характеристика объектов исследования.....	31
2.2 Лабораторные животные.....	34
2.3 Постановка опытов и основные экспериментальные серии.....	35
2.3.1 Определение среднелетальной дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД.....	35
2.3.2 Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения печени тетрахлорметаном.....	35
2.3.3 Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения почек хлоридом ртути (II)	36
2.3.4 Изучение нефропротекторного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при поражении почек хлоридом ртути (II).....	37
2.3.5 Изучение гепатопротекторного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при поражении печени парацетамолом.....	40
2.3.6 Изучение гепатонезащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при введении циклофосфана.....	41
2.3.7 Изучение влияния курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на морфофункциональное состояние печени и почек, интенсивность ПОЛ и систему антиоксидантной защиты у здоровых животных.....	42
2.3.8 Изучение фармакокинетики байкалина у крыс при пероральном введении СЭ ШБ и внутривенном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД.....	43
2.4 Оценка интенсивности перекисного окисления липидов	44
2.4.1 Определение содержания диеновых конъюгатов в гомогенате печени и почек.....	44
2.4.2 Определение интенсивности Fe ²⁺ -аскорбатиндуцированного ПОЛ в постъядерной фракции печени и почек.....	44
2.5 Оценка состояния эндогенной антиоксидантной системы	45
2.5.1 Определение активности супероксиддисмутазы.....	45
2.5.2 Определение активности каталазы.....	45

2.5.3	Определение содержания восстановленного глутатиона в печени и почках.....	45
2.5.4	Определение активности глутатионпероксидазы в печени и почках.....	46
2.5.5	Определение активности глутатион-S-трансферазы в печени и почках.....	46
2.5.6	Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени и почках.....	46
2.6	Патоморфологические исследования печени и почек крыс.....	47
2.7	Изучение антиоксидантной активности байкалина в модельной системе.....	47
2.8	Изучение мембраностабилизирующего действия байкалина в модельной системе.....	47
2.9	Статистическая обработка результатов эксперимента.....	48
2.10	Используемые реактивы.....	48
ГЛАВА 3 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕЛЕТАЛЬНОЙ И ОПТИМАЛЬНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ДОЗ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ		
49		
3.1	Определение среднелетальной дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД.....	49
3.2	Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения печени тетрахлорметаном.....	51
3.3	Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения почек хлоридом ртути (II).....	57
3.4	Исследование фармакокинетики байкалина у крыс при пероральном введении СЭ ШБ и при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах.....	63
3.5	Заключение.....	66
ГЛАВА 4 СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕФРОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО, ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ И УРОКАМА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК ХЛОРИДОМ РТУТИ (II).....		
69		
4.1	Сравнительная оценка нефрозащитного действия СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама при поражении почек крыс хлоридом ртути (II) по биохимическим показателям.....	69
4.2	Исследование гистологической картины почек при поражении хлоридом ртути (II) и при введении СЭ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама.....	76
4.3	Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в сравнении с урокамом на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при повреждении почек хлоридом ртути (II) у крыс.....	79
4.4	Заключение.....	82
ГЛАВА 5 СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО, ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ		

ФОРМЫ И ЛЕГАЛОНА ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ.....	86
5.1 Сравнительная оценка гепатозащитного действия СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона при поражении печени парацетамолом по биохимическим показателям.....	86
5.2 Исследование гистологической картины печени при поражении парацетамолом и при введении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона.....	91
5.3 Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в сравнении с легалоном на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при повреждении печени парацетамолом у крыс.....	93
5.4 Заключение.....	95
ГЛАВА 6 СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОНЕФРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО, ЕГО ВОДОРАС-ТВОРИМОЙ ФОРМЫ, ЛЕГАЛОНА И УРОКАМА ПРИ СОЧЕТАННОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ЦИКЛОФОСФАНОМ.....	99
6.1 Сравнительное изучение гепатонепропротекторного действия СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, легалона и урокама при применении циклофосфана.....	99
6.2 Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, легалона и урокама на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при повреждении печени и почек циклофосфаном у крыс.....	108
6.3 Заключение.....	114
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.....	118
7.1 Изучение антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия байкалина в модельных системах <i>in vitro</i>	118
7.2 Изучение 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.....	123
7.3 Заключение.....	127
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	131
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	141
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	143
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	144
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	169
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	191

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

2-ГП-β-ЦД – 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин	ПФП - постъядерная фракция печени
CCl ₄ – тетрахлорметан	СКФ - скорость клубочковой фильтрации
GSH - глутатион восстановленный	СОД – супероксиддисмутаза
NAD ⁺ /NADH – никотинамидадениндинуклеотид окисленный/восстановленный	СЭ ШБ – сухой экстракт шлемника байкальского
NADP ⁺ /NADPH – никотинамидадениндинуклеотидфосфат окисленный/восстановленный	СЭ-2-ГП-β-ЦД – водорастворимая форма сухого экстракта шлемника байкальского с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином
NAPQI - N-ацетил-п-аминобензохинон	ТРГ – триглицериды
γ-ГТ - γ-глутамилтрансфераза	ХС - холестерин
АКМ - активные кислородные метаболиты	ХЭ- холинэстераза
АлАт – аланинаминотрансфераза	ЦД –циклодекстрины
АОА – антиокислительная активность	ЦФ – циклофосфан
АОЗ - антиоксидантная защита	ШБ – шлемник байкальский
АОС – антиоксидантная система	ЩФ - щелочная фосфатаза
АсАт –аспартатаминотрансфераза	
Г-6-ФДГ–глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	
Г-S-T – глутатион-S-трансфераза	
ГДГ –глутаматдегидрогеназа	
ГП – глутатионпероксидаза	
ГРС –гепаторенальный синдром	
ДК – диеновые конъюгаты	
ЛВ – лекарственные вещества	
ЛС-лекарственные средства	
ЛДГ – лактатдегидрогеназа	
МДА - малоновый диальдегид	
НПБ – непрямой билирубин	
ОБ – общий билирубин	
ПБ – прямой билирубин	
ПОЛ – перекисное окисление липидов	
ПЯФ – постъядерная фракция	

ВВЕДЕНИЕ

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, функции этих 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 [46]. 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. [60, 70, 73, 98, 101], а также при использовании таких лекарственных средств, как нестероидные противовоспалительные препараты, антибиотики, сульфаниламиды, диуретики, противотуберкулезные препараты, цитостатики и т.д. [86, 125, 139, 284, 313].

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 [23, 41, 72, 92].

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. [67]. В то же время, в настоящее время 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 лекарственного 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 [73, 156, 171], но, по-прежнему, остается довольно невысокой степень разработанности проблемы терапии сочетанных повреждений печени и почек [204, 230, 70], в особенности поиск и применение таких препаратов, которые обладали бы одновременно гепато- и нефропротекторными свойствами [242, 243].

Ведущая роль окислительного стресса в патогенезе токсических, лекарственных, алкогольных и пр. поражений как печени, так и почек [47, 99, 249, 264], а также наличие тесной морфофункциональной связи между этими органами делает возможным и необходимым целенаправленный поиск новых эффективных средств для предупреждения и лечения данных патологий [170, 174]. К тому же, многие препараты, которые в настоящее время применяются в комплексной терапии заболеваний печени, не всегда соответствуют требованиям, предъявляемым к гепатопротекторам [138, 213], а также невелик ассортимент препаратов, нормализующих функциональную активность почек [108].

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 [93, 104]. Гепатозащитное и нефрозащитное действие байкалина продемонстрировано на некоторых моделях поражениях печени тетрахлорметаном [1, 214, 258], парацетамолом [2], при поражениях почек, наблюдающихся при ишемии-реперфузии [296], остром панкреатите [287], применении цитостатика цисплатина [160]. Но сравнения эффективности действия байкалина с эталонными гепатопротекторами 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 тетрахлорметаном.
2. Изучить фармакокинетику байкалина 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 модели поражения почек хлоридом ртути (II) и на модели поражения печени парацетамолом по нормализации маркеров основных патосиндромов и гистологической картине органов в сравнении с урокамом и легалоном.
4. Провести изучение гепато- и нефропротекторного действия СЭ ШБ при пероральном и СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введениях при сочетанных поражениях печени и почек циклофосфаном по нормализации маркеров основных патосиндромов и гистологической картине органов в сравнении с урокамом и легалоном.
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 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.

Впервые 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 гепатопротекторным действием при поражении печени парацетамолом, которое по гистоморфологическим исследованиям превышает действие легалона.

Впервые установлено, что выраженность нефропротекторного и гепатопротекторного действия СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении практически равнозначна или по не-

которым 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).

Впервые 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.

Впервые установлено, 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 механизме гепатонепфрозащитного действия.

Впервые показано, 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.

Впервые показано, что антиоксидантное действие байкалина в липосомальной системе Fe²⁺-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 с позиций не только подавления ими ПОЛ, а с позиций 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 внутривенном 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 [109] 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 его соответственно гепатозащитного и нефрозащитного действия в сравнении с эталонными гепато-и нефропротекторами, а затем изучалось гепатонепрозащитное действие 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 внутривнутрибрюшинном 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 внутривнутрибрюшинном 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 внутривнутрибрюшинном 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 внутривнутрибрюшинном введении, и является важным в механизме гепатонепропротекторного 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 конфе-

ренции «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 «Конференция молодых учёных Ставропольского края «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 проведен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников литературы по теме диссертационной работы. Все экспериментальные исследования проведены автором лично или при его активном участии. Непосредственно автором проведена статистическая обработка и описание полученных результатов. Автор принимал активное участие в 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Сочетанные повреждения печени и почек: причины и механизмы развития. Современные подходы к лечению

Проявления токсического повреждения печени и почек наблюдаются в большинстве случаев острых отравлений [171, 204, 249, 272]. Повреждение этих органов при остром отравлении обусловлено общими филогенетическими и анатомическими особенностями этих органов, их тесной функциональной связью [230, 289], общностью их анатомо-филогенетических и физиологических особенностей [156].

Выделяют два основных патогенетических механизма возникновения поражений печени и почек при острых отравлениях: специфический и неспецифический. При поражениях специфического характера основное значение имеет непосредственный контакт токсического вещества с паренхимой печени и почек. Неспецифические токсические повреждения печени и почек развиваются вторично, как следствие патологических изменений в организме, вызванных острым отравлением, одним из которых является нарушение регионарного кровообращения при экзотоксическом шоке. Уменьшение кровоснабжения приводит к ишемическим повреждениям печени и почек [136].

Возможно одновременное развитие алкогольного поражения печени и почек. В таком случае возникают вторичные нефропатии вследствие поражения печени или же одно из органических проявлений алкогольной интоксикации, т.е. проявление алкогольной болезни. Рассмотрим два варианта поражения почек. В 60-х годах описан специфический алкогольный гиалин, который играет роль антигена. На него вырабатываются антитела, формируется иммунный комплекс, что ведет к поражению как печени, так и почек. Существует и другая форма алкогольного поражения почек - по типу хронического интерстициального нефрита. Эта форма наблюдается сравнительно часто, и при биопсии почек закономерно выявляется интерстициальный нефрит. Таких больных довольно много, но поскольку клиническая картина поражения почек при таком интерстициальном нефрите чрезвычайно скудна, эти больные в поле зрения нефрологов почти не попадают. Только целенаправленные исследования позволили авторам выявить эту форму поражения почек [136].

Хроническое употребление алкоголя увеличивает токсичность других ксенобиотиков. Это обусловлено тем, что токсические эффекты ксенобиотиков могут быть модифицированы алкоголем [191, 281]. Одновременное воздействие двух или более ксенобиотиков может иметь место в окружающей среде или в профессиональной деятельности. Данные, полученные Brzoska M.M. с соавт., 2003 [232] показывают, что одновременное поступление в организм этанола и кадмия приводит к повреждению печени и почек, что создает серьезную опасность для здоровья. Изменения, наблюдаемые в этих органах, показывают, что этанол влияет на метабо-

лизм кадмия (повышает абсорбцию в желудочно-кишечном тракте), что делает организм более восприимчивым к его накоплению, повышает нефротоксичность кадмия.

Также возможно одновременное повреждение печени и почек свинцом, отравления которым остаются серьезной проблемой во многих развивающихся и индустриальных странах [193, 316]. Свинец-индуцированное перекисное окисление липидов клеточных мембран, играет важную роль в механизмах гепато- и нефротоксического действия [167, 280].

Кроме токсического повреждения печени и почек существуют повреждения, вызванные заболеваниями печени, приводящие к вторичным нарушениям функции почек вплоть до тяжелой почечной недостаточности. При этом признаки органического поражения почек отсутствуют. Впервые указания в литературе на сосуществование подобных заболеваний печени и почек появились более чем 100 лет назад. В 1863 г. А. Flint описал тяжелых больных циррозом печени с асцитом и олигурией, при аутопсии у которых в почках не было морфологических изменений. В 1916 г. был предложен термин «гепаторенальный синдром» Р. Merklen и принят в 1939 г. W. Nonnenbruch, под которым в настоящее время понимают функциональную, олигурическую, прогрессирующую, но в то же время обратимую патологию почек, возникающую при тяжелых заболеваниях печени, причем другая причина почечной недостаточности (прием нефротоксических препаратов, обструкция мочевыводящих путей, хронические заболевания почек и др.) отсутствует [100, 247].

К заболеваниям печени, при которых наиболее часто развивается поражение почек, относятся:

- ✓ цирроз, особенно алкогольный, при наличии асцита и диуретической терапии, печеночной энцефалопатии, пищеводно-желудочно-кишечного кровотечения;
- ✓ фульминантная печеночная недостаточность;
- ✓ острые вирусные гепатиты;
- ✓ гепатоцеллюлярная карцинома;
- ✓ метастатическое поражение печени;
- ✓ гемигепатэктомия [73].

По мнению большинства исследователей, основной причиной развития гепаторенального синдрома (ГРС) является декомпенсированный цирроз печени, осложненный резистентным асцитом. В современном понимании при ГРС происходит уменьшение объема циркулирующей плазмы, рост эндогенной интоксикации, нарушение водно-электролитного и белкового обмена, что ведёт к расстройству как общей, так и печёночной, и почечной гемодинамики, а, следовательно, к гипоксии почек [4, 14, 69, 71, 141, 242, 243, 308]. При этом происходят нарушения фильтрационной и реабсорбционной функций почек [9, 63, 128, 129, 298]. Кроме того, гепаторенальный синдром характеризуется типичными признаками преренальной формы острой по-

чечной недостаточности — азотемией, олигурией или анурией при сохранённой функции канальцевого аппарата почек: низкой концентрации натрия в моче, повышение уровня креатинина мочи [215].

Поражения почек также возникают при обтурации желчных путей. Механизм повреждения почек при холестазах в значительной степени обусловлен токсическим действием выделяемого через гломерулярную мембрану конъюгированного билирубина. Неконъюгированный билирубин, будучи тесно связанным с альбумином плазмы, практически не фильтруется, а скапливается в большом количестве в интерстиции, что, нарушая функцию канальцев и интерстиция, обуславливает деструкцию сосочковой зоны [16, 136].

По данным Amerio A. et al., 1981 о влиянии гипербилирубинемии на функцию почек говорит тот факт, что летальность в группе больных острой почечной недостаточностью на фоне желтухи составляет 57%, тогда как без неё - 42%. Авторы показали, что частота смертельных исходов соотносится с уровнем гипербилирубинемии. Так, при содержании билирубина в сыворотке свыше 342 мкмоль/л летальность составила 85%, а ниже 171 мкмоль/л - 33% [136].

Таким образом, при гипербилирубинемии происходит многофакторное воздействие тяжело поражённой печени на функцию почек, в связи с эндотоксикозом, расстройствами гемодинамики, а также непосредственным прямым воздействием билирубина на почки, вызывающим тяжелое местное токсическое повреждение, хотя эти изменения могут быть и обратимыми.

При некоторых формах вирусных гепатитов В и особенно Е почки поражаются опосредованно после первичной репликации вируса в гепатоцитах и вызываемых им поражений паренхимы печени с расстройством многих видов обмена. Происходит одновременное вирусное поражение почек при гепатитах. В опытах анафилаксии с десенсибилизацией на морских свинках при исследовании гомогенатов почек, умерших от токсической гепатодистрофии при вирусном гепатите, авторам удалось показать наличие в них антигена, не содержащегося в почках погибших от случайной травмы [95].

Вирусное поражение и печени, и почек с большей долей вероятности имеет место при желтой лихорадке [39, 175, 210, 211, 221]. Тяжелый гепаторенальный синдром наблюдается у больных желтой лихорадкой. Эндемических очагов данного заболевания в России нет, но потенциальная опасность завоза из стран, неблагополучных по заболеваемости ею, реально существует (Южная и Латинская Америка, Африка). Поражение почек при ней возникает на фоне снижения АД и проявляется олигурией, гематурией и анурией. Течение болезни отличается особой тяжестью и двухфазностью: в начале болезни (4-5 дней) отмечаются лихорадка, озноб, токсикоз; после 1-2 дней апирексии лихорадка возобновляется, развиваются желтуха с выраженными геморрагическими явлениями и острая печеночная недостаточность. Возможны летальные исходы. При разных эпидемических вспышках желтой лихорадки летальность от 10 до

60%. Конечная стадия печеночной недостаточности характеризуется глубокими нарушениями обмена веществ в организме, дистрофическими изменениями, выраженными не только в печени, но и в других органах.

При хронических заболеваниях печени развивается выраженное истощение вплоть до кахексии. Проявлением тяжелых расстройств нарушений обмена веществ и сопутствующего поражением печени ГРС является азотемия, возникающая у больных с хроническими заболеваниями печени за 2 – 6 недели до их гибели [73, 84, 168, 181, 282]. Возможна и роль нарушений клеточного иммунитета. При хроническом активном гепатите и первичном билиарном циррозе может наблюдаться инфильтрация почечной ткани малыми лимфоцитами, обнаруживается сенсибилизация лимфоцитов не только к антигенам печени, но и к мукопротеину Tamm—Horsfall, специфичному для эпителия дистальных почечных канальцев [121].

Одним из механизмов гепато- и нефротоксического действия является окислительный стресс. Доказано, что активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) запускает цепь деструктивных процессов в клетке, которые приводят к их апоптозу и некрозу. Активные кислородные метаболиты (АКМ), инициирующие эти процессы, вызывают повреждение структур мембран, белков и нуклеиновых кислот. В настоящее время известно, что образование свободных радикалов является физиологическим процессом обмена веществ и энергии, метаболических процессов в клетке. Кроме того, активные кислородные метаболиты могут выступать в качестве биорегуляторных молекул активности генома, активировать или обратимо его ингибировать [38, 47, 264].

Развитию ПОЛ в организме противостоит система антиоксидантной защиты (АОЗ), предохраняющая его от накопления токсичных продуктов. При чрезмерно сильном или длительном негативном воздействии собственные резервы антиоксидантной системы исчерпываются, и на фоне усиления свободнорадикального окисления могут развиваться процессы необратимого повреждения клеток. При этом наблюдается дисбаланс системы про/антиоксиданты и развивается окислительный стресс [77, 78, 286].

Состояние окислительного стресса развивается при многих заболеваниях, в том числе при заболеваниях печени токсической этиологии. Вследствие принципиальной общности молекулярных механизмов повреждения печени вне зависимости от природы химического повреждающего воздействия общемедицинское значение приобрели исследования повреждения гепатоцитов тетрахлорметаном. Эта классическая модель патологии печени широко и с успехом используется для решения различных проблем клинической и экспериментальной гепатологии, в том числе для изучения патогенеза токсических вирусных поражений печени и поиска новых эффективных гепатозащитных средств [109]. При любом пути поступления тетрахлорметан вызывает тяжелые повреждения печени: центрлобулярный некроз и жировую дегенерацию. Од-

новременно поражаются и почки (проксимальные отделы почечных канальцев). Поражения в почках менее значительны, развиваются, как правило, вслед за поражением печени и как результат нарушения общего обмена, но в ряде случаев играют существенную роль в картине и исходе отравления [109]. Согласно существующим взглядам на патогенез токсического действия тетрахлорметана, оно связано со свободнорадикальными метаболитами (CCl_3), образующимися в результате разрыва молекул CCl_4 . В результате усиления перекисного окисления липидных комплексов внутриклеточных мембран нарушаются активность ферментов, ряд функций клетки (синтез белков, обмен β -липопротеидов), возникает деструкция нуклеотидов и т. д. [280].

О центральной роли окислительного стресса в развитии поражений печени и почек свидетельствуют и данные, полученные Мышкиным В.А. и соавт., 2011 [99], свидетельствующие об интенсификации процессов ПОЛ в этих органах при действии полихлорированных бифенилов.

Установлено, что стимуляцию генерации АКМ и свободных радикалов [161, 178, 197, 277], вызывает фторид-ион, что в последующем приводит к усилению перекисного окисления липидов, а также снижает активность антиоксидантных ферментов, вызывает окислительный стресс, который может спровоцировать патологические изменения, а также апоптоз клеток в печени и почках крыс [179].

Большого внимания заслуживает также проблема медикаментозных поражений печени, которые, также как и токсико-химические поражения, проявляются в виде токсических, аллергических и токсико-аллергических реакций. Согласно статистике, лекарственные поражения печени отмечаются у 7-10% лиц, принимающих лекарственные препараты. При этом важно подчеркнуть, что при наличии скрытой патологии печени медикаментозные поражения печени могут формироваться даже в случае применения относительно малых доз лекарственных препаратов, поскольку обезвреживание последних в клетках печени протекает на фоне снижения дезинтоксикационных функций печени. В настоящее время известно более 300 достаточно широко используемых фармакологических препаратов, которые могут вызывать патологические изменения в печени [124, 244, 293].

Парацетамол представляет собой один из наиболее широко используемых во всем мире анальгетиков. Однократный прием большой дозы (15 г и более) приводит к развитию гепатотоксичности с образованием центрлобулярных некрозов и печеночной недостаточности. После приема токсических доз парацетамола в высоких концентрациях образуется N-ацетил-п-аминобензохинон (NAPQI), что, как следствие, сопровождается выраженным уменьшением уровня глутатиона восстановленного (GSH) в центрлобулярных клетках печени. Предполагается, что в подобной ситуации происходит ингибирование глутатионпероксидазы — наиболее

важного фермента, принимающего участие в процессах детоксикации [183, 254, 300, 305]. Кроме того, в процессе образования NAPQI под влиянием цитохрома P450 происходит образование супероксид-анионов, обладающих мощным цитотоксическим действием, и конъюгатов - производных цистеина и меркаптуровой кислоты. Парацетамол-индуцированное поражение печени может привести к некрозу гепатоцитов, которому часто сопутствует поражение почек, варьирующее от незначительного нарушения функции до развития острой почечной недостаточности [45, 224].

Применение синтетических эстрогенов, ацетилсалициловой кислоты, триметоприма, антагонистов кальция может способствовать развитию стеатогепатита. Перечисленные препараты угнетают процесс β -окисления жирных кислот в митохондриях и нарушают процесс переноса электронов в дыхательной цепи, что способствует активации перекисного окисления липидов [137].

В проявлении токсичности амиодарона достаточно важную роль также играют свободные радикалы. Основные механизмы токсичности включают прямую цитотоксичность, развитие лизосомального фосфолипидоза, непрямую иммунологически опосредованную токсичность и мембранную дестабилизацию [293]. Введение антиоксидантов вместе с амиодароном значительно уменьшает содержание диеновых конъюгатов и не снижает антиаритмическую активность амиодарона [278, 304].

При использовании индометацина [17], противотуберкулезных препаратов (изониазид, рифампицин), обладающих гепато- и нефротоксичностью [244, 303], некоторых тетрациклиновых антибиотиков [44] отмечается стимуляция процессов перекисидации и истощение запасов эндогенной АОС.

Результаты, полученные Кашуро В.А. и соавт., 2006 демонстрируют, что в результате метаболических превращений циклофосфана (эффективного противоопухолевого препарата, который также в последние десятилетия нашел широкое применение в качестве иммуносупрессора при аутоиммунных заболеваниях, таких как гломерулонефриты и волчаночные нефриты), образуются реакционно-способные метаболиты и активные формы кислорода, в обезвреживании которых активное участие принимает система глутатиона. Большая интенсивность токсической нагрузки приводит к изначально функциональной недостаточности систем конъюгации и антирадикальной защиты, в дальнейшем присоединяется органическое повреждение ряда ферментов системы глутатиона метаболитами циклофосфана и свободными радикалами в печени и почках [116].

Общий патогенетический механизм нефротоксического действия антибиотиков гентамицина и рифампицина, противоопухолевого препарата ифосфамида [37] является процесс ак-

тивации перекисного окисления липидов, которое ответственно за повреждение проксимальных канальцев почек.

Во время трансплантации почек ишемия и реперфузия становятся причиной высвобождения большого количества активных форм кислорода, что ведет к разрушению клеток канальцев. Использование антиоксидантов может повысить выживаемость клеток и как следствие более длительную сохранность трансплантата [285].

Современные достижения в области изучения перекисного окисления липидов, белков гепато- и нефротоксическими веществами, безусловно, способствуют пониманию проблемы, но не изменяют главной цели проводимых исследований. Цель эта состоит в раскрытии механизмов нарушений в процессе патогенеза и их коррекции для предупреждения и лечения химически индуцированных поражений печени и почек.

Возможности лечения поражений печени и почек ограничены в связи с нарушением функции двух жизненно важных органов. Для начала необходимо улучшить функции печени, поскольку значительное восстановление пораженной печени всегда приводит к обратному развитию заболевания. Даже если имеется хоть малейший шанс восстановить функцию печени посредством оптимального питания, заместительной терапии (мультивитаминами, микроэлементами, аминокислотами с разветвленной цепью, эссенциальными фосфолипидами и др.), поддерживающей программы (снижение эндотоксинемии с помощью лактулозы, влияние на синтез мочевины орнитин аспаратом и т. д.), а также другими мероприятиями – все это оправдано в тяжелых случаях заболевания.

В соответствии с современными принципами лечения заболеваний печени, комплексная терапия обязательно должна состоять из двух этапов. Для устранения причины возникновения заболевания (этиотропная терапия) необходима элиминация возбудителя, отмена препарата, вызвавшего поражение – применяется при вирусных гепатитах. К этиотропным средствам относят противовирусные ЛС, интерфероны. Затем проводится патогенетическая терапия для фармакологической коррекции различных звеньев патогенеза [103].

Гепатопротекторы являются средствами патогенетической терапии, оказывающие избирательное действие на печень, восстанавливающие гомеостаз в гепатоцитах, повышающие их устойчивость к действию патогенных факторов, нормализующие функциональную активность и стимулирующие репаративные процессы в печени. Гепатопротекторы – это разнородная группа лекарственных средств, назначаемых с целью восстановления гомеостаза в печени, препятствующих разрушению клеточных мембран, стимулирующих регенерацию гепатоцитов, повышающих устойчивость печени к патологическим воздействиям, усиливающих ее детоксикационную функцию путем повышения активности ферментных систем [10, 64, 85]. Основные требования к гепатопротекторам [138, 214]:

- ✓ достаточно полная абсорбция;
- ✓ наличие эффекта «первого прохождения» через печень;
- ✓ способность связывать или предупреждать образование повреждающих соединений;
- ✓ возможность уменьшать чрезмерно выраженное воспаление;
- ✓ подавление фиброгенеза;
- ✓ стимуляция регенерации печени;
- ✓ естественный метаболизм при патологии печени;
- ✓ экстенсивная энтерогепатическая циркуляция;
- ✓ отсутствие токсичности.

К сожалению, на сегодняшний день ни один из используемых в медицинской практике гепатопротекторов не удовлетворяет в полной мере этим требованиям, хотя в последние годы арсенал современных гепатозащитных средств расширился за счет появления как синтетических препаратов, так и новых природных средств.

Общепринятой классификации гепатопротекторов не существует. В зависимости от химической структуры и происхождения выделяют несколько групп гепатопротекторов [18,87] :

- ✓ препараты растительного происхождения (карсил, легалон, хофитол);
- ✓ препараты животного происхождения (гепатосан);
- ✓ препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды (эссенциале, фосфоглив, эссливер);
- ✓ аминокислоты и их производные (адеметионин, таурин);
- ✓ витамины-антиоксиданты и витаминopodobные соединения (витамины E и C, липоевая кислота);
- ✓ препараты разных групп (урсодеоксихолевая кислота, метилурацил).

В настоящее время чаще всего применяют средства растительного происхождения (до 54%), в то время как на фосфолипидные препараты приходится 16%, а на другие средства, в том числе синтетические, органолекарства и препараты аминокислот – 30% от общего количества гепатопротекторов [123].

Следует отметить, что ассортимент препаратов нормализующих функциональную активность почек невелик. Среди средств, назначаемых больным с пиелонефритами, гломеруло-нефритами, циститами и мочекаменной болезнью 64% составляют антибиотики и химиотерапевтические препараты [108], большинство из которых нефротоксичны. Для коррекции побочных эффектов и для устранения токсического действия препаратов на почки в терапию этих заболеваний необходимо включать средства, защищающие почки от повреждения – нефропротекторы [68]. Эта группа ЛС улучшает обменные процессы в почках, препятствует развитию патологических изменений при различных состояниях и воздействии на почки токсинов. Выделяют

препараты синтетического происхождения: ингибиторы АПФ, антагонисты рецепторов ангиотензина II, а также природного происхождения, полученные из лекарственного растительного сырья: леспеплан, канефрон, фитилизин, урокам. Ассортимент фитопрепаратов на российском фармрынке достаточно ограничен, поэтому является актуальным создание новых эффективных и безопасных препаратов для восстановления функциональной активности почек и их защиты от токсического повреждения.

Таким образом, несмотря на значительное развитие фармакотерапии, при лечении и профилактике болезней печени и почек до настоящего времени, как и сотни лет назад, в основном применяются средства природного происхождения, многие из которых издавна являлись уделом народной медицины.

1.2 Перспективы применения шлемника байкальского как гепато- и нефропротектора

Особый интерес представляют препараты из растительной флоры Сибири, которые находят широкое применение в тибетской и народной медицине при заболеваниях печени, желчного пузыря и других патологических состояниях. Так, шлемник байкальский традиционно используется в народной медицине многих стран. Еще в трактате «Джуд-ши» об индотибетской медицине, созданном 25 веков назад, приводятся данные о применении шлемника байкальского для лечения гипертонии. В древнем Китае траву шлемника байкальского с успехом применяли для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта [7].

Естественный ареал произрастания шлемника байкальского – Дальний Восток, Иркутская область, Забайкалье. В качестве сырья используют корни и корневища растения.

Химический состав растений рода *Scutellaria* L. разнообразен, и к настоящему времени из видов данного рода выделены производные фенилэтилового спирта, фенолокислоты, иридоиды, клероданы, стероиды и тритерпеновые соединения, карденолиды, кумарины, дубильные вещества, эфирные масла и флавоноиды [90]. Среди перечисленного разнообразия классов природных соединений особо следует выделить группу фенольных соединений, причинами чего являются их аномально высокое содержание и значительное структурное разнообразие. Фенольные соединения *Scutellaria* представлены флавонами, флаванонами, флавонолами, фенилпропаноидами, халконами, изофлавонами, бифлавонами и лигнофлавоноидами. Биологическая активность фенольных соединений *Scutellaria* обусловила непрекращающийся интерес к этой теме и возрастающее число научных публикаций. В мировой литературе накоплен огромный фактический материал по выделению, идентификации, установлению строения и биологической активности фенольных соединений различных видов *Scutellaria* L. Согласно сведениям В.М. Маликова и М.П. Юлдашева, к настоящему времени исследованы фенольные соединения 65 видов рода *Scutellaria* L., из которых выделено и идентифицировано более двухсот соединений [133].

История изучения флавоноидов *Scutellaria baicalensis* начинается с 1923 г., когда Shibata с соавторами выделил и охарактеризовал байкалин из корней данного растения [90]. Как показывает анализ научной информации, к настоящему времени в данном виде обнаружено 125 соединений фенольной природы [91].

Первым препаратом предложенным для фармакологического и клинического изучения была настойка, приготовленная из корней шлемника байкальского на 70% этиловом спирте в соотношении 1:5. При фармакологических исследованиях было установлено, что настойка положительно действует на сердечно-сосудистую систему, снижает кровяное давление и нормализует ритм сердца [20].

Вследствие высокого содержания активных флавоноидов, главным из которых является байкалин, препараты шлемника байкальского обладают выраженным защитным эффектом в отношении клеток печени. Особенно ярко защитное действие этого растения проявляется применительно к алкогольным поражениям печени. В многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях было показано, что в условиях алкогольного гепатита экстракт шлемника байкальского обладает мощным антиоксидантным действием, которое предотвращает повреждение печени этанолом. Маняхиным А.Ю., 2010, установлено, что антиоксидантные свойства экстракта шлемника байкальского обеспечивают стабилизацию мембран гепатоцитов, что предупреждают развитие синдромов цитолиза и холестаза при повреждении печени этанолом. Это объясняется сочетанием действующих биологически активных веществ, способных подавлять процессы перекисного окисления липидов и предупреждать деструкцию клеток печени [74].

Гепатопротекторное действие шлемника байкальского описано на различных моделях поражения печени. Так, введение шлемника байкальского, в экспериментально-терапевтической дозе в классической модели поражения печени тетрахлорметаном, сопровождается нормализацией функционального состояния органа: в значительной степени происходит ингибирование процессов ПОЛ, восстанавливается функциональная целостность мембраносвязанных ферментов, повышается дезинтоксикационная функция печени [1, 153, 212, 226, 257]. Как показано в исследованиях многих авторов шлемник байкальский целесообразно применять и при лекарственных поражениях печени. При поражении печени парацетамолом курсовое введение шлемника байкальского способствует снижению явления цитолиза в печени, благоприятно воздействует на желчеобразовательную и желчевыделительную функции печени, препятствуя накоплению продуктов ПОЛ и тем самым обеспечивая мембраностабилизирующее и противовоспалительное действие [126, 153, 265, 295]. Кроме того, шлемник байкальский угнетает выработку лейкотриенов – соединений, обладающих провоспалительным эффектом, которые также участвуют в повреждение печени и развитии холестаза, подавляют активацию NF- κ B –

регулятора воспалительно-иммунных реакций. Поэтому, ингибирование производства веществ, участвующих в синтезе провоспалительных факторов, является одним из защитных эффектов флавоноидов шлемника байкальского [199, 227]. Исследования на животных подтверждают, что при использовании сырья шлемника уменьшается местное воспаление [3, 248, 268, 292].

При ишемии почек возникает острая почечная недостаточность, которая характеризуется усилением окислительного стресса, нарушением функции митохондрий. Байкалин - флавоноид гликозид, выделенный из шлемника байкальского оказывает нефрозащитное действие за счет антиокислительных, антиапоптотических и противовоспалительных свойств [274].

Поражения почек при ревматоидном артрите встречается в 10-25% случаев, при этом различают поражения почек, непосредственно связанные с основным заболеванием (иммуно-комплексный гломерулонефрит, амилоидоз), и ятрогенные, связанные с лечением заболевания, с воздействием лекарственных препаратов (иммунодепрессанты и глюкокортикостероиды) - это происходит из-за их прямого нефротоксического действия или через иммунные механизмы ответа организма. В работе [312] на экспериментальной модели ревматоидного артрита установлено, что байкалин уменьшает повреждение сустава, снимает воспаления и подавляет его разрушение. Это означает, что байкалин может быть перспективным средством для лечения и предотвращения повреждения почек при ревматоидном артрите.

Zhang X.P. et al., 2007, 2008 [261, 287] установлено, что для лечения печеночной и почечной недостаточности, вызванной острым панкреатитом может быть использован байкалин, защитный эффект которого связан со снижением секреции панкреатина, уменьшения содержания эндотоксина и TNF- α . Благодаря ингибированию медиаторов воспаления и индукции апоптоза, байкалин может быть перспективным доступным терапевтическим средством в лечении острого панкреатита.

Широкое антибактериальное действие соединений шлемника байкальского может замедлить развитие инфекционного процесса прямым разрушением инфекционных агентов, включая множество вирусов, ретровирусов. Это свойство может использоваться в комплексной терапии вирусных гепатитов [154, 176, 180, 228, 229, 245].

В работе [227], изучено гепатопротекторное действие байкалина при токсическом поражении печени железом, при котором происходит активация процессов ПОЛ и снижается активность АОС. Введение байкалина позволяет нормализовать про-антиоксидантное равновесие и снизить содержание железа.

Wan J.Y. et al., 2008 [259], установлено, что байкалин может эффективно предотвратить липополисахарид / D-галактозамин – индуцированное повреждение печени путем ингибирования активности NF B-каппа, чтобы уменьшить продукцию ФНО- α .

Флавоноиды шлемника байкальского обладают антиоксидантной активностью [5, 126, 149, 153, 157], способствуют элиминации свободных радикалов и снижению уровня активных форм кислорода, а также участвуют в поддержании активности эндогенной ферментной системы антиоксидантной защиты, которая контролирует процесс свободно радикального окисления на различных стадиях. Результаты экспериментов [30, 214] свидетельствовали о снижении интенсивности свободнорадикального окисления липидов биомембран на фоне введения фитопрепаратов, что связано с наличием комплекса БАВ, входящих в состав шлемника байкальского, в частности, флавоноиды, дубильные вещества и др. Содержащиеся в растении флавоноиды препятствуют избыточной генерации свободных радикалов, уменьшают их концентрацию в мембранах, защищая молекулы от окисления, проявляют гепатопротекторное, иммунорегуляторное действие; дубильные вещества, проявляя мембраностабилизирующий эффект, восстанавливают процессы репарации и улучшают работу антиоксидантных систем.

Согласно данным многочисленных исследований, проведено изучение действия шлемника байкальского в качестве корректора цитостатической химиотерапии опухолей [145, 158, 159, 172, 250, 274]. Шлемник байкальский выступает в качестве модификатора биологических реакций, обладающий свойствами не только корректировать побочные эффекты цитостатической терапии, но и проявлять способность повышать активность противоопухолевой резистентности организма, реализующуюся, в первую очередь, в усилении противометастатической активности применяемых цитостатиков. Хотя номенклатура модификаторов достаточно велика, но она преимущественно включает синтетические соединения, обладающие различным механизмом действия. Поэтому весьма перспективным является дальнейшее изучение шлемника байкальского в качестве потенциального средства природного происхождения, обладающего широким спектром действия, низкой токсичностью.

Таким образом, многовековая практика использования шлемника байкальского в народной и традиционной медицине Востока была подтверждена современными исследованиями, препараты из растения обеспечивают эффективную защиту печени, почек и др. органов. Препараты шлемника обладают малой токсичностью, что подтверждено на различных видах животных при различных способах введения [95, 222].

Байкалин как наиболее активный компонент – основной флавоноид шлемника байкальского предотвращает снижение содержания глутатиона и ингибирует перекисное окисление липидов в печени, способствует стабилизации клеточных мембран, обладает антифиброзным действием, уменьшает воспаление и улучшает функции печени.

Как известно, клетки животных и человека не способны синтезировать флавоноиды. Поэтому они поступают в организм в результате потребления растительной пищи. Ежедневное потребление флавоноидов с пищей может находиться в пределах от десятков миллиграммов до

нескольких граммов в зависимости от питания [174, 291]. Поступление флавоноидов в организм происходит путем транспорта через клетки эпителия желудочно-кишечного тракта. В адсорбции флавоноидов главную роль играют энтероциты тонкого кишечника (клетки каемчатого эпителия), которые выстилают более 90% поверхности тонкого кишечника. Биодоступность флавоноидов очень низка. Из кишечника в кровь поступает менее 1 % флавоноидов, содержащихся в пище [184, 208].

В просвете кишечника флавоноиды обычно подвергаются действию гидролаз, обладающих широким спектром активности в отношении флавоноид-О-гликозидов, в результате чего высвобождаются агликоны флавоноидов. Высвобождающийся агликон флавоноида может всасываться клетками эпителия [207,219,271,294]. Гидролиз может также происходить после проникновения гликозидов в цитоплазму клеток каёмчатого эпителия кишечника (энтероцитов) с участием фермента β -глюкозидазы. В цитоплазме энтероцитов эти молекулы дегликозилируются и к ним прикрепляется остаток глюкуроновой кислоты. Перед тем, как попасть в кровяное русло, эти вещества по воротной вене доставляются в печень, где они метилируются и сульфатируются с помощью соответствующих трансфераз [166]. В кровяном русле преобладающей формой флавоноидов являются глюкурониды [260,283,306,318]. Повышенная растворимость этих веществ в воде позволяет продлить их присутствие в кровяном русле. Кроме того, часть флавоноидов и продуктов их деградации и окисления с участием цитохрома P450 попадает в состав желчи и секретируется обратно в просвет кишечника через желчный проток [224].

Эффект от применения ЛС, в том числе и байкалина, обусловлен степенью растворимости в воде. Очень низкая растворимость байкалина в воде значительно снижает его биодоступность и возможность использования в качестве ЛС [270, 293, 305].

1.3 Методы улучшения растворимости лекарственных веществ

Одним из направлений на пути расширения возможности создания парентеральных и жидких пероральных лекарственных форм является повышение растворимости трудно растворимых лекарственных веществ в воде. С этой целью широко используются физические, химические и физико-химические методы повышения растворимости лекарственных веществ.

К химическим методам относится модификация структуры ЛВ, что вызывает повышение растворимости и проницаемости через биологические мембраны. К модификации структуры можно отнести получение эфиров ЛВ и его солевых форм. Недостатком этого метода является использование токсичных органических растворителей.

К физическим методам относится уменьшение размеров частиц ЛВ. При измельчении частиц с помощью сублимационной или лиофильной сушки, происходит увеличение поверхности соприкосновения с водой, благодаря чему достигается улучшение растворимости. Недостаток этого метода заключается в том, что в результате образуются частицы различного размера,

из-за чего нельзя достичь равномерного увеличения растворения. Кроме того, может происходить разрушение ЛВ в результате механического или термического воздействий.

К физико-химическим методам относится солюбилизация - коллоидное растворение, самопроизвольное и обратимое проникновение низкомолекулярного вещества, слабо растворимого в данной жидкой среде, внутрь находящихся в ней мицелл поверхностно-активных веществ (додецилсульфат натрия, поливинилацетат, производные акриловой кислоты).

Одним из самых перспективных направлений улучшения растворимости является включение веществ в комплекс с циклодекстринами (ЦД). Комплексообразование является одним из механизмов солюбилизации за счет нековалентных связей (водородные, ван-дер-ваальсовы), в результате чего снижается химический потенциал молекулы в растворе. ЦД образуют комплексы включения с самыми разнообразными веществами: от малых молекул газов и неорганических солей до относительно больших молекул органических соединений и стероидов. Включение не приводит к каким-либо существенным изменениям размера и формы полости молекулы ЦД, за исключением незначительной ее деформации. В то же время образование соединения включения влияет на физические и химические свойства молекулы «гостя»: таким путем можно стабилизировать соединения, чувствительные к действию света, тепла и кислорода воздуха, увеличить растворимость труднорастворимых веществ [140, 232, 266, 298].

ЦД являются продуктами биохимической трансформации крахмала при помощи ферментов циклодекстринглюканотрансфераз [182, 189]. Они представляют собой олигосахариды с гидрофильной внешней поверхностью и с гидрофобной полостью, по своим размерам сопоставимую с величиной многих органических и неорганических соединений.

Семейство ЦД включает в себя три основных продукта: α -ЦД, β -ЦД и γ -ЦД, макрокольца которых состоят из шести, семи и восьми остатков глюкопиранозы соответственно (рисунок 1.3.1). Геометрически молекулы циклодекстринов имеют форму усеченного конуса (тора), полого внутри [289] (рисунок 1.3.2). Благодаря такой молекулярной структуре циклодекстрины обладают уникальной возможностью действовать как контейнеры для молекул путем включения гостевых молекул в свою внутреннюю полость. ЦД связывают молекулу «гостя» главным образом путем, так называемых, гидрофобных взаимодействий [173, 238, 275, 290]. Образование циклодекстринами комплексов включения способно радикально изменять физико-химические и биологические свойства включаемых молекул, что обусловило их востребованность в качестве объекта и инструмента современных химико-фармацевтических технологий. Здесь ЦД играют роль своеобразных нанокapsул, служащих не только для хранения и транспорта молекул фармакологически активных веществ, но и позволяющих менять в желательную сторону агрегатное состояние инкапсулируемых соединений, получая из жидкостей и газов кристаллические веще-

ства, снижать или полностью устранять их гидрофобность, на порядки повышать растворимость в воде.

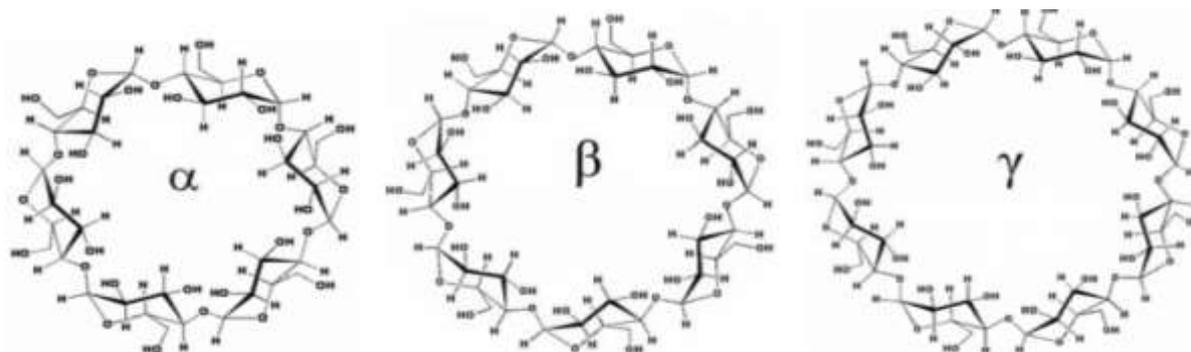


Рисунок 1.3.1- Структурные формулы α , β , γ -циклодекстринов

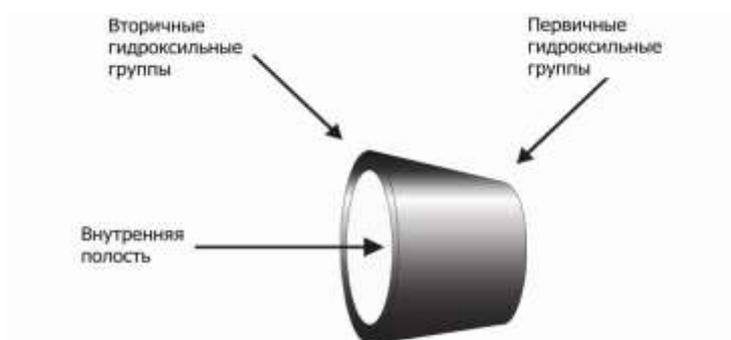


Рисунок 1.3.2 - Схематичное изображение молекулы циклодекстрина

Комплексообразование зачастую вызывает изменение спектральных характеристик, повышает избирательность и, следовательно, дозовую эффективность фармакологически активных веществ и т.д. Известные лекарственные препараты в комплексах включения с молекулами ЦД приобретают новые полезные свойства, не свойственные исходным, что усиливает их лечебный эффект.

Таким образом, циклодекстрины используются с различными целями:

- для повышения растворимости субстанций в воде и скорости их растворения;
- для повышения физической и химической стабильности субстанций (увеличение срока годности);
- для улучшения переносимости при местном или парентеральном применении;
- для улучшения органолептических свойств препарата (маскировка вкуса и/или запаха);
- для улучшения транспорта субстанции через биологические мембраны;
- для перевода маслянистых, жидких или летучих веществ в стабильную микрокристаллическую форму.

В литературе описано много примеров увеличения растворимости лекарственных веществ при помощи ЦД. При включении в комплекс с β -циклодекстрином повышается растворимость

индометацина [11,12]. В процессе комплексообразования с β -циклодекстрином повышается гидрофильность ряда стероидных соединений [13, 201]. Для ряда витаминов показано, что в виде соединения включения с ЦД они характеризуются более высокой растворимостью, термической стабильностью, поскольку витамины, как правило, представляют собой сложные органические молекулы, некоторые из которых практически не растворяются в воде и легко разрушаются под действием кислорода воздуха, света, окислителей и при повышенных температурах [288,299,310]. Методом диализа через полупроницаемую мембрану авторами [309] продемонстрировано *in vitro* повышение растворимости лекарственных веществ при использовании β -циклодекстрина. В работах [8, 67,233,239,276] показано, что получение комплексов включения ЦД с лекарственными веществами позволяет не только улучшить их растворимость, но и повысить фармакологическую активность, стабильность, улучшить органолептические свойства. Авторы считают, что одновременное улучшение биофармацевтических характеристик и стабильности лекарств является важным преимуществом применения комплексов включения ЛВ с ЦД, что создает возможность снижения их дозы и степени повреждающего действия.

Как следует из приведенных данных литературы, из нативных циклодекстринов значение приобрел, в основном, β -ЦД в силу доступности, а два других представителя в настоящее время имеют высокую стоимость. В то же время растворимость β -ЦД при комнатной температуре довольно низка и составляет 1,85%, что ограничивает его широкое применение. Для повышения растворимости β -ЦД в воде проводится химическая модификация, состоящая в алкилировании, гидроксиалкилировании, ацилировании, карбоксилировании и др. вторичных гидроксильных групп, что приводит к разрыву внутримолекулярных водородных связей [62]. Как отмечено авторами данной работы [62], наиболее перспективными оказались алкильные и гидроксилалкильные производные β -ЦД. При этом для гидроксилалкильных производных ЛВ, которые включают гидроксипропилные и гидроксипропиловые производные, характерна высокая растворимость в воде (1:1), а также отсутствие гемолитической активности. Гидроксипропилные и гидроксипропиловые производные не кристаллизуются из водных растворов и способствуют переходу кристаллических ЛВ в аморфную форму. Наибольшее значение в фармации имеет 2-гидроксипропил- β -ЦД (2-ГП- β -ЦД), который обладает очень высокой солюбилизующей активностью и достаточно прост в получении. Взаимодействие 2-ГП- β -ЦД изучено с большим числом ЛВ. В работе [62] сообщается об исследовании комплексообразования 2-ГП- β -ЦД с индометацином, дексаметазоном, фамотидином, напроксеном, кетопрофеном, ибупрофеном, карбамазепином, мелфаланом, холекальцеферолом. При этом установлено повышение растворимости индометацина в 30 раз, повышение стабильности холекальцеферола, усиление транспорта через кожу кортикостероидов, кетопрофена и др. Кроме того, в данной работе приводятся све-

дения о низкой токсичности 2-ГП-β-ЦД, об отсутствии тератогенного, эмбриотоксического, раздражающего и мутагенного действия 2-ГП-β-ЦД при внутривенном и внутримышечном способах введения, а также очень низкой гемолитической активности по сравнению с другими гидроксиалкильными производными. При использовании 2-ГП-β-ЦД установлено повышение растворимости в воде флаванона гесперидина примерно в 40 раз [33]. Таким образом, высокая растворимость (65% при 25 °С) и безопасность 2-ГП-β-ЦД делает возможным его использование для создания инъекционных лекарственных форм препаратов как в качестве носителя, так и в качестве стабилизатора [107,187].

В настоящее время на фармацевтическом рынке присутствует достаточно большое количество лекарственных препаратов, в составе которых используются ЦД и их производные, что свидетельствует в пользу успешности применения данных веществ в качестве субстанций для повышения растворения плохо растворимых препаратов (таблица 1.3.1).

Таблица 1.3.1

Лекарственные препараты на основе циклодекстринов и их производных [106]

Субстанция, включенная в циклодекстрин	Торговое наименование	Лекарственные формы	Страны
α-циклодекстрин			
Алпростадил (PGE1) OP-1206 (Limaprost) Cefotiamhexetil*HCl (цефалоспорин)	Prostavastin, Rigidur Opalmon Pansporin T	Раствор для внутривенного введения Таблетки	Япония США
β-циклодекстрин			
Цефалоспорин Хлордiazепоксид Дексаметазон Дифенгидрамин Фенобарбитал	Meiact Transillum Glymesason Stada-Travel Корвалол	Таблетки Таблетки Мазь Таблетки Таблетки	Япония Аргентина Япония страны Европы РФ
2-гидроксипропил- β-циклодекстрин			
Цизаприд Итраконазол Митоминин Индометацин Ципрофлоксацина гидрохлорид+дексаметазон	Propulsid Sporanox Mitozytrex Индоколлир Комбинил-Дуо	Суппозитории Растворы для перорального и внутривенного введения Глазные и ушные капли	Страны Европы США РФ РФ
2-гидроксипропил- γ-циклодекстрин			
Диклофенак натрия Тс-99 Теоборохиме	Voltaren Cardiotec	Глазные капли Раствор для внутривенного введения	Страны Европы США

Таким образом, на основании проведенного обзора литературы следует, что сочетанные повреждения печени и почек вследствие приема лекарственных препаратов, отравлениях, забо-

леваниях печени и др. являются достаточно распространенными поражениями. Получены данные, что одним из механизмов повреждения является окислительный стресс, который способствует развитию и прогрессированию заболеваний печени и почек независимо от их этиологии. Учитывая это, применение растительных препаратов с антиоксидантными свойствами при поражении печени и почек является патогенетически обоснованным. Применение препаратов этой группы при воспалительных, эндокринных заболеваниях, а также при патологии печени и почек позволяет уменьшить интенсивность ПОЛ, а также снизить выраженность патологического процесса. Применение флавоноидов ограничено из-за низкой растворимости, что делает необходимым поиск путей повышения их растворимости для введения в организм, минуя ЖКТ, где происходит деградация флавоноидов бактериальной микрофлорой, что значительно снижает их биодоступность. В связи с этим весьма актуальным представляется комплексное изучение влияния сухого экстракта из корней шлемника байкальского, содержащего флавоноиды, обладающие антиоксидантным действием, на основные патогенетические механизмы развития заболеваний печени и почек, для создания различных форм лекарственных препаратов сочетающих гепато- и нефропротекторные свойства. Для повышения растворимости флавоноидов целесообразно использование 2-ГП-β-ЦД.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика объектов исследования

В качестве объектов исследования в работе использовали СЭ ШБ, производства компании Shenzhen Naturactive (КНР), представляющий собой желтый порошок с характерным запахом и горьковато-вяжущим вкусом, полученный из корней травянистого многолетнего растения *Scutellaria baicalensis*, семейства Губоцветные (Lamiaceae). Для получения растворимой формы СЭ ШБ использовали 2-ГП-β-ЦД, наиболее растворимый в воде циклодекстрин и наименее токсичный. Растворимую форму - СЭ-2-ГП-β-ЦД готовили на кафедре неорганической химии ПМФИ под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента Л.И. Щербаковой.

Стандартизация СЭ ШБ проведена по байкалину, который представляет собой глюкуронид флавоноид байкалеина (рисунок 2.1.1) и содержание которого в данном экстракте, согласно сертификату анализа компании, составляет - 95%.

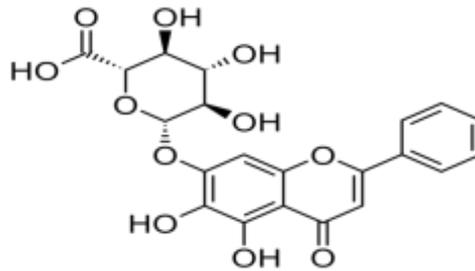


Рисунок 2.1.1 - Структурная формула байкалина

Анализ СЭ ШБ при помощи валидированной ВЭЖХ-методике [32] был проведен на кафедре фармацевтической химии ПМФИ под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента С.П. Сенченко с использованием стандартного образца байкалина, что подтвердило заявленное содержание данного флавоноид в СЭ ШБ (см. хроматограммы раствора СЭ ШБ и раствора байкалина на рисунках 2.1.2 и 2.1.3).

Водорастворимую форму сухого экстракта шлемника байкальского с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином - СЭ-2-ГП-β-ЦД готовили в молярном соотношении 1:3, для этого навеску 2-ГП-β-ЦД 375 мг растворяли в 10 мл воды и добавляли туда же 50 мг СЭ ШБ. Полученную смесь растворяли при перемешивании в течение 30 минут, затем фильтровали.

Улучшение растворимости СЭ ШБ при использовании 2-ГП-β-ЦД было доказано методом спектрофотометрии. Для этого около 0,01 г СЭ ШБ (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 – 60 мл воды очищенной и растворяли при нагревании. Полученный раствор доводили водой до метки, фильтровали через бумажный фильтр,

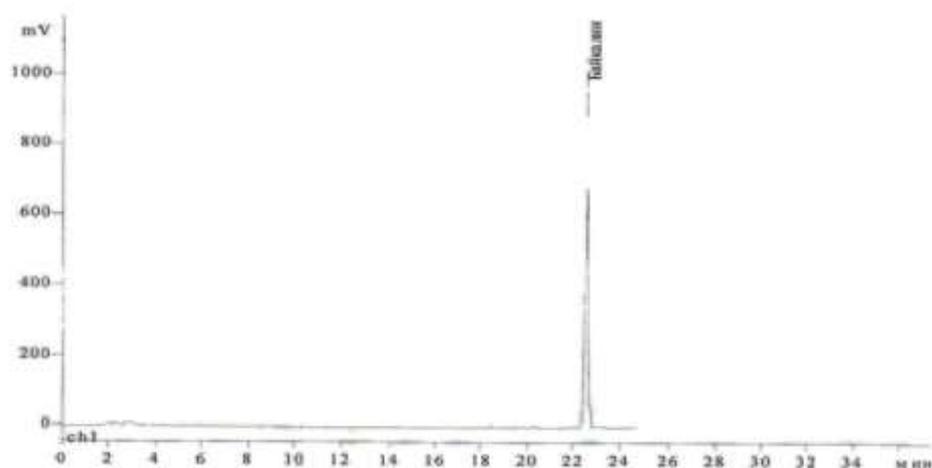


Рисунок 2.1.2 - Хроматограмма стандартного образца байкалина

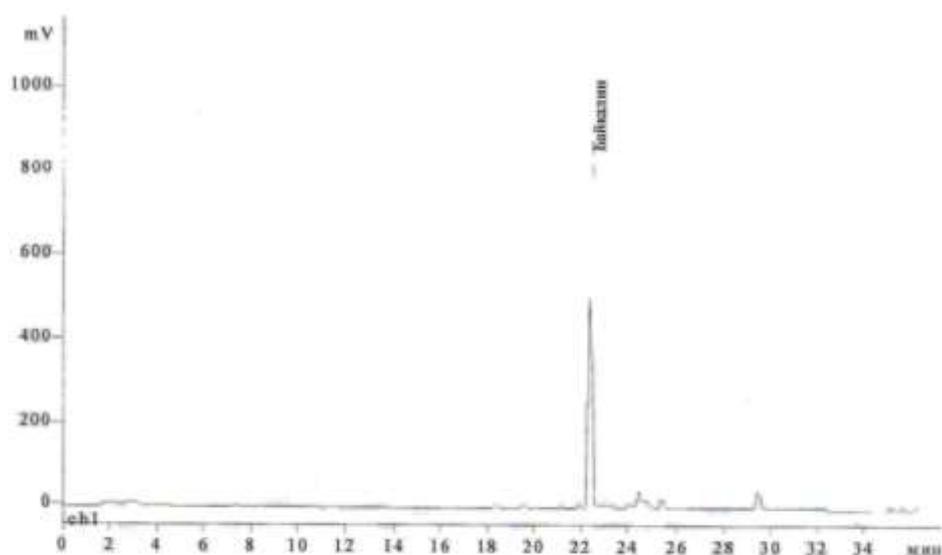


Рисунок 2.1.3 - Хроматограмма раствора сухого экстракта корней шлемника байкальского

отбрасывая первые 10 мл фильтрата. В мерные колбы вместимостью 25 мл отбирали по 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 1,75; 2,0; 2,25 мл полученного раствора, объем растворов доводили водой до метки. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на СФ-56 при максимуме поглощения 275 нм, характерного для байкалина, и строили график зависимости оптической плотности от концентрации байкалина, которую рассчитывали, исходя из его содержания в СЭ. Как следует из данных градуировочного графика (рисунок 2.1.4), линейная зависимость наблюдается в интервале концентрации байкалина 0,0018-0,0081 мг/мл, коэффициент корреляции 0,995.

Затем определяли изменение растворимости в присутствии 2-ГП-β-ЦД. Для этого в пробирки помещали около 0,01 г (точная навеска) СЭ ШБ, добавляли 0,01; 0,05; 0,15; 0,20; 0,25; и т.д. до 2,0 г 2-ГП-β-ЦД, доводили объем до 10 мл водой очищенной и взбалтывали в течение 30

минут, затем фильтровали и поступали, как описано выше. Содержание байкалина рассчитывали по уравнению градуировочного графика. Кривая растворимости байкалина в присутствии 2-ГП-β-ЦД изображена на рисунке 2.1.5.

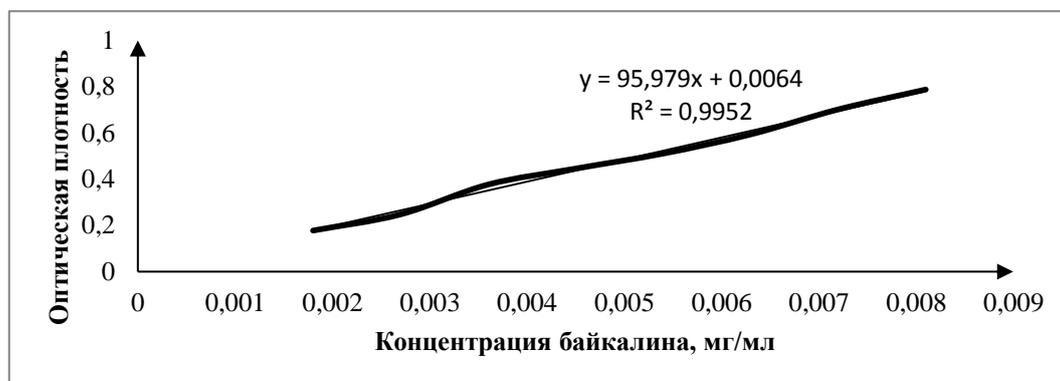


Рисунок 2.1.4 - Градуировочный график байкалина

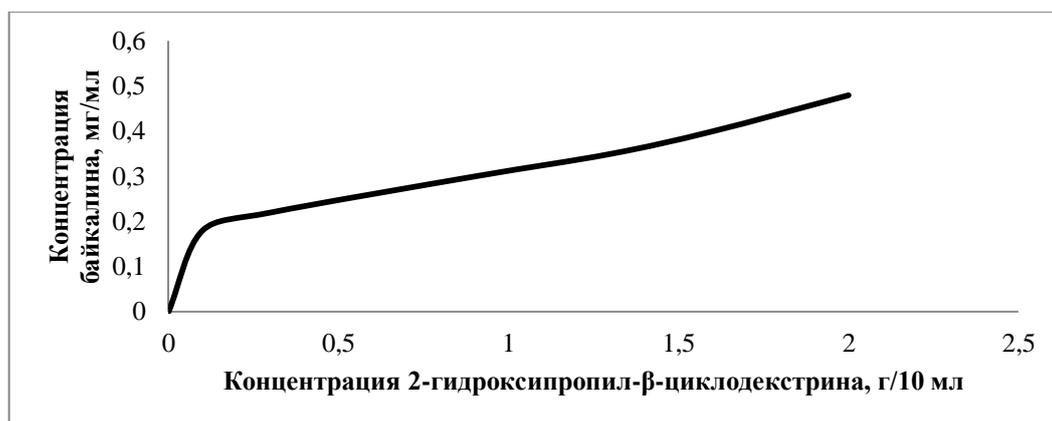


Рисунок 2.1.5 - График зависимости растворимости байкалина от концентрации 2-ГП-β-ЦД

Согласно данным [217], эту кривую можно отнести к типу А, подтипу А_Н, что свидетельствует о наличии продуктов взаимодействия между байкалином и 2-ГП-β-ЦД. Максимальное значение растворимости байкалина составило 0,481 мг/мл. Таким образом, растворимость байкалина в присутствии 2-ГП-β-ЦД увеличилась в 5 раз.

Для установления взаимодействия между байкалином и 2-ГП-β-ЦД нами были получены ИК-спектры СЭ ШБ, 2-ГП-β-ЦД, их физической смеси и СЭ-2-ГП-β-ЦД (рисунок 2.1.6). Основные изменения в спектре СЭ-2-ГП-β-ЦД наблюдались в области 1600 см⁻¹ и 1750 см⁻¹. В этом диапазоне длин волн ИК-спектр полученного соединения не аддитивен спектру физической смеси. Появление новой полосы поглощения в области 1650-1640 см⁻¹ может быть объяснено возникновением водородной связи между карбоксильной группой байкалина и гидроксилами 2-ГП-β-ЦД. В области 1680-1750, вероятно, происходит образование водородной связи между кислородом карбонильной группы байкалина и гидроксильными группами 2-ГП-β-ЦД.

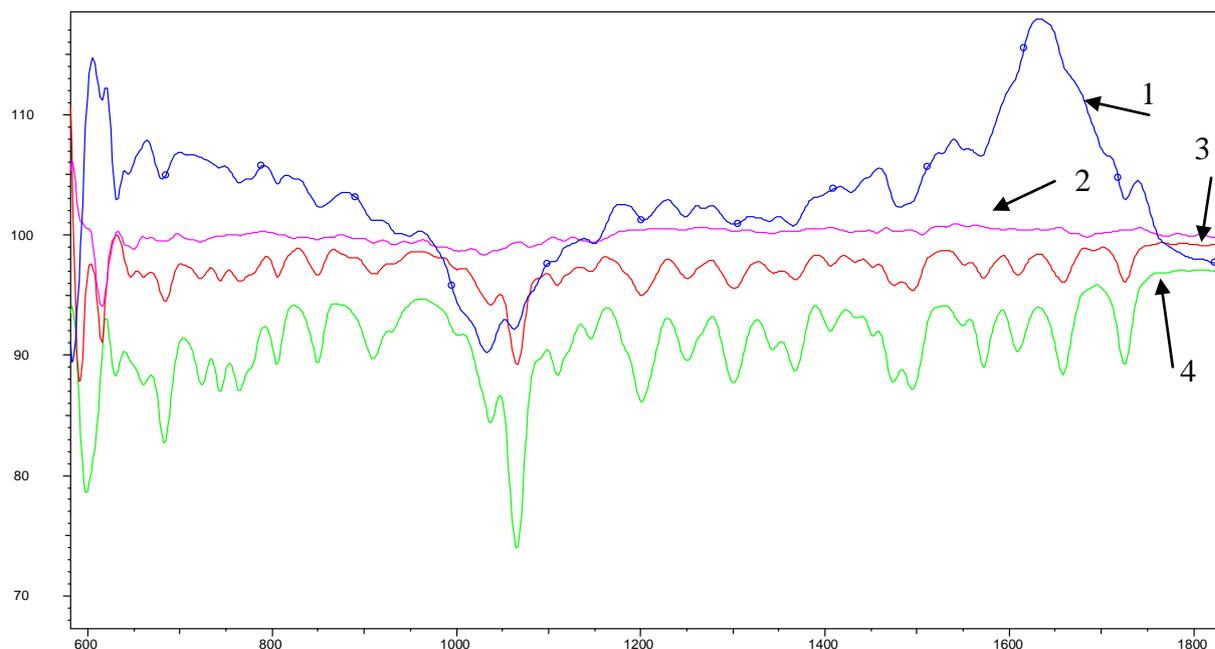


Рисунок 2.1.6 - ИК-спектры поглощения: 1 – СЭ-2-ГП-β-ЦД; 2 – 2-ГП-β-ЦД; 3 - физическая смесь СЭ ШБ и 2-ГП-β-ЦД; 4 - СЭ ШБ

В качестве препаратов сравнения использовали средства растительного происхождения. *Гепатопротекторную* активность изучали в сравнении с экстрактом плодов расторопши пятнистой - эквивалент силимарина, который является смесью 4 изомеров флаволигнанов: силибинина, изо-силибинина, силидианина и силикрестина (торговые названия «Легалон» производитель Мадаус ГмбХ, Германия). Флаволигнаны экстракта расторопши пятнистой, взаимодействуя со свободными радикалами, прерывают процесс ПОЛ, препятствуют разрушению клеточных структур, в поврежденных гепатоцитах стимулируют синтез структурных и функциональных белков и фосфолипидов, ускоряют регенерацию клеток печени. *Нефропротекторную* активность изучали в сравнении с эталонным препаратом «Урокам»[®] (производитель Камелия НПП ООО). Урокам содержит экстракты листьев березы, брусники, толокнянки обыкновенной и плодов клюквы. Оказывает уроантисептическое, спазмолитическое и противовоспалительное действие на мочеполовую систему, обладает мочегонным действием и улучшает функциональное состояние мочевыделительной системы.

2.2 Лабораторные животные

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, с соблюдением принципов Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» [43].

2.3 Постановка опытов и основные экспериментальные серии

2.3.1. Определение среднелетальной дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД

Среднелетальную дозу (LD_{50}) СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД определяли [109,114] на 108 белых мышах самках массой 20-25 г. Кроме того, было проведено определение LD_{50} 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 LD_{16} , LD_{50} и LD_{84} .

2.3.2. Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения печени тетрахлорметаном

Определение оптимальной терапевтической дозы было проведено на 84 половозрелых крысах Wistar обоего пола, массой 220-240 г в соответствии с методическими рекомендациями по изучению гепатопротективной активности лекарственных средств Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития [109], по которым действие потенциальных гепатопротекторов оценивают в 3-5 дозах (одна доза соответствует дозе эталонного препарата) в опытах на мелких лабораторных животных с острым токсическим гепатитом, вызванным введением тетрахлорметана. Острый гепатит вызывали путем введения *per os* с помощью зонда 3 раза через день 50% масляного раствора тетрахлорметана в вазелиновом масле в дозе 0,15 мл/100 г массы тела животного [40]. Исходя из рекомендаций [109], данных литературы и на основании ранее проведенных исследований по определению оптимальных терапевтических доз флавоноидов [40], были выбраны следующие дозы СЭ ШБ: 50, 100, 300 и 500 мг/кг, причем одна из доз соответствовала рекомендуемой дозе препарата сравнения силибинина (торговое наименование - легалон) – 100-200 мг/кг, как эталонного гепатопротектора при изучении растительных средств [109].

Выбор способов введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД основывался на их соответствии способам применения предполагаемых лекарственных форм (СЭ ШБ – для перорального применения, СЭ-2-ГП-β-ЦД – в виде инъекционных и инфузионных растворов) в клинике [109].

Выбор доз СЭ-2-ГП-β-ЦД осуществлялся, исходя из оптимальной терапевтической дозы и значений LD_{50} СЭ ШБ. Было установлено (см. глава 3), что LD_{50} СЭ ШБ при пероральном введении составляет 16452 мг/кг, а оптимальная терапевтическая доза – 300 мг/кг, т.е. $1/55 LD_{50}$. LD_{50} СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении составляет 366 мг/кг (глава 3), тогда $1/55 LD_{50}$ СЭ-2-ГП-β-ЦД будет равно 6,65 мг/кг. На основании этого, для определения оптимальной терапевтической дозы СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении, выбраны дозы 5 мг/кг (близкая к теоретически рассчитанной дозе), а также в 3 и 5 раз превышающие ее, а именно - 15 и 25 мг/кг.

СЭ ШБ вводили перорально в виде водной суспензии, СЭ-2-ГП-β-ЦД – внутривбрюшинно в виде водного раствора ежедневно в одно и то же время до кормления по лечебно-профилактической схеме: в течение 7 дней до начала введения СС1₄, а затем на фоне воспроизведения модели (5 дней). В случае совместного применения веществ и СС1₄, вещества вводили за 1 час до использования гепатотоксина. В качестве патологических контролей служили группы животных, получавшие такой же объём растворителя (воды очищенной), в одном случае – перорально, в другом – внутривбрюшинно (контроль 1: СС1₄ + растворитель, per os или СС1₄ + растворитель, внутривбрюшинно). В экспериментальной серии по определению оптимальной терапевтической дозы СЭ-2-ГП-β-ЦД была введена еще одна контрольная группа – контроль 2, которой вводили СС1₄ + 2-ГП-β-ЦД, 25 мг/кг, внутривбрюшинно.

Забой животных проводили путём декапитации под лёгким эфирным наркозом через сутки после последнего введения СС1₄. Одновременно проводили забой интактных животных, голодавших в течение 12-14 часов.

Об эффективности гепатозащитного действия судили: 1) по степени нормализации биохимических маркеров основных патосиндромов, характеризующих поражение печени (активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови (АлАт) - цитолиз; активность щелочной фосфатазы (ЩФ) и содержание общего билирубина (ОБ) в сыворотке крови - холестаза, содержание триглицеридов (ТРГ) в печени – жировая дистрофия); 2) по проценту выживших животных (по «конечной точке»); 3) по коэффициенту гепатопротекции.

Методы определения биохимических показателей указаны ниже (подраздел 2.3.5). Коэффициент гепатопротекции рассчитывали для каждого показателя, а также средний коэффициент с учетом всех биохимических показателей, по формуле:

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

где H - коэффициент протекции;

O – значение показателя в опытных группах;

K – значение показателя у животных, получавших только токсин;

N – значение показателя у интактных животных [40].

Чем больше величина этого критерия приближалась к 100%, тем более эффективным считалось гепатозащитное действие.

2.3.3. Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения почек хлоридом ртути (II)

Исследование было проведено на 96 половозрелых крысах Wistar обоего пола, массой 220-240 г. Модель поражения почек воспроизводили однократным внутривбрюшинным введением хлорида ртути (II) в дозе 2 мг/кг. В экспериментальной медицине «сулемовая почка» рас-

сма­три­ва­ет­ся как клас­си­че­ский ва­ри­ант неф­ро­за [26]. Вод­ную суспен­зию СЭ ШБ и вод­ный рас­твор СЭ-2-ГП-β-ЦД вво­ди­ли теми же спо­со­ба­ми и в тех же до­зах, как и при по­ра­же­нии пе­че­ни тет­ра­хлор­метаном, пре­д­ва­ри­тель­но за 1 час до инъ­ек­ции хлорида ртути (II), а за­тем 1 раз в день в те­че­ние 5 су­ток. В ка­че­стве па­то­ло­гиче­ских кон­тро­лей слу­жи­ли груп­пы жи­вот­ных, по­лу­чав­шие та­кой же объ­ем рас­тво­ри­те­ля – во­ды очи­щен­ной (пе­ро­раль­но или внут­ри­брю­шин­но со­от­вет­ствен­но). За­бой жи­вот­ных про­во­ди­ли пу­тём де­ка­пи­та­ции под лёг­ким эфир­ным нар­ко­зом на 6 су­тки по­сле вве­де­ния хлорида ртути (II). В экс­пе­ри­мен­таль­ной се­рии по оп­ре­де­ле­нию оп­ти­маль­ной те­ра­пев­ти­че­ской до­зы СЭ-2-ГП-β-ЦД та­же бы­ла вве­де­на е­ще одна кон­троль­ная груп­па – кон­троль 2, ко­торой вво­ди­ли хлорид ртути (II) + 2-ГП-β-ЦД, 25 мг/кг, внут­ри­брю­шин­но.

Эф­фек­тив­ность ис­сле­дуе­мых ве­ществ оце­ни­ва­ли: 1) по сте­пени нор­ма­ли­за­ции био­хи­ми­че­ских мар­ке­ров по­ра­же­ния по­чек (со­дер­жа­нию кре­а­ти­ни­на в сы­во­рот­ке кро­ви и мо­че, мо­че­ви­ны в сы­во­рот­ке кро­ви и мо­че), во­до­вы­де­ли­тель­ной (объ­ем мо­чи) и экс­кре­тор­ной (ско­рость клу­боч­ковой филь­тра­ции) функ­ций по­чек; 2) по про­цен­ту вы­жив­ших жи­вот­ных (по «конеч­ной точ­ке»); 3) по ко­эф­фи­ци­ен­ту неф­ро­про­тек­ции.

Мо­чу со­би­ра­ли за су­тки до за­бо­я на­то­щак в те­че­ние 2-х ча­сов по­сле 2,5% вод­ной на­груз­ки и оце­ни­ва­ли ин­тен­сив­ность ди­у­ре­за по объ­ему вы­де­лен­ной мо­чи. Ме­то­ды оп­ре­де­ле­ния био­хи­ми­че­ских по­ка­за­те­лей при­ве­де­ны ни­же (под­раз­дел 2.3.4). Ко­эф­фи­ци­ент неф­ро­про­тек­ции рас­счи­ты­ва­ли по той же фор­му­ле, что и ко­эф­фи­ци­ент ге­па­то­про­тек­ции (см. вы­ше, под­раз­дел 2.3.2).

Ско­рость клу­боч­ковой филь­тра­ции (СКФ) рас­счи­ты­ва­ли по фор­му­ле [127,236]:

$$СКФ = \frac{U_{кр} \cdot V_m}{C_{кр} \cdot T}, \quad (2)$$

где $C_{кр}$ – кон­цен­тра­ция кре­а­ти­ни­на в сы­во­рот­ке кро­ви;

$U_{кр}$ – кон­цен­тра­ция кре­а­ти­ни­на в мо­че;

T – время с­бо­ра мо­чи в ми­ну­тах;

V_m – объ­ем мо­чи.

2.3.4 Изучение неф­ро­про­тек­тор­но­го дей­ствия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при по­ра­же­нии по­чек хлори­дом ртути (II)

Ис­сле­до­ва­ния про­ве­де­ны на 64 кры­сах-сам­ках Wistar с мас­сой 220–240 г на мо­де­ли по­ра­же­ния по­чек хлори­дом ртути (II) при ле­чеб­но-про­фи­лак­ти­че­ском вве­де­нии СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, как опи­са­но в 2.3.3, в оп­ти­маль­ных те­ра­пев­ти­че­ских до­зах и со­от­вет­ст­вую­щих спо­со­бах вве­де­ния (в ви­де вод­ной суспен­зии пе­ро­раль­но и в ви­де вод­но­го рас­тво­ра внут­ри­брю­шин­но). В ка­че­стве па­то­ло­гиче­ского кон­тро­ля слу­жи­ла толь­ко одна груп­па жи­вот­ных, ко­торая по­лу­ча­ла эк­ви­объ­ем­ное ко­ли­че­ство рас­тво­ри­те­ля пе­ро­раль­но, по­сколь­ку не бы­ло вы­яв­ле­но до-

стоверных отличий между контрольными группами, которым вводили воду очищенную перорально и внутрибрюшинно (см. главу 3).

В качестве препарата сравнения использовали «Урокам»[®] (производитель Камелия НПП ООО), как средство растительного происхождения. Урокам в клинической практике принимают внутрь по 1 чайной ложке 3 раза в день, т.е. терапевтическая доза для взрослого человека составляет 15 мл в сутки. С учетом того, что средний вес человека 70 кг, это соответствует 0,21 мг/кг. Коэффициент перерасчета для человека массой 70 кг – 39,0, для крысы массой 200 г – 6,5 [109]. Терапевтическая доза для крыс рассчитывается по формуле: $0,21 \text{ мг/кг} \times 39 \div 6,5 = 1,25 \text{ мг/кг}$. В данной дозе (1,25 мг/кг) урокам вводили крысам внутривентрикулярно по аналогичной с исследуемыми субстанциями схеме.

Морфофункциональную оценку эффективности нефропротекторного действия исследуемых субстанций в сравнении с урокамом проводили по степени нормализации более широкого круга биохимических показателей, характеризующих состояние почек: в сыворотке крови определяли содержание мочевины, креатинина, показатели электролитного состава крови (содержание калия, натрия, кальция, фосфора), показатели белкового (содержание общего белка, альбуминов и глобулинов). В моче определяли содержание мочевины и креатинина, также проводили определение в моче некоторых патологических компонентов: белка, гемоглобина и лейкоцитов. Исследовали диурез с 2,5% водной нагрузкой, рассчитывали СКФ, весовой индекс почек, а также описывали гистологическую картину почек. Отбирали по 4-5 оставшихся в живых крыс из каждой группы.

Все биохимические показатели в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе BS-380 «Mindray» с использованием стандартных наборов реагентов «DiaSys», «Ольвекс диагностикум». Содержание креатинина в сыворотке и моче определяли в щелочном растворе по образованию красно-оранжевого комплекса, что пропорционально концентрации креатинина в образце [162]. Содержание креатинина в крови и моче выражали в мкмоль/л. Содержание мочевины в крови и моче определяли энзиматическим методом [65, 202] с использованием уреазы, которая переводит мочевину в аммиак, и выражали в ммоль/л.

Содержание общего белка в сыворотке крови определяли биуретовым методом [309], фракцию альбуминов - по измерению оптической плотности окрашенного комплекса альбумина с бромкрезоловым зеленым, который образуется в слабокислой среде в присутствии детергента [188, 238]. Фракцию глобулинов определяли расчетным методом по разнице между содержанием общего белка и альбуминов. Содержание белка, альбуминов и глобулинов выражали в г/л.

Для определения концентрации кальция использовали фотометрический тест образования комплекса кальция с арсеназо III синего цвета, интенсивность окраски которого пропор-

циональна концентрации кальция [163]. Содержание кальция выражали в ммоль/л. Определение концентрации калия в сыворотке крови проводили нефелометрически по реакции между ионами калия и тетрафенилбората, в результате чего образуется стабильная суспензия. Мутность суспензии пропорциональна концентрации ионов калия [218]. Содержание калия выражали в ммоль/л. Концентрацию натрия в сыворотке крови определяли энзиматическим псевдокинетическим методом, который основан на активации фермента β -галактозидазы ионами натрия, находящимися в реакционной среде, с последующим ферментативным превращением синтетического субстрата о-нитрофенил- α ,D-галактопиранозида в о-нитрофенол и галактозу [194]. Содержание натрия выражали в ммоль/л. Содержание фосфора в сыворотке крови определяли по реакции фосфора в растворе серной кислоты с молибдатом аммония с образованием фосфомолибдатного комплекса [209] и выражали в ммоль/л.

Присутствие в моче белка, лейкоцитов, эритроцитов определяли с помощью качественных диагностических полосок на анализаторе мочи CL-50 НТИ (High Technology, США). Белок определяли по изменению цвета кислотно-основного индикатора под влиянием белков. Проба наиболее чувствительна к альбумину, значительно менее чувствительна к глобулинам, мукопротеинам, гемоглобину и белку Бенс-Джонса. Лейкоциты определяли по ферментативной реакции, катализируемой эстеразой (лейкоцитарная эластаза), в результате которой образуется свободный индоксил. В дальнейшем индоксил взаимодействует с диазониевой солью с образованием окрашенного в розовый или фиолетовый цвет соединения. Интенсивность окраски пропорциональна количеству лейкоцитов в исследуемой моче. Определение эритроцитов основано на способности гемоглобина катализировать окисление индикатора органическим гидропероксидом, содержащимся в зоне индикации.

Для оценки восстановления про-антиоксидантного равновесия изучали влияние исследуемых субстанций в сравнении с урокамом на интенсивность ПОЛ: в гомогенате почек определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК); в постъядерной фракции (ПЯФ) почек измеряли интенсивность Fe^{2+} -аскорбат индуцированного ПОЛ, а также проводили оценку антиоксидантной системы (АОС) путём определения активностей в постъядерных фракциях почек каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатион-S-трансферазы (Г-S-T), глутатионпероксидазы (ГП), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и содержанию глутатиона восстановленного (GSH) в почках. Описание методов приведено в разделе 2.4.

Для оценки про-антиоксидантного равновесия рассчитывали коэффициент окислительного стресса по формуле:

$$K = \frac{\text{прооксиданты (ДК} \times \text{Fe}^{2+}\text{-аскорбатзависимое ПОЛ)}}{\text{антиоксиданты (СОД} \times \text{каталаза} \times \text{ГП} \times \text{Г-S-T} \times \text{Г-6-ФДГ} \times \text{GSH})}, \quad (3)$$

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 [40].

2.3.5. Изучение гепатопротекторного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при поражении печени парацетамолом

Работа выполнена на 64 белых крысах-самках Wistar с исходной массой 200-230 г. Токсическое поражение печени вызывали внутрижелудочным введением парацетамола в дозе 2,5 мг/кг на 1%-м крахмальном растворе в течение двух дней [18,19]. СЭ ШБ вводили в дозе 300 мг/кг перорально, СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг внутрибрюшинно в течение трех дней (2 дня совместно с парацетамолом и еще один день после его отмены). В качестве препарата сравнения использовали «Легалон»[®]. Легалон вводили перорально в рекомендованной для силибинина дозе 100 мг/кг (см. подраздел 2.3.2), которая является оптимальной терапевтической дозой в эксперименте, что также установлено в ранее проведенных нами исследованиях [40]. В случае совместного применения веществ и парацетамола, вещества вводили за 1 час до введения парацетамола. В качестве патологического контроля служила только одна группа животных, которая получала эквивалентное количество растворителя перорально, поскольку не было выявлено достоверных отличий между контрольными группами, которым вводили воду очищенную перорально и внутрибрюшинно (см. главу 3). Забой проводили через сутки после последнего введения исследуемых субстанций и препарата сравнения.

Морфофункциональную оценку эффективности гепатопротекторного действия исследуемых субстанций в сравнении с легалоном проводили по степени нормализации более широкого круга биохимических показателей, характеризующих состояние печени: в сыворотке крови определяли показатели белкового (содержание общего белка, альбуминов и глобулинов, активность холинэстеразы), углеводного (содержание глюкозы) и липидного (содержание триглицеридов и холестерина) обменов, синдрома холестаза (содержание общего билирубина и его фракций: прямого и непрямого билирубина, активностей γ-глутамилтрансферазы и щелочной фосфатазы), синдрома цитолиза (активностей ЛДГ, АлАт, АсАт). Для оценки степени жировой дистрофии в гомогенатах печени определяли содержание триглицеридов. Описывали гистологическую картину печени. Отбирали по 4-5 оставшихся в живых крыс из каждой группы.

Все биохимические показатели в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе BS-380 «Mindray» с использованием стандартных наборов реагентов «DiaSys», «Ольвекс диагностикум». Содержание общего белка, белковых фракций измеряли, как описано выше (подраздел 2.3.4). Содержание ОБ и его фракций определяли по методу Уолтерс-Джерарда [307] по образованию окрашенного азосоединения и выражали в мкмоль/л. Не-

прямой билирубин определяли расчетным методом по разнице между общим и прямым билирубином. Количество глюкозы в сыворотке крови измеряли ферментативным тестом, который основан на ферментативном окислении глюкозы в присутствии глюкозооксидазы [301] и выражали в ммоль/л.

Активность АлАт и АсАт в сыворотке крови определяли по методу Reitman S. и Frankel S. [61, 115] и выражали в Ед/л. Активность ЩФ в сыворотке крови определяли по методу Bessy O.A., Lowry O.H., Brock M.I. [61]. Мерой каталитической активности являлось количество освобожденного 4-нитрофенола, который определяли фотометрически после остановки реакции ингибитором ЩФ. Активность фермента выражали в Ед/л. Активность γ -глутамилтрансферазы измеряли по «конечной точке» по количеству образовавшегося 5-амино-2-нитробензоата, которое определяли фотометрически [186] и выражали в Ед/л. Определение активности ЛДГ проводили с применением оптимизированного УФ теста, основанного на восстановлении пирувата в лактат под действием ЛДГ [302]. Активность ЛДГ выражали в Ед/л. Активность ХЭ определяли кинетическим фотометрическим тестом по гидролизу бутирилтиохолина с образованием масляной кислоты и тиохолина. Тиохолин затем восстанавливается гексациано-(III)-ферратом калия до бесцветного гексациано-(II)-феррата, что приводит к уменьшению поглощения света, измеряемого при 405 нм [231]. Активность фермента выражали в Ед/л. Содержание холестерина в сыворотке крови измеряли ферментативным фотометрическим тестом. Образовавшийся в результате гидролиза и имеющийся в пробе холестерин окисляется кислородом воздуха под действием холестериноксидазы с образованием эквимольных количеств перекиси водорода [122]. Содержание холестерина в сыворотке крови выражали в ммоль/л. Содержание ТРГ в сыворотке определяли ферментативным колориметрическим методом, который основан на катализе липазой реакции гидролиза ТРГ с образованием жирных кислот и эквимольного количества глицерина [315]. Содержание ТРГ выражали в ммоль/л. Содержание ТРГ в гомогенате печени (мкмоль/г) измеряли по Gottfrieds S.P., Rosenberg B. в модификации Сентебовой [113]. Стандартный раствор триолеина содержал 80% воды для устранения ошибки экстрагирования. Гомогенат печени готовили на 0,85% растворе NaCl в соотношении 1:8 или на 100мМ трис-HCl буфере, pH 7,4 в соотношении 1:7. Измеряли интенсивность ПОЛ по количеству ДК в гомогенате печени, активность АОС - по содержанию GSH в печени, активности каталазы, СОД, Г-S-T в ПЯФ печени. Рассчитывали коэффициент окислительного стресса для оценки про-антиоксидантного равновесия, как описано в 2.3.4.

2.3.6 Изучение гепатонепрозащитного действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД при введении циклофосфана

Работа выполнена на 77 белых крысах-самцах Wistar с исходной массой 220-250 г. Циклофосфан вводили внутривентриально в дозе 150 мг/кг однократно [97]. СЭ ШБ вводили в

дозе 300 мг/кг перорально, СЭ-2-ГП-β-ЦД - в дозе 15 мг/кг внутрибрюшинно в течение четырех дней: первый день – за 1 час до введения циклофосфана и затем еще 3 дня без циклофосфана. Препараты сравнения «Легалон»[®] и «Урокам»[®] вводили перорально в терапевтических дозах 100 мг/кг и 1,25 мл/кг соответственно по аналогичной схеме. В качестве патологического контроля служила группа животных, которым перорально вводили эквивалентное количество растворителя. Забой осуществляли через сутки после последнего введения исследуемых субстанций и препаратов под легким эфирным наркозом. Одновременно проводили забой интактных животных, голодавших в течение 12-14 часов.

Эффективность нефропротекторного действия изучали, как описано в подразделе 2.3.4, кроме определения показателей электролитного обмена и некоторых показателей мочи (белок, эритроциты, лейкоциты). Эффективность гепатопротекторного действия изучали, как описано в подразделе 2.3.5, кроме определения активностей γ-глутамилтрансферазы и ХЭ. В печени дополнительно определяли содержание гликогена по реакции с фенолом в кислой среде после щелочного гидролиза гликогена, содержащегося в навеске печени и выражали в г/кг [241]. Описывали гистологическую картину печени и почек. Отбирали по 4-5 из каждой группы.

Для оценки про-антиоксидантного равновесия в печени и почках определяли показатели, описанные в подразделе 2.3.4, и рассчитывали коэффициент окислительного стресса.

2.3.7 Изучение влияния курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на морфофункциональное состояние печени и почек, интенсивность ПОЛ и систему антиоксидантной защиты у здоровых животных

Опыты проведены на 60 крысах-самках Wistar, массой 190-200 г. 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) и 2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг внутрибрюшинно (контроль 3).

Через сутки после последнего введения веществ проводили забой животных опытных и контрольных групп путём декапитации под лёгким эфирным наркозом и проводили изучение показателей, указанных в 2.3.4, 2.3.5. Описывали также гистологическую картину печени и почек (отбирали по 4 крысы из каждой группы).

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 Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ, содержание ДК) и АОС (содержание GSH, активности Г-S-T, Г-6-ФДГ, каталазы, ГП, СОД).

2.3.8 Изучение фармакокинетики байкалина у крыс при пероральном введении СЭ ШБ и внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД

Эксперименты проведены на кафедре фармацевтической и токсикологической химии под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента И.П. Ремезовой на 108 крысах-самцах Wistar с массой 220–240 г. СЭ-2-ГП-β-ЦД вводили внутрибрюшинно в дозе 15 мг/кг. СЭ ШБ вводили перорально в дозе 300 мг/кг. Контрольной группе животных вводили воду очищенную в таком же объеме. Распределение байкалина у крыс изучали в печени и почках.

Забор проб крови и органов при внутрибрюшинном введении проводился через 10, 20, 30 минут и через 1, 2, 4, 6, 8 и 10 часов после введения СЭ-2-ГП-β-ЦД, а при пероральном введении - через 15, 30 минут и через 1, 2, 4, 6, 8 и 10 часов после введения СЭ ШБ. В каждой группе было по 6 животных.

Образцы крови центрифугировали, сыворотку крови замораживали и хранили при -18°C до проведения количественного анализа. Для изолирования байкалина из сыворотки крови использовали следующую методику: к 100 мкл сыворотки добавляли 1 мл раствора аммония сульфата насыщенного и 3 мл ацетонитрила. Содержимое центрифугировали со скоростью 3000 об/мин. в течение 5 минут. Надосадочную жидкость помещали в выпарительную чашку и удаляли растворитель при комнатной температуре. Сухой остаток, полученный после испарения экстрагента, растворяли в 5 мл 96% этанола.

Внутренние органы замораживали и хранили при -18°C до проведения количественного анализа. Для изолирования байкалина из внутренних органов использовали следующую методику: навеску объекта измельчали до размера кусочков 0,5x0,5x0,5 см и заливали водой, подкисленной щавелевой кислотой до pH 2-2,5, в соотношении 1:2. Настаивали 2 раза: 2 ч и 1 ч при периодическом перемешивании. Водную вытяжку процеживали через двойной слой марли, подщелачивали до pH 7-8 25% раствором аммиака, добавляли 1 мл раствора аммония сульфата насыщенного и экстрагировали 3 мл хлороформа. Содержимое взбалтывали в течение 5 минут и помещали в делительную воронку. После разделения фаз отделяли слой органического растворителя. Растворитель удаляли при комнатной температуре. Сухой остаток, полученный после испарения экстрагента, растворяли в 5 мл 96% этанола.

Обнаружение и количественное определение байкалина в извлечениях проводили методом ВЭЖХ на приборе «Миллихром А-02». Нами были использованы следующие условия хроматографирования: хроматографическая колонка размером 2x75 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом «ProntoSil 120-5-C18 AQ»; подвижная фаза: элюент А - 0,1% раствор кислоты трифторуксусной, элюент Б - ацетонитрил (от 5% до 95% за 25 мин); скорость потока - 100 мкл/мин; время измерения 0,18 с; температура термостата колонки - 35°C, объем пробы 2 мкл, длина волны - 254 нм. На хроматограммах сыворотки крови и органах контрольных животных

пик, характерный для байкалина, отсутствовал. Расчет количественного содержания байкалина в извлечениях проводили по стандартному образцу байкалина. Содержание байкалина в сыворотке крови и органах рассчитывали по формулам [132]:

$$x = \frac{S_x * C_{ст}}{C_{ст} * \text{навеска органа}} \quad (4) \quad x = \frac{S_x * C_{ст}}{S_{ст}} \quad (5)$$

где x - содержание байкалина; S_x - площадь пика;

$S_{ст}$ – площадь пика стандарта; $C_{ст}$ – концентрация стандарта

Для изучения биодоступности байкалина была рассчитана площадь под кривой «концентрация – время» (AUC), которая является основным фармакокинетическим параметром и характеризует биологическую доступность лекарственного средства. AUC – это суммарная площадь под кривой концентрации лекарственного средства от момента введения в организм до полного удаления из него. Данный фармакокинетический параметр рассчитывали методом суммирования наименьших трапеций [110]. Относительную биодоступность (F , %) определяли по отношению площади под кривой «концентрация-время» байкалина в системном кровотоке после перорального введения, к площади под кривой «концентрация-время» байкалина, достигнутой после внутрибрюшинного введения, с учетом введенных доз вещества [59].

$$F = \frac{AUC_{по} * Доза_{вб}}{AUC_{вб} * Доза_{по}} * 100\% \quad (6)$$

где $AUC_{по}$ и $AUC_{вб}$ – площадь под кривой при пероральном и внутрибрюшинном введении;

$Доза_{вб}$ и $Доза_{по}$ – дозы вещества при внутрибрюшинном и пероральном введении.

2.4 Оценка интенсивности перекисного окисления липидов

2.4.1 Определение содержания диеновых конъюгатов в гомогенате печени и почек

Определение содержания ДК ацилгидроперекисей жирных кислот в гомогенатах печени проводили спектрофотометрически (СФ-56). ДК извлекали смесью гептан:изопропанол (1:1), как описано [34,81]. Метод основан на способности двойных и тройных связей интенсивно поглощать в ультрафиолетовой области с максимумом поглощения при 233 нм. Количество ДК рассчитывали по молярному коэффициенту экстинкции конъюгированных диенов при 233 нм – $2,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и выражали в нмоль /мг белка. Гомогенат печени и почек готовили, как описано в 2.3.5.

2.4.2 Определение интенсивности Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ в постядерной фракции печени и почек

При изучении Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ инкубационная среда содержала 100 мМ трис HCl, pH 7,4; 0,5 мМ аскорбата, 12 мкМ соль Мора. Концентрация белка в среде инкубации составляла около 1 мг/мл для постядерных фракций печени и почек. Реакцию проводили

на водяной бане при 37°C. Для определения интенсивности ПОЛ в нулевое время и через 60 минут инкубации отбирали по 0,5 мл суспензии, смешивали на холоду с 1 мл 30% раствора трихлоруксусной (ТХУ) кислоты. Полученную смесь центрифугировали при 3 тыс. об./мин 15 минут. К надосадочной жидкости добавляли 0,1 мл 5 М раствора HCl и 1 мл 0,6% раствора тиобарбитуровой кислоты, приготовленной на 0,5 М растворе Na₂SO₄ и нагревали на водяной бане 15 минут при 100 °С. После охлаждения до комнатной температуры записывали спектр поглощения ТБК-активных продуктов на СФ-56 при 535 нм и рассчитывали количество ТБК-продуктов, используя коэффициент молярной экстинкции МДА $-1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [22]. Результаты выражали в нмоль на 1 мг белка в реакционной смеси.

2.5 Оценка состояния эндогенной антиоксидантной системы

2.5.1 Определение активности супероксиддисмутазы

Активность СОД определяли в ПЯФ печени и почек по торможению образования формазана п-нитротетразолия хлористого (НТХ) в опытной пробе по отношению к контрольной, не содержащей ПЯФ, как описано [134]. НТХ использовали в качестве индикатора O₂^{•-}, восстановленную форму которого (формазан) растворяли в ацетоне. Для продукции O₂^{•-} использовали фотохимическую систему, содержащую 2,8·10⁻⁵ М раствора рибофлавина, 1·10⁻² М раствора тетраметилэтилендиамина в 0,05 М К-фосфатном буфере, рН 7,8 при облучении лампой дневного света на расстоянии 20 см в течение 5 мин при комнатной температуре. Для освобождения СОД из клеточных органелл применяли 0,5% раствор дезоксихолата. Реакцию останавливали добавлением 20% раствора ТХУ и ацетона. Оптическую плотность регистрировали на КФК-3 при 440 нм. Степень торможения продукции формазана рассчитывали в % и определяли соответствующее проценту торможения количество единиц активности для прямолинейного участка кривой (от 20% до 80% торможения продукции формазана) и выражали активность СОД в ед. акт /мг белка.

2.5.2 Определение активности каталазы

Активность каталазы определяли в ПЯФ печени и почек спектрофотометрическим методом по скорости разложения перекиси водорода. Количество перекиси водорода определяли по реакции с 4% раствором молибдата аммония. Интенсивность окраски продукта реакции измеряли при 410 нм [79]. Активность каталазы рассчитывали по разности экстинкций опытной и холостой проб, используя коэффициент молярной экстинкции перекиси водорода, равный $22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и выражали в нмоль/мин/мг белка.

2.5.3 Определение содержания восстановленного глутатиона в печени и почках

Восстановленный глутатион (GSH) определяли по реакции с аллоксаном с образованием продукта «аллоксан-305», имеющего максимум поглощения при 305 нм в безбелковом филь-

трате, как описано [80]. Количество образующегося комплекса прямо пропорционально содержанию GSH в пробе. Величину поглощения при 305 нм измеряли на СФ-56. 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.

2.5.4 Определение активности глутатионпероксидазы в печени и почках

Активность ГП определяли в ПЯФ печени и почек в сопряженной глутатионредуктазной реакции по убыли НАДФН, как описано [251, 317]. Активность регистрировали на КФК-3 при 340 нм в среде, содержащей 50 мМ К, Na-фосфатный буфер, pH 7,4; $1,0 \cdot 10^{-3}$ М ЭДТА, $0,2 \cdot 10^{-3}$ М НАДФН, $1,0 \cdot 10^{-3}$ М GSH, 1 ед. акт./мл глутатионредуктазы, 30-60 мкг белка на 1 мл среды. В качестве субстрата при определении общей активности ГП в среду добавляли гидроперекись кумола в концентрации $1,5 \cdot 10^{-3}$ М. Реакцию начинали добавлением субстрата и проводили при температуре 25°C. Глутатионпероксидазную активность выражали в нмоль НАДФН / 1 мг белка за 1 мин, принимая коэффициент молярной экстинкции равным $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ при 340 нм.

2.5.5 Определение активности глутатион-S-трансферазы в печени и почках

Активность Г-S-T определяли в ПЯФ печени и почек спектрофотометрически при комнатной температуре по образованию продукта конъюгации 1-хлор-2,4-динитробензола (ХДНБ) с восстановленным глутатионом в среде, содержащей 0,1 М К-фосфатный буфер, 0,1% тритона X-100, 1 мМ ХДНБ, 5 мМ GSH, 0,2 – 0,5 мг белка на 1 мл среды инкубации [66, 206, 313]. Активность измеряли на КФК-3 при 340 нм и выражали в нмоль образовавшегося продукта на 1 мг белка за 1 мин. Для расчета использовали коэффициент молярной экстинкции продукта, равный $9,6 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

2.5.6 Определение активности глюкозо – 6 – фосфатдегидрогеназы в печени и почках

Скорость восстановления НАДФ⁺ до НАДФН измеряли в ПЯФ печени и почек на спектрофотометре СФ-56 при 340 нм при комнатной температуре (25°C). В реакционную среду вносили глюкозо-6 фосфат, регистрируя увеличение уровня НАДФН. Реакционная среда содержала 25 мМ Na-фосфатный буфер, pH 7,4; 1 мМ ЭДТА, 3 мМ MgCl₂, 0,4 мМ НАДФ⁺, 1 мМ глюкозо-6-фосфат, 0,6-0,7 мг белка на 1 мл среды [66]. Активность выражали в нмоль НАДФН на 1 мг белка за 1 мин.

2.6 Патоморфологическое исследование печени и почек крыс

Исследования проводили под руководством кандидата медицинских наук, доцента кафедры морфологии и патологии ПМФИ Ю.А. Огурцова. Забой животных производили под эфирным наркозом. После декапитации животные вскрывались, внутренние органы внешне осматривались (цвет, расположение, наличие геморрагий). Печень и почки взвешивали и фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заливали парафином. Весовой индекс почек рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{m_{\text{органа}}}{m_{\text{животного}}} * 100\%, \quad (8)$$

где X-весовой индекс почек в процентах; $m_{\text{органа}}$ -масса почки в г; $m_{\text{животного}}$ -масса животного в г.

Изготовление срезов проводилось после депарафинизации на санном микротоме толщиной 5–6 мкм, которые затем окрашивали гематоксилин-эозином и просматривали под микроскопом, описывая гистологическую картину [96]. Микрофотографические снимки производили на микроскопе «Биолам», совмещенным с цифровой камерой и компьютером. Процент некроза гепатоцитов оценивали по соотношению площади занимаемой гепатоцитами с признаками некроза к общей исследуемой площади паренхимы печени. Процент канальцев почек, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества рассчитывали по соотношению площади занимаемой пораженными канальцами к общей исследуемой площади.

2.7 Изучение антиоксидантной активности байкалина в модельной системе

Антиоксидантное действие байкалина было изучено *in vitro* на модели Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ в липосомальной системе, полученной на основе фосфатидилхолина [29]. Эффективность антиоксидантного действия оценивали по степени ингибирования интенсивности ПОЛ в опытных образцах по отношению к контрольным. Интенсивность ПОЛ измеряли по накоплению МДА за 15 мин инкубации. Реакцию проводили на водяной бане при 37°C с непрерывным барботированием. В опытные пробы вносили байкалин в виде спиртовых растворов в конечных концентрациях: 100 мкмоль/л, 50 мкмоль/л, 25 мкмоль/л, 12,5 мкмоль/л, 6,25 мкмоль/мл, 3,125 мкмоль/л. В качестве эталона использовали флавоноид кверцетин, который добавляли в конечных концентрациях: 500 мкмоль/л, 100 мкмоль/л, 50 мкмоль/л, 10 мкмоль/л, 5 мкмоль/л и 1 мкмоль/л. В контрольные пробы добавляли только растворитель (вода очищенная и 50% спирт этиловый). Рассчитывали процент торможения ПОЛ по отношению к контрольной пробе [110]. Для оценки АОА рассчитывали значение коэффициента IC_{50} , который показывает концентрацию вещества в среде инкубации, вызывающую снижение интенсивности Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ на 50%.

2.8 Изучение мембраностабилизирующего действия байкалина в модельной системе

Мембраностабилизирующее действие определяли по В.Б. Спиричеву и Н.В. Блажевич [120]. Метод основан на определении при 540 нм экстинкции внеэритроцитарного гемоглоби-

на, выход которого усиливается с помощью эргокальциферола, запускающего пероксидное окисление липидов в мембранах эритроцитов. В опытные пробы вносили байкалин в виде спиртовых растворов в конечных концентрациях – $9,5 \times 10^{-5}$ М, $4,75 \times 10^{-5}$ М, $2,38 \times 10^{-5}$ М, $1,19 \times 10^{-5}$ М. В качестве эталонов использовали флавоноид кверцетин, который добавляли в конечных концентрациях – $16,5 \times 10^{-5}$ М, $8,25 \times 10^{-5}$ М, $4,125 \times 10^{-5}$ М, $2,063 \times 10^{-5}$ М и α -токоферол – в конечных концентрациях 23×10^{-5} М, $11,5 \times 10^{-5}$ М, $5,75 \times 10^{-5}$ М, $2,88 \times 10^{-5}$ М. В контрольные пробы добавляли только растворитель (вода очищенная и 50% спирт этиловый). Торможение гемолиза рассчитывали по формулам и выражали в %:

$$T = \frac{A \times 100}{x} \quad (9); \quad x = \frac{E_3 \times 100}{E_1} \quad (10); \quad A = \frac{E_2 \times 100}{E_1} \quad (11).$$

где T- торможение гемолиза, %; x- степень гемолиза при добавлении эргокальциферола, %; E_1 - экстинкция пробы с эргокальциферолом; E_3 – экстинкция контрольной пробы; A - степень гемолиза после совместного добавления эргокальциферола и антиоксиданта, %; E_2 – экстинкция пробы с эргокальциферолом и антиоксидантом.

2.9 Статистическая обработка результатов эксперимента

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 ANOVA и теста Ньюмана-Кейлса, а также поправки Бонферрони [82, 89, 102, 111]. Расчет и статистическая обработка экспериментальных данных выполнялись с использованием статистических программ Statistica 6.0 и StatPlus 2009, Microsoft Office Excel 2007.

2.10 Используемые реактивы

В исследовании использовали реактивы категории не ниже аналитической, приобретённые у известных фирм («Sigma-Aldrich», «ДИАЭМ» и др.), определение биохимических показателей проводили с помощью наборов реактивов «DiaSys» и «Ольвекс диагностикум». В работе использовали 2-ГП- β -ЦД (Cavitron™ W7 HP7 Pharma), лецитин (BioChemica). В качестве стандартных образцов применяли байкалин производства «Sigma-Aldrich» и «Baoji Herbest Bio-Tech» с содержанием основного вещества 95% и 98% соответственно.

ГЛАВА 3 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕЛЕТАЛЬНОЙ И ОПТИМАЛЬНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ДОЗ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ

3.1 Определение среднелетальной дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД

Как видно из данных, представленных в таблицах 3.1.1 и 3.1.2 и рисунках 3.1.1 и 3.1.2, минимальной дозой, которая в остром опыте не вызвала гибели подопытных животных при пероральном введении СЭ ШБ, является доза 5 000 мг/кг, а при парентеральном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД – 50 мг/кг.

Таблица 3.1.1

Обработка данных по определению LD_{50} СЭ ШБ

	Исследуемые дозы, мг/кг				
	5 000	10 000	15 000	20 000	30 000
К-во животных	6	6	6	6	6
Выжило	6	5	3	2	0
Погибло	0	1	3	4	6
LD_{50} с доверительным интервалом	16 452± 2 436,6				
LD_{10}	7 083				
LD_{16}	9 142				
LD_{84}	23 762				
Уровень значимости	0,05				



Рисунок 3.1.1 - График зависимости эффекта (% гибели) от дозы СЭ ШБ

Максимальной дозой, вызвавшей гибель всех животных в группе при введении СЭ ШБ, является доза 30 000 мг/кг, для водорастворимой формы СЭ-2-ГП-β-ЦД она составляет 700 мг/кг. При расчете показателей LD_{50} СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД с применением пробит-анализа [110, 114] определено, что LD_{50} в первом случае составляет 16 452 мг/кг, во втором – 366 мг/кг.

Обработка данных по определению LD_{50} СЭ-2-ГП-β-ЦД

	Исследуемые дозы, мг/кг				
	50	100	300	500	700
К-во животных	6	6	6	6	6
Выжило	6	6	4	1	0
Погибло	0	0	2	5	6
LD_{50} с доверительным интервалом	366 ± 70				
LD_{10}	147				
LD_{16}	195				
LD_{84}	536				
Уровень значимости	0,05				



Рисунок 3.1.2 - График зависимости эффекта (% гибели) от дозы СЭ-2-ГП-β-ЦД

Полученные результаты определения LD_{50} показывают, что СЭ ШБ при пероральном применении [15] относится к IV классу – малотоксичные вещества. СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении, согласно данной классификации, относится к III классу – умеренно токсичные вещества.

При определении LD_{50} только 2-ГП-β-ЦД (таблица 3.1.3, рисунок 3.1.3) установлено, что данное соединение при внутрибрюшинном способе введения также можно отнести к IV классу – малотоксичные вещества, так как рассчитанная LD_{50} составляет 1995 мг/кг.

Обработка данных по определению LD_{50} 2-ГП-β-ЦД

	Исследуемые дозы, мг/кг							
	50	100	300	500	700	2000	3000	4000
К-во животных	6	6	6	6	6	6	6	6
Выжило	6	6	6	6	5	3	3	0
Погибло	0	0	0	0	1	3	5	6
LD_{50} с доверительным интервалом	1995±364,1							
LD_{10}	594							
LD_{16}	902							
LD_{84}	3087							
Уровень значимости	0,05							

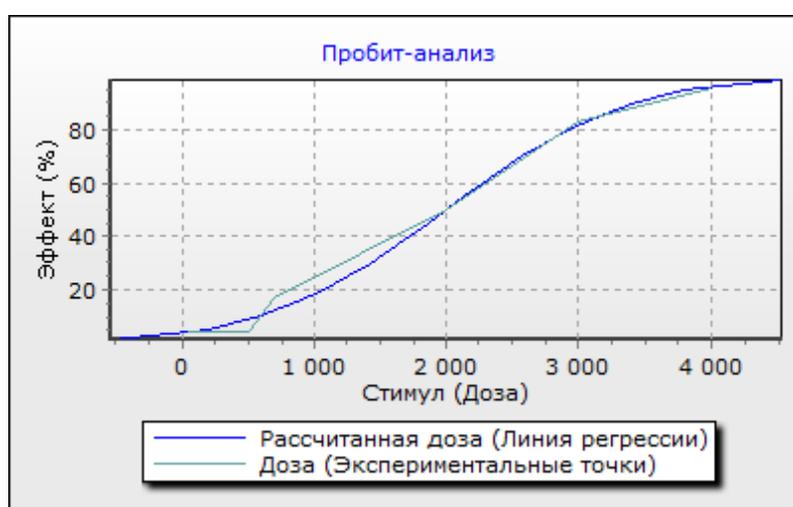


Рисунок 3.1.3 - График зависимости эффекта (% гибели) от дозы 2-ГП-β-ЦД

3.2 Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения печени тетрахлорметаном

Как видно из данных, представленных в таблице 3.2.1, после введения CCl_4 развивалось токсическое поражение печени с синдромами холестаза (увеличение содержания ОБ на 326% и активности ЩФ на 287%) и цитолиза (увеличение активности АлАт на 625%), а также наблюдалось развитие жирового гепатоза с увеличением содержания ТРГ в печени крыс на 866% по сравнению с данными интактных животных (таблица 3.2.1).

При лечебно-профилактическом введении per os СЭ ШБ в дозе 50 мг/кг эти показатели (ОБ, АлАт, ЩФ и ТРГ) также были достоверно выше нормы на 340%, 656%, 254% и 802% соответственно (таблица 3.2.1). При повышении дозы СЭШБ до 100 мг/кг такие показатели, как содержание ОБ и активность АлАт в сыворотке крови также оставались достоверно более высокими, чем в норме на 192% и 575% соответственно. Активность ЩФ, содержание ТРГ достоверно снижались по сравнению с контролем на 57% и 66% соответственно, и были

Таблица 3.2.1

Влияние лечебно-профилактического перорального введения СЭ ШБ в различных дозах на биохимические маркеры при CCl_4 -поражении печени у крыс

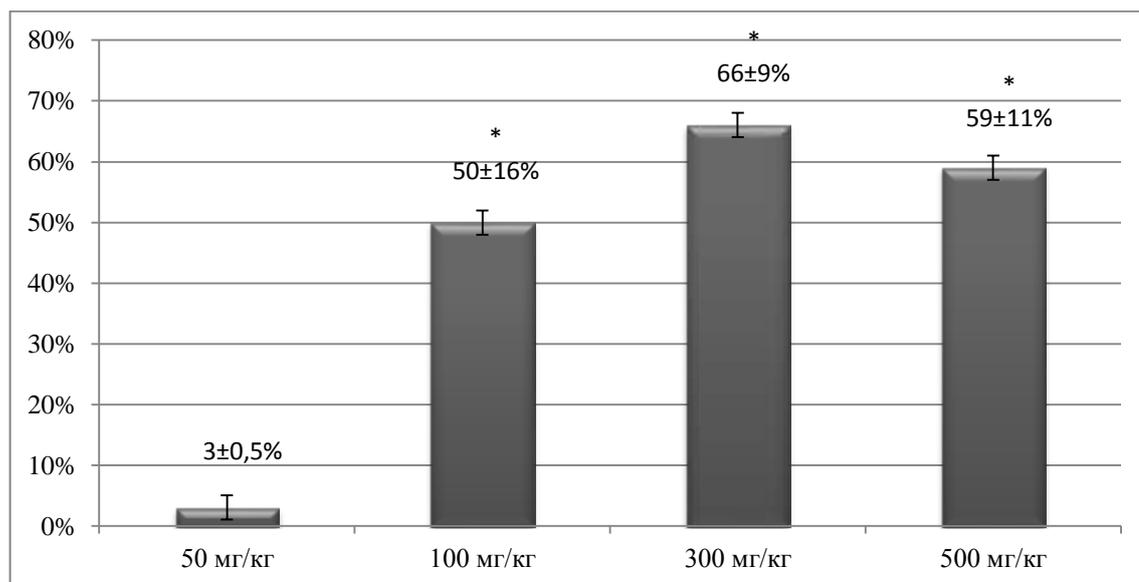
Показатель	Экспериментальные группы					
	Интактные, n =8	Контроль, ($CCl_4 + H_2O$, перорально), n =6	$CCl_4 + CЭ ШБ$, 50 мг/кг n =3	$CCl_4 + CЭ ШБ$, 100 мг/кг n =4	$CCl_4 + CЭ ШБ$, 300 мг/кг n =7	$CCl_4 + CЭ ШБ$, 500 мг/кг n =7
ОБ сыворотки крови, мкмоль/л	12,8±1,79	54,6±4,51 +326% ^Δ	56,4±9,50 +340% ^Δ	37,4±4,72 +192% ^Δ	28,3±3,55 -48%* +120% ^Δ -50%"	33,5±3,43 -39%* +161% ^Δ -41%"
АлАт, сыворотки крови, мкмоль/с*л	0,2 ±0,01	1,2 ±0,09 +625% ^Δ	1,2 ±0,05 +656% ^Δ	1,1 ±0,19 +575% ^Δ	0,7 ±0,09 -42%* +319% ^Δ -42%"	0,8 ±0,08 -33%* +388% ^Δ
ЩФ, сыворотки крови, нмоль/с*л	608±29,9	2353±238,5 +287% ^Δ	2153±168,7 +254% ^Δ	1017 ±62,8 -57%* -53%"	734 ±44,7 -69%* -66%"	715±35,3 -71%* -67%"
ТРГ печени мкмоль/г	4,0 ±0,60	38,6 ±4,87 +866% ^Δ	35,9 ±5,34 +802% ^Δ	13,0 ±2,76 -66%* -64%"	17,8 ±0,46 -54%* +348% ^Δ -50%"	18,0 ±1,97 -53%* +352% ^Δ -50%"
<p>Примечания: данные статистически значимы по отношению к * - контролю ($p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони); Δ – интактным ($p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони); " - СЭШБ 50мг/кг ($p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони)</p>						

достоверно более низкими, чем в дозе 50 мг/кг на 53% и 64% соответственно, что говорит о повышении эффективности действия СЭ ШБ в дозе 100 мг/кг по сравнению с дозой 50 мг/кг.

При применении СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг наблюдалось достоверное по сравнению с патологическим контролем снижение всех изученных биохимических маркеров, а именно ОБ – на 48%, АлАт – 42%, ЩФ – на 69%, ТРГ – на 54%, при этом все эти показатели, за исключением ЩФ, оставались достоверно более высокими, чем у интактных животных на 120%, 319% и 348% соответственно. При введении СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг все перечисленные маркеры были достоверно ниже, чем это регистрировалось в дозе 50 мг/кг на 50%, 42%, 66% и 50% соответственно, но существенно не отличались от дозы 100 мг/кг.

Как видно из таблицы 3.2.1, дальнейшее повышение дозы СЭ ШБ до 500 мг/кг, не привело к существенным изменениям в степени нормализации изученных биохимических показателей по сравнению с животными, которым вводили СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг.

По значению коэффициента гепатопротекции с учетом восстановления всех биохимических показателей также видно, что наиболее высокий коэффициент (66%) отмечался у группы животных, получавших СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг, хотя он достоверно не отличался от значений этого коэффициента для доз 100 и 500 мг/кг, которые составляли соответственно 50% и 59%. Наименьший же коэффициент гепатопротекции наблюдался при применении СЭ ШБ в дозе 50 мг/кг (3%), что достоверно отличалось от остальных изученных доз (рисунок 3.2.1).



* - данные статистически значимы по отношению к дозе 50 мг/кг ($p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони).

Рисунок 3.2.1 - Значения коэффициента гепатопротекции при пероральном введении различных доз сухого экстракта шлемника байкальского

Учитывая результаты выживаемости животных (таблица 3.2.2), можно сказать, что эффективность защитного действия СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг все же выше, чем в дозе 100 мг/кг, поскольку выживаемость животных данной группы выше, чем в группах, получавших СЭ ШБ не только в дозе 50 мг/кг, но и в дозе 100 мг/кг. При дальнейшем увеличении дозы до 500 мг/кг данный показатель не изменялся.

Таким образом, по совокупности данных восстановления биохимических маркеров поражения печени, коэффициенту гепатопротекции и проценту выживших животных можно сделать вывод о том, что оптимальной терапевтической дозой СЭ ШБ, как гепатопротектора, при его пероральном введении является доза 300 мг/кг.

Из представленных в таблице 3.2.3 результатов по изучению гепатозащитного действия СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозах 5, 15 и 25 мг/кг видно, что у животных, которым вводили СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 5 мг/кг, содержание ОБ и активность АлАт в сыворотке крови были так же достоверно выше нормы, как и у животных патологического контроля, на 186% и 439% соот-

ветственно. При этом активность ЩФ и содержание ТРГ достоверно снижались на 39% и 34% соответственно, но превышали значения интактных крыс на 109% и 319%.

Таблица 3.2.2

Выживаемость животных при пероральном введении различных доз СЭ ШБ на модели поражения печени тетрахлорметаном

Группы животных	Дни опыта												Общее количество животных, взятых в опыт	Количество погибших животных	% выживших животных
	Предварительное введение сухого экстракта						Совместное введение сухого экстракта и СС ₄					Забой			
	р	р	р	р	р	р	р*	р2	р*	р	р*				
Контроль, (СС ₄ +Н ₂ О)													8	2	75
СС ₄ + СЭ ШБ, 50 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	8	5	38
СС ₄ + СЭШБ, 100 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		8	4	50
СС ₄ + СЭШБ, 300 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		8	1	88
СС ₄ + СЭШБ, 500 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		8	1	88

Примечания: р- перороальное введение растворителя (вода очищенная); * введение СС₄; + введение СЭ ШБ; цифрами указано количество погибших животных в определенные дни опыта

При повышении дозы СЭ-2-ГП-β-ЦД до 15 мг/кг такие показатели, как активность ЩФ и содержание ТРГ уменьшились по сравнению с контролем еще в большей степени, чем при его введении в дозе 5 мг/кг (на 46% и 54% соответственно), а также достоверно снизились и такие показатели, как содержание ОБ и активность АлАт (на 49% и 27% соответственно), причем содержание ОБ и активность ЩФ достоверно не отличалось от нормы, хотя достоверных отличий по всем показателям между группами, получавшими СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозах 5 и 15 мг/кг не выявлено (таблица 3.2.3).

При дальнейшем повышении дозы СЭ-2-ГП-β-ЦД до 25 мг/кг не наблюдалось усиления гепатозащитного эффекта по изученным показателям, поскольку степень их нормализации у животных, которым его вводили в данной дозе, существенно не отличалась от таковой у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг. Хотя нужно сказать, что при этом активность ЩФ оказалась достоверно выше нормы на 110%, что не отмечалось у крыс, которым вводили СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг.

Таблица 3.2.3

Влияние лечебно-профилактического внутрибрюшинного введения различных доз СЭ-2-ГП-β-ЦД на биохимические маркеры при ССl₄-поражении печени у крыс

Показатель	Экспериментальные группы					
	Интактные, n=6	Контроль1, (ССl ₄ + Н ₂ О внутрибрюшинно), n=4	ССl ₄ +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 5 мг/кг, n=5	ССl ₄ +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг, n=5	ССl ₄ +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 25 мг/кг, n=4	Контроль2, ССl ₄ +2-ГП-β-ЦД, внутрибрюшинно, 25 мг/кг, n=3
ОБ сыворотки крови, мкмоль/л	13,4±1,31	50,4 ±6,31 +275% ^Δ	38,5 ±3,88 +186% ^Δ	25,6 ±1,67 -49%*	27,0±4,84 -46%*	42,5 ±4,80 +217% ^Δ
АлАт, сыворотки крови, мкмоль/с*л	0,18±0,031	1,23 ±0,062 +589% ^Δ	0,97 ±0,028 +439% ^Δ	0,91 ±0,057 -27%* +406% ^Δ	0,93±0,089 -27%* +400% ^Δ	1,20 ±0,109 +567% ^Δ
ЩФ, сыворотки крови, нмоль/с*л	856±84,4	2940±135,4 +243% ^Δ	1790±183,2 -39%* +109% ^Δ -48% [#]	1590±222,2 -46%* -54% [#]	1788±205,6 -39%* +110% ^Δ -48% [#]	3429±370,1 +301% ^Δ
ТРГ печени мкмоль/г	6,4±0,58	40,4±3,84 +531% ^Δ	26,8±2,27 -34%* +319% ^Δ	18,5±2,66 -54%* +189% ^Δ -51% [#]	21,7±2,59 -46%* +241% ^Δ -43% [#]	37,8±4,44 +491% ^Δ

Примечания: данные статистически значимы по отношению к
 *-контролю 1 (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони);
 Δ –интактным (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони);
 # - контролю 2 - ССl₄+2-ГП-β-ЦД (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони)

Как видно из рисунка 3.2.2, наиболее высокий коэффициент гепатопротекции отмечался у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД также в дозе 15 мг/кг (57%), чем в дозах 5 мг/кг (38%) и 25 мг/кг (50%), но достоверной разницы при этом не установлено. Наибольший процент выживаемости (100%) наблюдался в группе животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг (таблица 3.2.4). У животных, которым его вводили в дозе 5 мг/кг, этот процент был ниже и составлял 83%. При увеличении дозы до 25 мг/кг выживаемость животных составила только 67%, как это наблюдалось и в контрольной группе 1. Нужно отметить, что введение только 2-ГП-β-ЦД в дозе 25 мг/кг на фоне поражения печени тетрахлорметаном (контроль 2) не оказало влияния на процессы восстановления изученных биохимических показателей, которые достоверно не отличались от патологического контроля 1 (таблица 3.2.3), а также

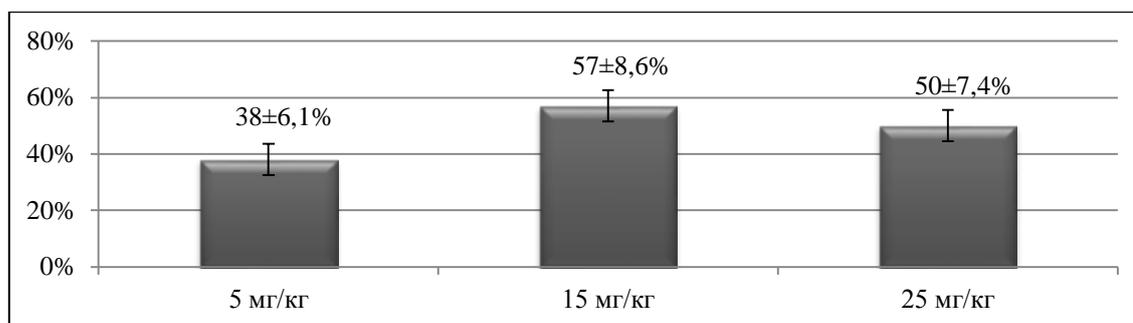


Рисунок 3.2.2 - Значения коэффициента гепатопротекции при внутрибрюшинном введении различных доз СЭ-2-ГП-β-ЦД

Таблица 3.2.4

Выживаемость животных при внутрибрюшинном введении различных СЭ- 2-ГП-β-ЦД на модели поражения печени тетрахлорметаном

Группы животных	Дни опыта												Общее количество животных, взятых в опыт	Количество погибших животных	% выживших животных	
	Предварительное введение веществ							Совместное введение веществ и ССl ₄				Забой				
Контроль 1, (ССl ₄ + Н ₂ О внутрибрюшинно)	р	р	р	р	р	р	р	р*	р ₂	р*	р		р*		6	2
ССl ₄ +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 5 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		6	1	83
ССl ₄ +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		6	0	100
ССl ₄ +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 25 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		6	2	67
Контроль 2, ССl ₄ +2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно, 25 мг/кг	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		6	3	50

Примечания: р- внутрибрюшинное введение растворителя (вода очищенная); * введение ССl₄; + введение испытуемых веществ; цифрами указано количество погибших животных в определенные дни опыта

не способствовало повышению выживаемости животных по сравнению с контролем 1 (таблица 3.2.4). При сравнении данных групп патологического контроля, которые вместо исследуемых субстанций получали воду очищенную в эквивалентном количестве перорально (таблица 3.2.3) и внутрибрюшинно (таблица 3.2.4) достоверных отличий между ними не выявлено.

Полученные данные позволяют заключить следующее: 1) сам по себе способ введения (перорально или внутривенно) воды очищенной не оказывает влияния на выраженность гепатотоксического действия CCl_4 у животных патологического контроля; 2) 2-ГП- β -ЦД, который был использован для повышения растворимости СЭ ШБ, не обладает собственным гепато-защитным эффектом; 3) оптимальной терапевтической дозой СЭ-2-ГП- β -ЦД при испытании его в качестве гепатопротектора следует считать дозу 15 мг/кг.

3.3 Определение оптимальной терапевтической дозы СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД на модели поражения почек хлоридом ртути (II)

Как следует из полученных результатов, представленных в таблице 3.3.1, однократное введение раствора хлорида ртути(II) вызвало поражение почек с развитием выраженного азотемического синдрома. У животных группы патологического контроля по сравнению с данными у крыс интактной группы достоверно изменились следующие показатели: возросла концентрация креатинина на 417%; наблюдалось снижение объема мочи после 2,5% водной нагрузки на 81% и СКФ на 93%; повышалось содержание мочевины в сыворотке крови и моче на 1074% и 222% соответственно. Достоверных изменений в концентрации креатинина в моче не выявлено.

Лечебно-профилактическое введение СЭ ШБ на фоне почечной недостаточности, вызванной хлоридом ртути (II), оказало нефрозащитное действие, которое было наиболее выражено в дозе 300 мг/кг по сравнению с дозами 50, 100 и 500 мг/кг, что видно из данных таблицы 3.3.1. При введении СЭ ШБ в дозе 50 мг/кг такие показатели, как содержание мочевины в моче и в сыворотке крови были достоверно выше, чем в норме на 192% и 712% соответственно, а диурез - достоверно ниже на 68% и оставались на уровне контрольных животных. Содержание креатинина в сыворотке крови снижалось на 34% по сравнению с контролем, но было выше нормы на 242%, в связи с чем, СКФ оставалась достоверно более низкой, чем в норме на 77%.

При увеличении дозы СЭ ШБ до 100 мг/кг наблюдалось увеличение диуреза по сравнению с контролем на 327%, снижение уровня креатинина в сыворотке крови на 64% и повышение СКФ на 917%, что было на 234% выше, чем в дозе 50 мг/кг. При этом отмечалось снижение содержания мочевины в сыворотке крови на 85% по сравнению с нелечеными животными, но содержание мочевины в моче достоверно не отличалось от патологического контроля и было выше нормы на 148%.

Применение СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг привело к достоверному снижению по сравнению с контролем содержания креатинина в крови на 82%, которое было достоверно более низким, чем в дозе 50 мг/кг на 73%. При этом объем мочи увеличивался достоверно по сравнению с контролем на 379%, в результате чего СКФ при введении СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг

Таблица 3.3.1

Влияние лечебно-профилактического введения *per os* различных доз СЭ ШБ на функциональное состояние почек на модели поражения хлоридом ртути (II)

Показатель	Экспериментальные группы					
	Интактные, n =8	Контроль, (хлорид ртути (II) + H ₂ O перорально), n =7	Хлорид ртути (II)+ СЭ ШБ, 50 мг/кг, n =6	Хлорид ртути (II)+ СЭ ШБ, 100 мг/кг, n =8	Хлорид ртути (II)+ СЭ ШБ, 300 мг/кг, n =8	Хлорид ртути (II)+ СЭ ШБ, 500 мг/кг, n =8
Креатинин мочи, мкмоль/л	933±177,5	1693±277,2	1733±335,2	1707±101,0	1003±126,1	1451±168,5
Креатинин сыворотки крови, мкмоль/л	75 ±8,6	388±13,2 +417% ^Δ	257±26,1 -34%* +242% ^Δ	139±24,0 -64%* -46%"	69 ±3,1 -82%* -73%"	156 ±21,4 -60%* -39%" +126% [#]
Объем мочи за 2 ч, мл/100 г	2,5 ±0,42	0,5 ±0,11 -81% ^Δ	0,8 ±0,40 -68% ^Δ	2,1 ±0,14 +327%*	2,3 ±0,29 +379%*	1,6 ±0,26 +240%*
Мочевина мочи, ммоль/л	48±8,8	153±31,1 +222% ^Δ	138±35,8 +192% ^Δ	118±14,9 +148% ^Δ	53±10,4 -65%*	214±30,4 +351% ^Δ +301% [≈]
Мочевина сыворотки крови, ммоль/л	5,7±0,18	67,4±8,89 +1074% ^Δ	46,6±12,09 +712% ^Δ	10,1±2,16 -85%*	5,1±0,28 -92%*	9,1±2,04 -86%*
СКФ, мкл/100г/мин	12,9±2,14	1,0±0,17 -93% ^Δ	2,9 ±0,59 -77% ^Δ	9,7 ±0,44 +917%* +234%"	16,3±2,01 +1594%* +462%" +68% [#]	7,8 ±1,32 +717%* -52% [≈]

Примечание: данные статистически значимы по отношению к

*-контролю (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постробработкой тестом Бонферрони);

Δ –интактным (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постробработкой тестом Бонферрони);

"- СЭШБ, 50мг/кг(p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постробработкой тестом Бонферрони);

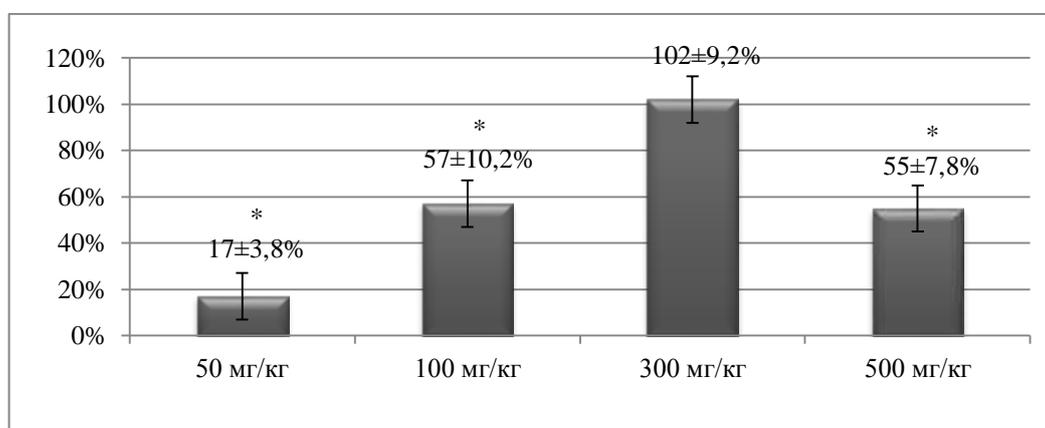
#-СЭШБ, 100мг/кг(p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постробработкой тестом Бонферрони);

≈-СЭШБ, 300мг/кг(p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постробработкой тестом Бонферрони)

увеличилась по сравнению с нелечеными животными на 1594%, что было достоверно выше на 462% и 68% по сравнению с животными, получавшими СЭ ШБ и в дозе 50 и в дозе 100 мг/кг. Содержание мочевины, как в сыворотке крови, так и в моче, уменьшилось по сравнению с контролем на 92% и 65% соответственно.

При дальнейшем увеличении дозы СЭ ШБ до 500 мг/кг содержание креатинина в сыворотке крови уменьшилось по сравнению с контролем на 60% , что было на 39% более выражено, чем в дозе 50 мг/кг, но этот показатель оказался на 126% больше, чем в дозе 100 мг/кг. При этом менее выражено (+240%) увеличивался объем мочи, чем при введении СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг, в связи с чем, СКФ увеличивалась по сравнению с контролем только на 717%, что было достоверно более низким на 52%, чем в дозе 300 мг/кг. У крыс, получавших СЭ ШБ в дозе 500 мг/кг, содержание мочевины в сыворотке крови уменьшилось по сравнению с контролем на 86%, а содержание мочевины в моче было достоверно более высоким, чем у интактных крыс на 351%, а также выше, чем у крыс, которым вводили СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг, на 301%.

Таким образом, сравнение полученных данных по тесту Бонферрони показал, что эффективность действия СЭ ШБ при повышении дозы от 50 до 100 и 300 мг/кг сначала увеличивается, а затем при дальнейшем повышении дозы до 500 мг/кг – снижается. Это позволяет сделать вывод, что оптимальной терапевтической дозой СЭ ШБ при оценке нефропротекторного действия при пероральном введении, как и в случае оценки гепатопротекторной активности, является доза 300 мг/кг, что подтверждают и рассчитанные коэффициенты нефропротекции (рисунок 3.3.1).



* - данные статистически значимы по отношению к дозе 300 мг/кг ($p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони)

Рисунок 3.3.1 - Значения коэффициента нефропротекции при пероральном введении различных доз дозы сухого экстракта шлемника байкальского на модели поражения почек хлоридом ртути (II)

Процент выживших животных, представленный в таблице 3.3.2, значительно увеличивался при введении СЭ ШБ в дозе 100 мг/кг по сравнению с дозой 50 мг/кг, а затем оставался неизменным. Как видно из таблицы 3.3.3, СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении также обладал нефрозащитным действием, которое было выражено в разной степени в зависимости

Таблица 3.3.2

Выживаемость животных при пероральном введении различных доз СЭ ШБ на модели поражения почек хлоридом ртути (II)

Группы животных	Дни опыта					Забой	Общее количество животных, взятых в опыт	Количество погибших животных	% выживших животных
	р*	р1	р	р	р				
Контроль, (хлорид ртути (II)+ H ₂ O перорально)	р*	р1	р	р	р		8	1	88
Хлорид ртути (II) +СЭ ШБ, 50мг/кг	+*	+1	+1	+	+		8	2	75
Хлорид ртути (II) +СЭ ШБ 100мг/кг	+*	+	+	+	+		8	0	100
Хлорид ртути (II) +СЭ ШБ 300 мг/кг	+*	+	+	+	+		8	0	100
Хлорид ртути (II) +СЭ ШБ 500 мг/кг	+*	+	+	+	+		8	0	100

Примечания: р- пероральное введение растворителя (вода очищенная); * введение хлорида ртути (II); + введение СЭШБ; цифрами указано количество погибших животных в определенные дни опыта

от дозы. При лечебно-профилактическом введении СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 5 мг/кг наблюдалось достоверное снижение по сравнению с контролем 1 таких показателей, как мочевина сыворотки крови и мочи, а также креатинин сыворотки крови и мочи на 67% и 60% и на 87% и 31% соответственно. При этом объем мочи достоверно повышался на 160%, а СКФ - на 1530% и достоверно не отличались от уровня интактных животных.

При повышении дозы до 15 мг/кг перечисленные показатели изменялись в том же направлении и практически в той же степени без обнаружения в каком-либо случае достоверных различий по сравнению с животными, получавшими СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 5 мг/кг (таблица 3.3.3). При этом такие показатели, как мочевина сыворотки крови и мочи и креатинин сыворотки крови и мочи уменьшались по сравнению с контролем 1 соответственно на 69% и 60% и на 85% и 31%, а объем мочи и СКФ увеличились на 240% и 1574%.

При введении СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 25 мг/кг регистрируемые в данной экспериментальной серии показатели нормализовались в меньшей степени: содержание мочевины в сыворотке крови и моче и содержание креатинина в сыворотке крови уменьшились соответственно на 36%, 39%, 76%, а объем мочи увеличился только на 164%, при том, что СКФ достоверно не отличалась ни от контроля 1, ни от других опытных групп, а такой показатель, как мочевина сыворотки крови был достоверно более высоким, чем в дозе 15 мг/кг на 100%, оставаясь также достоверно более высоким, чем в норме на 125%. Выявленные изменения свидетельствовали о

снижении эффективности нефрозащитного действия СЭ-2-ГП-β-ЦД при повышении дозы до 25 мг/кг.

Таблица 3.3.3

Влияние лечебно-профилактического внутрибрюшинного введения различных доз СЭ-2-ГП-β-ЦД на функциональное состояние почек на модели поражения хлоридом ртути (II)

Показатель	Экспериментальные группы					
	Интактные, n=8	Контроль 1 (хлорид ртути (II) + H ₂ O, внутр-брюшинно), n=4	Хлорид ртути (II) +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 5 мг/кг, n=7	Хлорид ртути (II) +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг, n=8	Хлорид ртути (II) +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 25 мг/кг, n=7	Контроль 2, хлорид ртути (II) +2-ГП-β-ЦД, внутр-брюшинно, 25 мг/кг, n=5
Мочевина сыворотки крови, ммоль/л	8,1±1,16	28,6±2,49 +253% ^Δ	9,3±1,54 -67%* -69% [#]	8,8±0,92 -69%* -70% [#]	18,6 ±1,21 -36%* +125% ^Δ +100% ["] -37% [#]	29,6±0,56 +265% ^Δ
Мочевина мочи, ммоль/л	174 ±12,8	514 ±38,6 +195% ^Δ	206±13,2 -60%* -56% [#]	204±9,1 -60%* -56% [#]	312 ±41,7 -39%* +78% ^Δ -33% [#]	469±36,2 +170% ^Δ
Креатинин сыворотки крови, мкмоль/л	60 ±9,5	465 ±36,2 +669% ^Δ	59 ±9,4 -87%*	69 ±5,9 -85%*	110±10,9 -76%*	480 ±29,2 +696% ^Δ
Креатинин мочи, мкмоль/л	1827±320,8	3133 ±207,2 +71% ^Δ	2146±147,8 -31%*	2167±188,2 -31%*	2047±82,9 -35%*	3315±203,9 +81% ^Δ
СКФ, мкл/мин/100г	53,2 ±7,15	2,7 ±0,49 -95% ^Δ	43,6 ±10,40 +1530%*	45,2 ±5,90 +1574%*	22,6±3,91	2,4 ±0,51 -95% ^Δ
Объем мочи за 2 ч мл/100г	2,5 ±0,29	0,5 ±0,11 -80% ^Δ	1,3 ±0,12 +160%*	1,7 ±0,18 +240%*	1,3±0,09 +164%*	0,4 ±0,08 -84% ^Δ
<p>Примечания: данные статистически значимы по отношению к</p> <p>*-контролю 1 (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони); Δ –интактным (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони);</p> <p>[#]- контролю 2 - хлорид ртути(II)+2-ГП-β-ЦД (p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони);</p> <p>"- СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг(p<0,05, однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Бонферрони)</p>						

При внутрибрюшинном введении только 2-ГП-β-ЦД (контроль 2) в сочетании с нефротоксином не привело к достоверным изменениям исследуемых показателей по сравнению с группой животных, отравленных хлоридом ртути (II) – контроль 1.

Рассчитанные коэффициенты нефропротекции СЭ-2-ГП-β-ЦД при его внутрибрюшинном введении для доз 5, 15 и 25 мг/кг достоверно не отличались между собой, но при этом у группы, которой вводили СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг, этот показатель был самым высоким (84%), а в дозе 25 мг/кг – самым низким – 60% (рисунок 3.3.2).

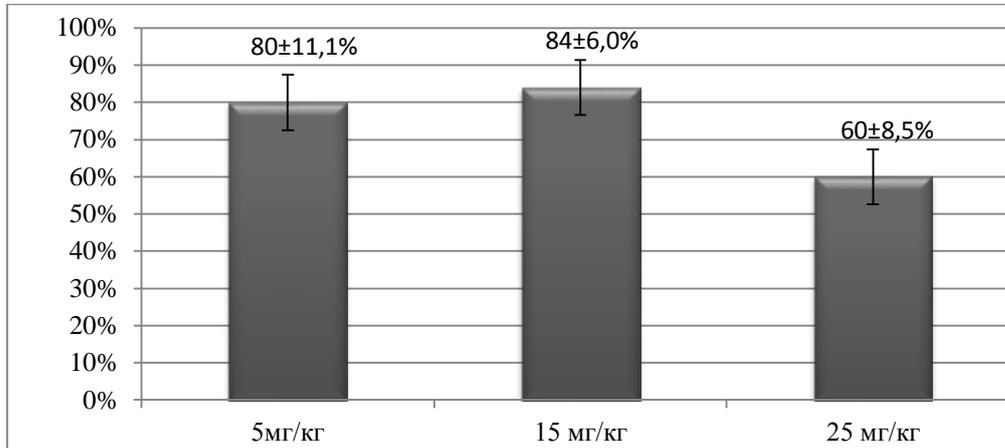


Рисунок 3.3.2 - Значения коэффициента нефропротекции при внутрибрюшинном введении различных доз СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения почек хлоридом ртути

Процент выживших животных (таблица 3.3.4) также был наибольшим при использовании СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг и составлял 100%, а при введении в дозах 5 и 25 мг/кг он оставался более низким и составлял 83%.

Кроме того, из полученных результатов видно, что внутрибрюшинное введение только 2-ГП-β-ЦД в дозе 25 мг/кг на фоне поражения почек хлоридом ртути (II) (контроль 2) не оказало влияния на процессы восстановления изученных маркеров поражения почек, которые достоверно не отличались от патологического контроля 1 (таблица 3.3.3). Процент отклонения от нормы большинства изученных показателей функционального состояния почек в группах патологического контроля, которым вводили вместо изучаемых субстанций воду очищенную перорально или внутрибрюшинно, значительно не отличался (см. таблицы 3.3.1 и 3.3.3). Так, например, такой важный показатель, как СКФ, в контроле 1 при внутрибрюшинном введении воды очищенной уменьшался на 95%, а при пероральном – на 93%, объем мочи – на 80% и 81% соответственно.

Таким образом, можно сделать вывод, что 2-ГП-β-ЦД, не обладает собственным нефропротективным эффектом так же, как и гепатозащитным действием (см. 3.2). Степень поражения почек не зависела от способа введения воды очищенной (пероральное или внутрибрюшинное). Оптимальной терапевтической дозой СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении, как нефропротекторного средства, по совокупности исследуемых показателей функционального состояния почек, коэффициенту нефропротекции и проценту выживших животных является до-

за 15 мг/кг, что наблюдалось при таком же способе его применения и в качестве гепатопротектора.

Таблица 3.3.4

Выживаемость животных при внутрибрюшинном введении различных доз СЭ-2-ГП-β-ЦД на модели поражения почек хлоридом ртути (II)

Группы животных	Дни опыта					Забой	Общее количество животных, взятых в опыт	Количество погибших животных	% выживших животных
	Совместное испытание веществ и хлорида ртути (II)								
Контроль 1, (хлорид ртути (II)+ H ₂ O внутрибрюшинно)	p*	p2	p1	p	p	1	8	4	50
Хлорид ртути (II)+СЭ-2-ГП-β-ЦД,5 мг/кг	+*	+1	+	+	+		8	1	87
Хлорид ртути (II)+СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг	+*	+	+	+	+		8	0	100
Хлорид ртути (II)+СЭ-2-ГП-β-ЦД, 25 мг/кг	+*	+1	+	+	+		8	1	87
Контроль 2, хлорид ртути (II)+2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно, 25 мг/кг	+*	+3	+	+	+		8	3	63
Примечания: p- внутрибрюшинное введение растворителя (вода очищенная); * введение хлорида ртути (II); + введение испытываемых веществ; цифрами указано количество погибших животных в определенные дни опыта									

3.4. Исследование фармакокинетики байкалина у крыс при пероральном введении СЭ ШБ и при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах

Полученный в результате исследования усредненный фармакокинетический профиль зависимости концентрации байкалина в плазме крови от времени при разных способах введения приведен на рисунке 3.4.1. Как видно из представленных данных на рисунке и в таблице 3.4.1, после перорального введения СЭ ШБ в оптимальной терапевтической дозе 300 мг/кг, концентрация байкалина в плазме крови через 2 часа составила $5,67 \pm 0,155$ мкг/мл, через 4 часа она увеличилась до $10,8 \pm 0,36$ мкг/мл, достигла максимума через 6 часов – $11,7 \pm 0,45$ мкг/мл, затем через 8 часов концентрация байкалина резко снизилась, а через 10 часов он в крови уже не обнаруживался.

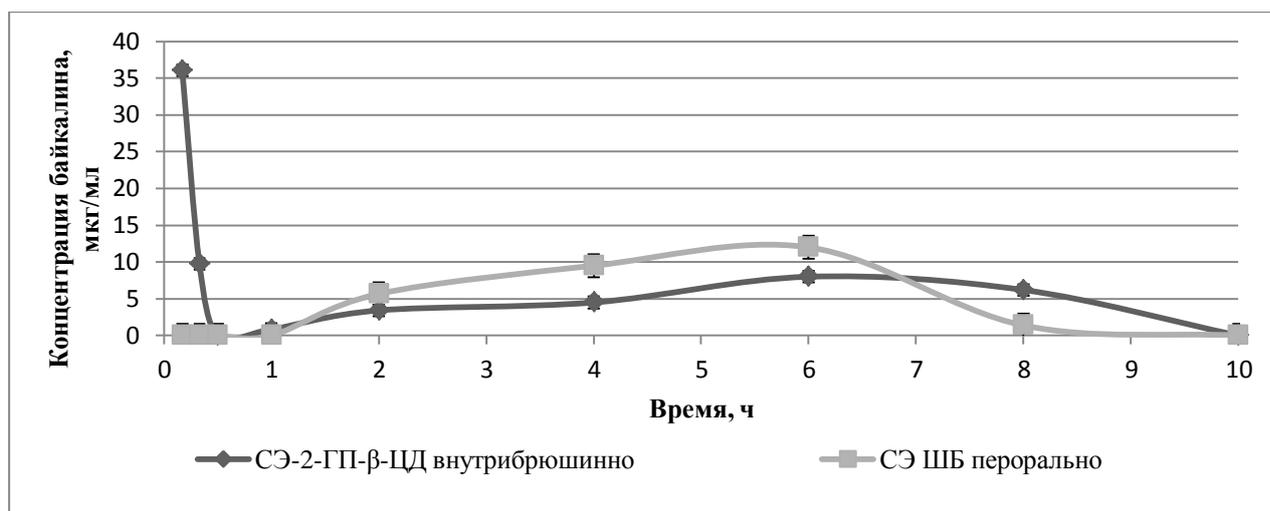


Рисунок 3.4.1 - Концентрация байкалина в сыворотке крови крыс при пероральном введении СЭ ШБ и при внутривнутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД

Таблица 3.4.1

Значения концентраций байкалина в сыворотке крови, печени и почках крыс при пероральном введении СЭ ШБ и при внутривнутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД

Время после введения	Концентрация в сыворотке крови, мкг/мл		Концентрация в печени, мкг/г		Концентрация в почках, мкг/г	
	СЭ-2-ГП-β-ЦД внутривнутрибрюшинно	СЭ ШБ перорально	СЭ-2-ГП-β-ЦД внутривнутрибрюшинно	СЭ ШБ перорально	СЭ-2-ГП-β-ЦД внутривнутрибрюшинно	СЭ ШБ перорально
10 мин	36,1±2,99	-	0	-	0	-
15 мин	-	0	-	0	-	0
20 мин	9,7±0,83	-	0	-	0	-
30 мин	0	0	0	0	0	0
1 ч	0,84±0,024	0	0	0	0	0
2 ч	3,4±0,12	5,6±0,15	0	0	0	0
4 ч	5,2±0,16	10,8±0,36	8,1±0,74 ^Δ +80%	0,87±0,147	0,72±0,069	0,34±0,044
6 ч	7,3±0,18*	11,7±0,44 +60%	1,9±0,17	4,5±0,52	1,8±0,08	0,78±0,029
8 ч	6,2±0,16 [#] +343%	1,4±0,16	0,46±0,052	0,19±0,019	2,8±0,25	2,1±0,21
10 ч	0	0	0	0	0	0

Примечания: * - достоверно по отношению к группе крыс, получавших СЭ ШБ перорально, через 6 ч после введения, в сыворотке крови (тест Мана-Уитни) ($p < 0,05$);

[#] - достоверно по отношению к группе крыс, получавших СЭ ШБ перорально, через 8 ч после введения, в сыворотке крови (тест Мана-Уитни) ($p < 0,05$);

^Δ - достоверно по отношению к группе крыс, получавших СЭ ШБ перорально, через 6 ч после введения, в печени (тест Мана-Уитни) ($p < 0,05$).

Сходный фармакокинетический профиль байкалина наблюдался и после внутривнутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД в оптимальной терапевтической дозе 15 мг/кг, за исключением

дополнительного максимума, который наблюдался через 10 мин и составил $36,05 \pm 2,997$ мкг/мл, затем концентрация быстро снизилась, и через 30 минут содержание байкалина в сыворотке крови было ниже порога определения. Через 1 час концентрация байкалина в крови вновь начала повышаться и достигла второго максимума ($7,29 \pm 0,177$ мкг/мл) через 6 часов после введения. В это же время наблюдалось достижение максимума и при пероральном введении СЭ ШБ, но при этом концентрация байкалина была достоверно выше на 60%. Через 8 часов концентрация байкалина снизилась до $6,20 \pm 0,159$ мкг/мл, но была достоверно выше, чем после перорального введения СЭ ШБ в 4,4 раза. Через 10 часов, как и при пероральном введении, байкалин в сыворотке крови не определялся.

Таким образом, изменение концентрации байкалина в сыворотке крови в зависимости от времени при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД имело двухфазный характер в отличие от перорального введения СЭ ШБ, причем второй пик повышения концентрации после внутрибрюшинного введения совпадал с максимумом, который достигался через 6 часов после перорального введения. При этом максимальная концентрация байкалина при пероральном введении СЭ ШБ была достоверно выше на 60%, чем при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД, но затем после достижения пика наблюдалось ее более быстрое снижение по сравнению с внутрибрюшинным введением, когда более высокие концентрации поддерживались более длительный период времени (с 7 до 10 часов). В результате рассчитанные площади под фармакокинетической кривой «концентрация-время» (AUC) после перорального и внутрибрюшинного введений исследуемых субстанций, существенно не различались, составляя соответственно $56,2$ мкг×ч/мл и $47,6$ мкг×ч/мл. При этом биодоступность байкалина при пероральном введении (F) составила всего 6% (таблица 3.4.2).

Таблица 3.4.2

Фармакокинетические параметры байкалина при пероральном введении СЭ ШБ и при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД

Параметры	Пероральное введение СЭ ШБ	Внутрибрюшинное введение СЭ-2-ГП-β-ЦД
Площадь под фармакокинетической кривой (AUC ₀₋₁₀ , мкг*ч/мл)	$56,6 \pm 6,42$	$47,4 \pm 3,92$
Биодоступность (F, %)	$6,1 \pm 0,13$	-

Изучение распределения байкалина выявило его *присутствие* в органах-мишенях - *печени и почках* (рисунок 3.4.2, таблица 3.4.1). При этом максимальная концентрация байкалина при обоих способах введения была зафиксирована в печени раньше, чем в почках. После перорального введения СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг максимальная концентрация в печени достигалась

через 6 часов и составила $4,5 \pm 0,52$ мкг/г, а после внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг она наблюдалась раньше - через 4 часа и была достоверно выше на 80% (составила $8,1 \pm 0,75$ мкг/г). При этом полная элиминация байкалина *из печени* после перорального введения произошла через 8 часов, а после внутрибрюшинного введения - на 2 часа позже – через 10 часов. Максимальная концентрация байкалина в почках при обоих способах введения достигалась через 8 часов и ее значения достоверно не отличались при внутрибрюшинном введении ($2,8 \pm 0,25$ мкг/г) и при пероральном введении ($2,1 \pm 0,22$ мкг/г). Полная элиминация *из почек* наблюдалась через 10 часов в обоих случаях.

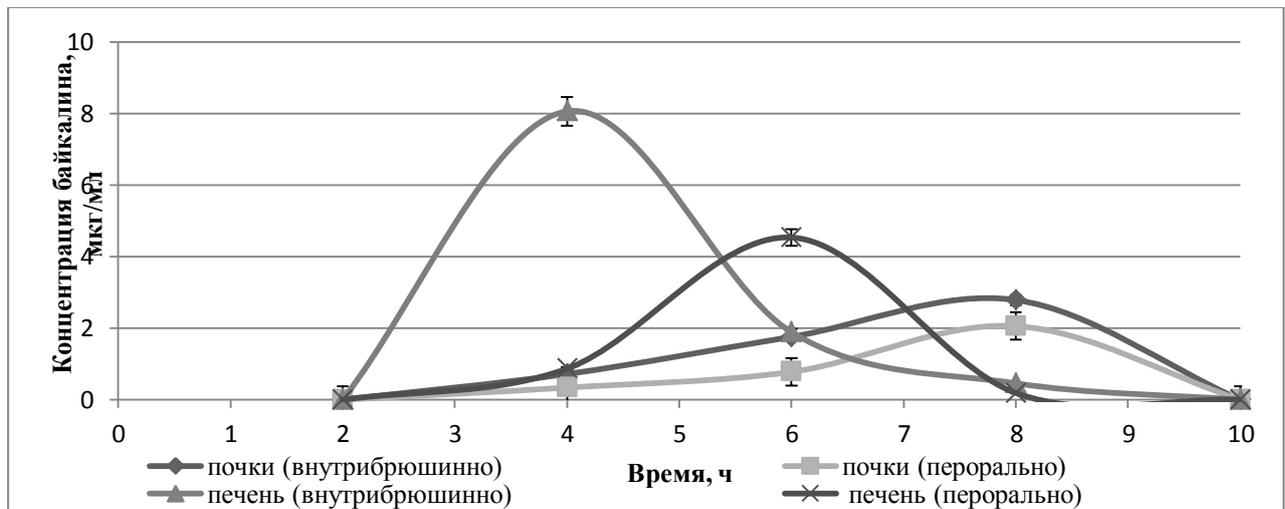


Рисунок 3.4.2 - Концентрация байкалина в печени и почках крыс при пероральном введении СЭ ШБ и при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД

3.5 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что LD_{50} СЭ ШБ при пероральном введении составляет 16 452 мг/кг, что позволяет его отнести к малотоксичным веществам. LD_{50} СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении составляет 366 мг/кг, что позволяет отнести его к умеренно токсичным веществам. Исследуемые субстанции относятся к III-IV классам токсичности, что отвечает требованиям к потенциальным гепатопротекторам по данному параметру. По степени нормализации маркеров поражения печени и почек, коэффициентам гепато- и нефропротекции и проценту выживших животных оптимальными терапевтическими дозами СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при испытании их в качестве гепато- и нефропротекторов являются дозы 300 и 15 мг/кг соответственно, что составляет $1/55 LD_{50}$ СЭ ШБ и $1/25 LD_{50}$ СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Полученные нами результаты согласуются с целым рядом других исследований. Так, например, наиболее выраженное гепатозащитное действие сухого экстракта из горошка обрубленного, содержащего комплекс флавоноидов, на модели острого поражения печени СС₁₄ на-

блюдается в дозе 300 мг/кг [40]. В работе [190] установлено, что спиртовой экстракт из туи западной, содержащий флавоноиды, танин и полисахариды, проявляет более выраженное гепато-защитное действие при поражении печени СС1₄ по нормализации АлАт, АсАт, ЩФ и ОБ в дозе 400 мг/кг, чем 200 мг/кг. Нефропротекторное действие метанольного экстракта из почечного чая (*Orthosiphon stamineus*), содержащего флавоноиды, фенолы, стероиды, танины и др., при поражении почек гентамицином проявляется в большей степени в дозе 200 мг/кг, чем в дозе 100 мг/кг [260]. В работах [1,126] выявлено, что введение экстракта из корней шлемника байкальского в дозе 300 мг/кг при токсическом поражении печени тетрахлорметаном сопровождалось нормализацией функционального состояния печени. Использование байкалина также в дозе 300 мг/кг после токсического поражения печени мышей парацетамолом значительно снижало явления цитолиза в печени и предотвращало гибель животных, а также способствовало повышению содержания восстановленного глутатиона [212]. В работе [258] введение чистого байкалина (>95,5%), полученного из корней шлемника байкальского, в дозе 100 мг/кг мышам, отравленным тетрахлорметаном, не только устраняло явления цитолиза, но и снижало некроз в центральной зоне печени и гиперплазию клеток Купфера, что является наиболее характерным при поражении печени тетрахлорметаном. Профилактическое введение байкалина [296] в дозе 100 мг/кг до ишемически-реперфузионного повреждения почек значительно снижало экспрессию провоспалительных цитокинов и ингибировало апоптоз, а также уменьшало гистологические повреждения по сравнению с контролем и нормализовало функциональную активность почек.

Выполненные в нашей работе фармакокинетические исследования показали, что, в целом, изменения концентрации байкалина в сыворотке крови после внутрибрюшинного и перорального введения СЭ ШБ носят сходный характер, за исключением первоначального максимума через 10 мин после внутрибрюшинного введения. Существенно не различаются и площади под фармакокинетической кривой «концентрация-время» при обоих способах введения ($56,6 \pm 6,42$ и $47,4 \pm 3,92$ мкг*ч/мл), хотя используемая доза при внутрибрюшинном введении была в 20 раз меньше, вследствие чего биодоступность байкалина составляет всего 6%. Другими исследователями получены близкие значения максимальных концентраций байкалина в крови и значения АUC после перорального приема байкалина и корней шлемника байкальского, достигающие низкого микромолярного диапазона. В эксперименте на крысах [177] показано, что АUC₀₋₁ после перорального применения чистого байкалина в дозе 200 мг/кг составляет $17,77 \pm 0,66$ мкг*ч/мл, а после приема корня растения в дозе 10 г/кг АUC для байкалина равно $753 \pm 86,2$ мкг*ч/мл [234].

Выявленное нами снижение концентрации байкалина ниже порога определения через 30 мин после внутрибрюшинного введения, вероятно, обусловлено его метаболическими превращениями в печени. Хорошо известно, что основным органом, метаболизирующим флавоноиды,

является печень [142,169]. Основным путем метаболизма байкалина является глюкуронидация. Основные метаболиты - байкалеин 6-О-глюкоронид-7-О-сульфат и байкалеин 6,7-ди-О-глюкуронид. Конъюгаты могут поступать в общее кровообращение, а также способны частично экскретироваться и попадать в двенадцатиперстную кишку через желчный пузырь (энтерогепатическая циркуляция). Конъюгированные метаболиты также могут легко гидролизироваться ферментом β - глюкуронидазой/сульфатазой до свободного агликона байкалеина и байкалина, которые вновь могут поступать в кровь, что и было установлено в наших исследованиях, когда байкалин через 1 час после внутрибрюшинного введения вновь появился в крови и достиг максимума концентрации через 6 часов. Обнаружение второго пика после внутривенного введения байкалеина установлено и авторами работы [311], что, по их мнению, возможно, указывает на энтерогепатическую циркуляцию.

Полученные нами данные фармакокинетики байкалина свидетельствуют о его присутствии в органах-мишенях - печени и почках, как при пероральном, так и при внутрибрюшинном введениях. При этом максимальная концентрация байкалина, которая достигается в печени после внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП- β -ЦД в дозе 15 мг/кг, почти в 2 раза выше максимальной концентрации в этом органе после перорального введения СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг. В почках создаются практически равные концентрации байкалина после внутрибрюшинного и перорального введения исследуемых субстанций, несмотря на существенные различия в оптимальных терапевтических дозах СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД.

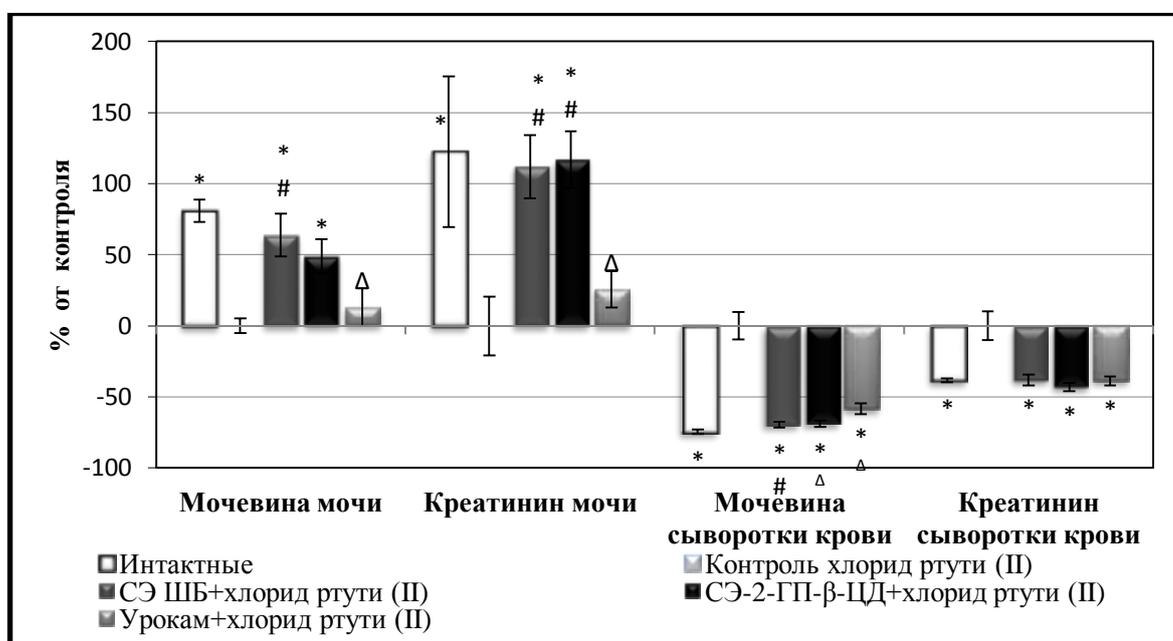
Таким образом, можно сделать вывод, что внутрибрюшинное введение СЭ-2-ГП- β -ЦД позволяет уменьшить оптимальную терапевтическую дозу в 20 раз, не уменьшая концентрации действующего начала в органах-мишенях. Кроме того, некоторые регистрируемые эффекты, позволяют заключить о пролонгированности действия СЭ-2-ГП- β -ЦД (более медленная элиминация байкалина из крови и печени). Тот факт, что для достижения терапевтических концентраций байкалина в организме требуется введение per os значительно более высокой дозы СЭ ШБ, чем при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП- β -ЦД, говорит о наличии достаточно существенного метаболизма байкалина в кишечнике при пероральном способе введения, в первую очередь, с участием кишечной микрофлоры или, по-другому, **о существенной бактериальной деградации байкалина в кишечнике**. Нужно отметить, что данные других авторов также свидетельствуют об интенсивном метаболизме флавоноидов в тонком и толстом кишечнике человека и животных [185, 219, 226, 283], что делает необходимым применение более высоких доз флавоноидов при пероральном введении.

ГЛАВА 4 СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕФРОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО, ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ И УРОКАМА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК ХЛОРИДОМ РТУТИ (II)

4.1 Сравнительная оценка нефрозащитного действия СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама при поражении почек крыс хлоридом ртути (II) по биохимическим и функциональным показателям

Оценку нефрозащитной активности СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при их лечебно-профилактическом введении в оптимальных терапевтических дозах (300 и 15 мг/кг) проводили на модели поражения почек хлоридом ртути (II) в сравнении с урокамом в дозе 1,25 мл/кг. В группе животных патологического контроля (таблица А.1 приложения А), как это регистрировалось и в предыдущих исследованиях (см. главу 3), наблюдалось снижение клиренса эндогенного креатинина с увеличением его концентрация в сыворотке крови на 62% и снижением в моче на 63% по сравнению с интактными крысами. При этом содержание мочевины в сыворотке крови также достоверно увеличивалось на 291%, а в моче - снижалось на 34%.

Введение крысам СЭ ШБ и СЭ-2- ГП-β-ЦД на фоне почечной недостаточности оказало выраженное гипоазотемическое действие, эффективность которого превышала таковую препарата сравнения урокам (таблица А.1 приложения А, рисунок 4.1.1).



$P < 0,05$ (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 урокам.

Рисунок 4.1.1 - Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на показатели азотемического синдрома при повреждении почек хлоридом ртути (II) у крыс

При лечебно-профилактическом применении СЭ ШБ содержание креатинина и мочевины в сыворотке крови и в моче крыс полностью нормализовалось, достоверно не отличаясь от соответствующих значений у интактных животных. Введение СЭ-2-ГП-β-ЦД также способствовало восстановлению указанных показателей до уровня нормы, за исключением содержания мочевины в сыворотке крови, которое снижалось на 67% по отношению к контролю, но оставалось достоверно выше нормы на 27%. При введении же урокама содержание креатинина и мочевины в моче достоверно не отличалось от уровня патологического контроля, оставаясь ниже нормы на 53% и на 25% соответственно и достоверно выше таковых показателей у животных, получавших СЭ ШБ (на 41% и 57% соответственно), а у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, лишь содержание в моче креатинина достоверно отличалось на 42%. В сыворотке крови содержание креатинина у животных, получавших урокам, снижалось по сравнению с контролем на 40% и достоверно не отличалось от интактных крыс, а содержание мочевины нормализовалось не полностью, уменьшаясь на 55% и не достигая уровня нормы, а также достоверно превышая этот показатель у животных, получавших СЭ ШБ на 83% (таблица А.1 приложения А).

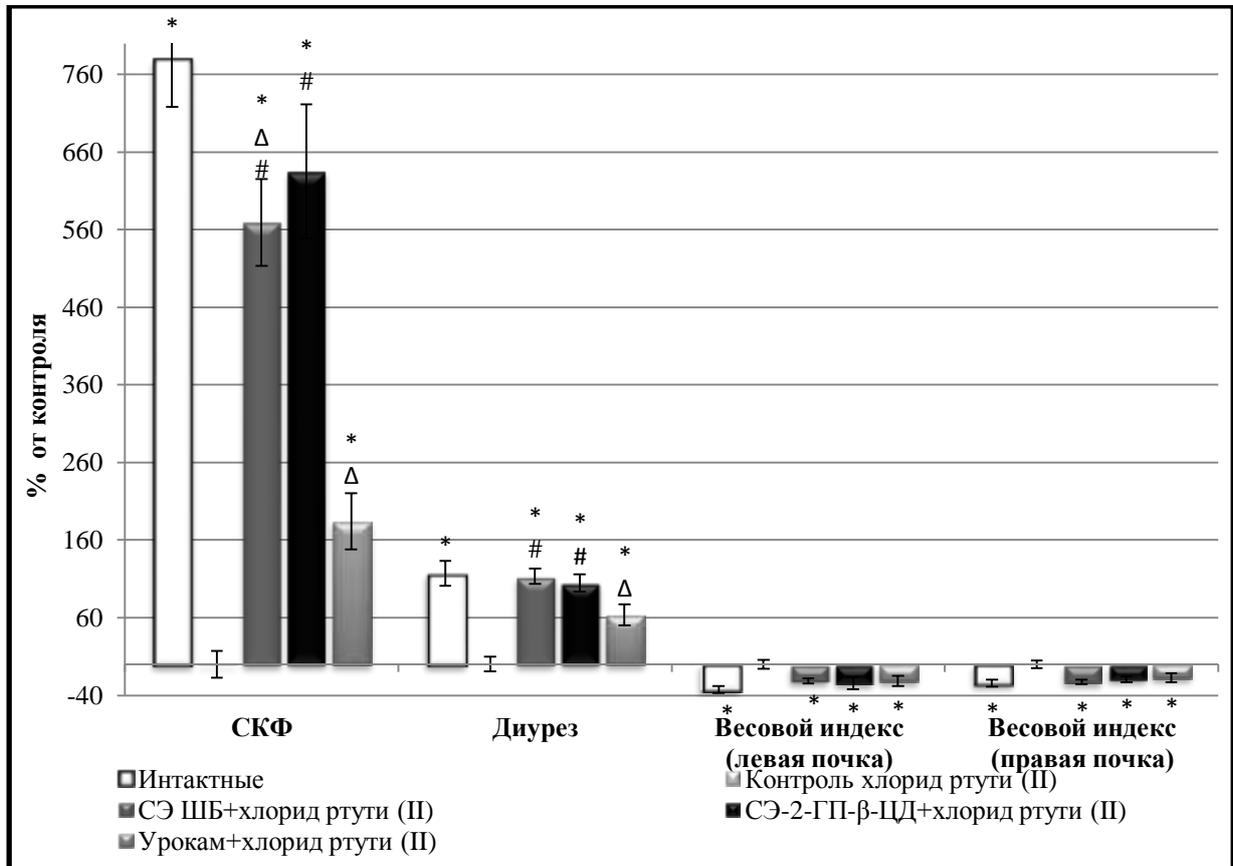
Указанные изменения описанных показателей при поражении почек хлоридом ртути (II) наряду со снижением диуреза (-54%) (таблица А.1 приложения А) свидетельствовали о нарушениях клубочковой фильтрации со снижением СКФ на 89%, что является важнейшим показателем экскреторной функции почек. Применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в значительной степени увеличивало этот показатель на 569% и 635% соответственно по отношению к контролю, повышая диурез до уровня нормы. При этом у крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, и СКФ достоверно не отличалось от уровня нормы. В то же время, у животных, получавших урокам, СКФ оставалось достоверно более низким, чем у интактной группы на 68%, хотя и увеличивалось по сравнению с контролем на 184% , так же, как и объем мочи, который повышался по сравнению с контролем на 64%, но был достоверно более низким, чем у интактных крыс на 25% (рисунок 4.1.2).

Было также установлено (таблица А.1 приложения А), что интоксикация животных хлоридом ртути (II) сопровождалась увеличением весового индекса почек (+49% - левая почка и +32% - правая почка), что свидетельствовало о снижении водовыделительной функции почек и формировании острой воспалительной реакции.

Как следует из данных рисунка 4.1.2, у крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, весовой индекс обеих почек у животных всех трех опытных групп снижался до уровня нормы (достоверные отличия по сравнению с интактной группой отсутствовали).

Как известно, для токсических поражений почек характерны тяжелые расстройства электролитного состава крови [26], что выявлено и в наших исследованиях. Так, в контрольной группе снижалось на 51% содержание кальция в сыворотке крови (таблица А.1 приложения А),

что, вероятно, связано с нарушением активации витамина D из-за неспособности пораженных почек синтезировать в достаточном объеме кальцитриол (1,25-дигидроксивитамин D₃).



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

*- достоверно по отношению к контролю;

Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

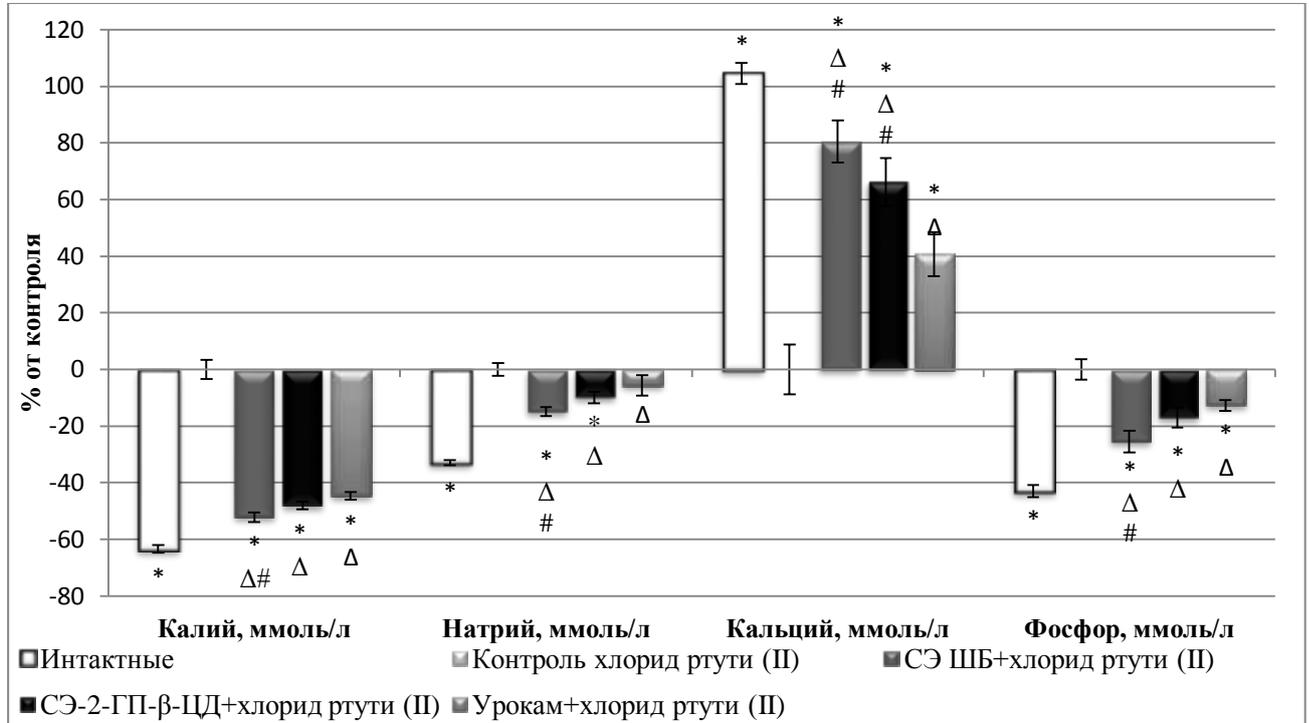
- достоверно по отношению к животным, получавшим урокам.

Рисунок 4.1.2 - Влияние СЭ ШБ и СЭ- 2-ГП-β-ЦД на СКФ, диурез и весовой индекс почек при повреждении хлоридом ртути (II) у крыс

Как известно, активной формой витамина D контролируется синтез кальцийсвязывающего фермента, дефицит которого в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта снижает абсорбцию кальция в кишечнике, что и приводит к повышенной элиминации кальция из организма. Вследствие недостаточного образования активного метаболита витамина D₃ в почках, выведение фосфора из организма также уменьшается и развивается гиперфосфатемия (+75% относительно интактных животных). В результате недостаточной выделительной функции почек возникает олигурия, которая приводит к гиперкалиемии (+173%). Задержка воды в организме сочетается с увеличением натрия в организме (+49%) (таблица А.1 приложения А).

При лечебном применении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД содержание калия достоверно снижалось на 52% и 48%, но оставалось достоверно выше интактного уровня на 30% и 42% соот-

ветственно (рисунок 4.1.3). При использовании урокама уровень калия снижался на 45% и по сравнению с контролем и был выше, чем у здоровых животных на 51%, что достоверно превышало этот показатель у крыс, получавших СЭШБ на 16% (таблица А.1 приложения А).



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 урокам.

Рисунок 4.1.3 - Влияние СЭ ШБ и СЭ- 2-ГП-β-ЦД на электролитный состав крови при повреждении почек хлоридом ртути (II) у крыс

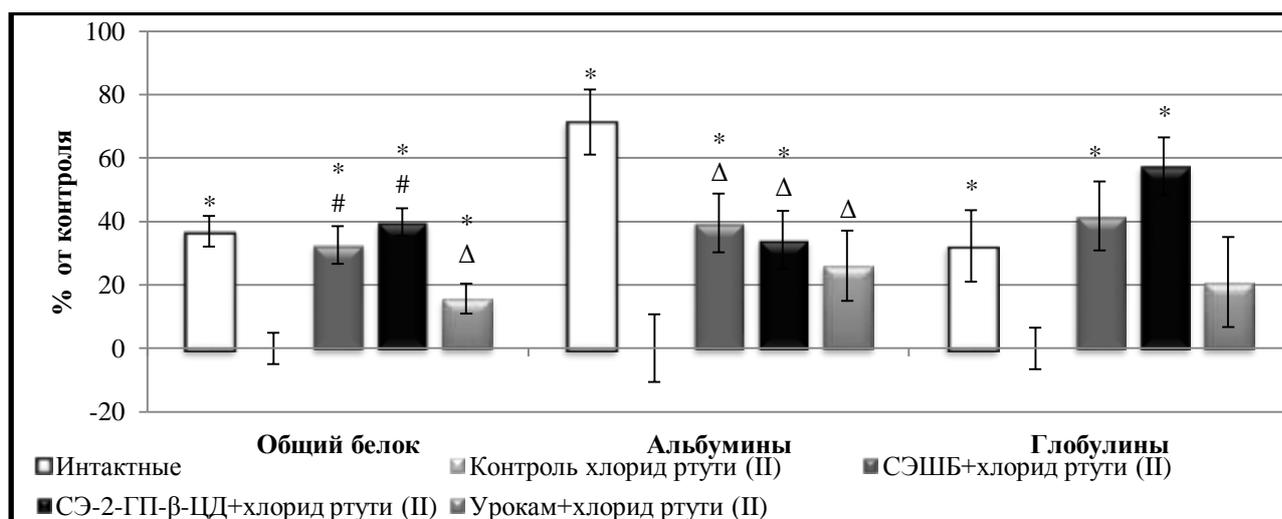
Содержание натрия при приеме СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД снижалось по сравнению с контролем на 15% и 10% соответственно, но при применении урокама достоверных отличий уровня натрия у этих животных по сравнению с контролем не выявлено, при этом его содержание было достоверно более высоким, чем у животных, получавших СЭ ШБ на 16%. Содержание кальция при введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД увеличивалось по сравнению с контролем на 81% и 67% соответственно, а при использовании урокама только на 41%, что достоверно уступало и действию СЭ ШБ и действию СЭ-2-ГП-β-ЦД на 22% и 16% соответственно.

При приеме СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама содержание фосфора в сыворотке крови хотя и снижалось по сравнению с контролем соответственно на 26%, 17% и 13%, но полностью не нормализовалось, т.к. достоверно отличалось от интактного уровня во всех опытных групп.

пах. В то же время у крыс, получавших урокам, этот показатель был достоверно выше на 17%, чем у животных, которым вводили СЭ ШБ (таблица А.1 приложения А).

При поражении почек хлоридом ртути (II) также были выявлены нарушения показателей белкового обмена, которые представлены в таблице А.1 приложения А. В сыворотке крови наблюдалось снижение количества общего белка (-27%) и белковых фракций (альбуминов - на 42%, глобулинов - на 24%).

Под действием СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД полностью нормализовалось содержание общего белка и глобулинов в сыворотке крови, а содержание альбуминов повышалось на 40% и 34% соответственно, но достоверно отличалось от интактных животных. В результате применения урокама содержание общего белка по сравнению с контролем увеличивалось лишь на 16%, достоверно отличаясь от интактных крыс, а также крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на 16%, 13% и 17% соответственно; содержание альбуминов оставалось сниженным, как и в контроле (достоверные отличия отсутствовали), а содержание глобулинов достоверно не отличалось ни от контроля, ни от интактных крыс (рисунок 4.1.4).



$P < 0,05$ (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 урокам.

Рисунок 4.1.4 - Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на показатели нефротического синдрома при повреждении почек хлоридом ртути (II) у крыс

Введение крысам хлорида ртути (II) привело к появлению в моче белка, эритроцитов и увеличению содержания лейкоцитов, что свидетельствовало о развитии мочевого синдрома - повреждения почечной паренхимы, воспаления почек и мочевыводящих путей (таблица 4.1.1). При применении СЭ ШБ в моче отсутствовал белок, снижалось на 91% содержание эритроцитов и лейкоцитов по сравнению с контролем. При введении СЭ-2-ГП-β-ЦД в моче также не об-

наруживался белок, а количество эритроцитов достоверно снижалось на 92%, лейкоцитов - на 90%. При введении урокама содержание эритроцитов и лейкоцитов в моче снижалось в несколько меньшей степени (на 80% и 82% соответственно по сравнению с контролем), белок в моче также отсутствовал, как это наблюдается в норме.

Таблица 4.1.1

Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама на некоторые показатели мочи у крыс на модели поражения хлоридом ртути (II)

Показатель	Экспериментальные группы				
	Ин-тактные, n=8	Контроль (хлорид ртути (II)+вода перорально), n=6	Хлорид ртути (II)+СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	Хлорид ртути (II) +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	Хлорид ртути (II)+урокам, 1,25мл/кг, n=7
Белок, г/л	нет	146±47	нет	нет	нет
Эритроциты, кл/мкл	нет	50,5±7,9	4,3±2,1* [#] -91%	3,8±2,3* [#] -92%	10,2±5,4* [#] -80%
Лейкоциты, кл/мкл	5±2,9* [#]	191±37,8 +3720%	17±9,4* [#] -91%	20±9,4* [#] -90%	34±14,4* [#] -82%

Примечания: *- достоверно по отношению к контролю, P<0,05 (тест Манна-Уитни)
#- достоверно по отношению к контролю, P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ, тест Ньюмана-Кейлса)

В целом, можно сказать, что, исходя из изученных биохимических и функциональных показателей состояния почек, СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД по выраженности нефрозащитного действия существенно не отличаются между собой, но значительно превышают эффективность действия урокама на модели поражения почек хлоридом ртути (II).

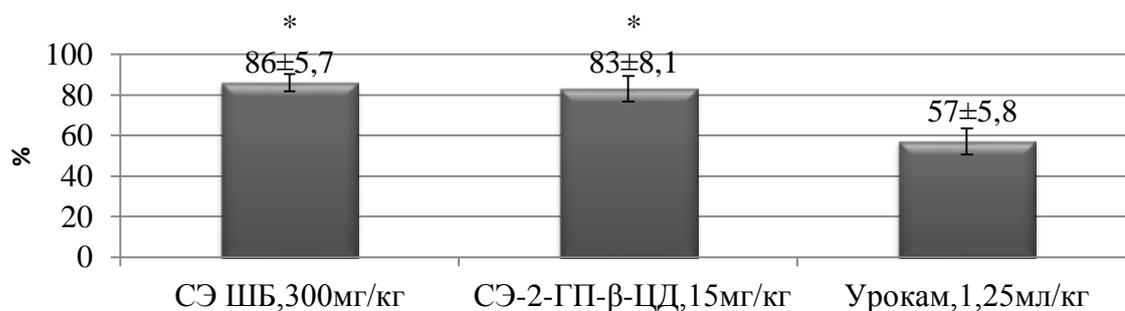
В таблице 4.1.2 суммированы результаты по восстановлению показателей основных патологических синдромов, отражающих поражение почек, при применении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама на фоне хлорида ртути (II) с указанием средних процентов восстановления показателей соответствующих синдромов (коэффициентов нефропротекции по синдромам). Видно, что СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, как и урокам, в равной степени препятствуют развитию мочевого синдрома, острой воспалительной реакции, судя по снижению весового индекса почек, но проявляют более выраженное действие, чем урокам в отношении устранения азотемического синдрома, нефротического синдрома, восстановления диуреза и электролитного состава крови. При этом достоверной разницы в отношении нормализации показателей всех патосиндромов между СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД не выявлено. Рассчитанные средние коэффициенты нефропротекции с учетом всех показателей основных патосиндромов (рисунок 4.1.5) подтверждают вывод о достоверно более выраженном нефрозащитном действии СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД по сравнению с урокамом и отсутствии достоверной разницы в эффективности действия СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при их применении в оптимальных терапевтических дозах.

Таблица 4.1.2

Влияние СЭ ШБ, его водорастворимой формы 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%
Урокам, 1,25мл/кг	- - ± + ±	± - ± ±	± - ±	+++	±	++
% нефропротекции	49±17,3%	39±11,2%	48±8,6%	82±3,6%	54%	68±4,2%
Примечания: «+» - полная нормализация показателя, «±» - неполная нормализация, «-» - отсутствие эффекта						

При курсовом введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в оптимальных терапевтических дозах здоровым животным все изученные биохимические показатели, используемые для характеристики функционального состояния почек, достоверно не отличались от значений в контрольных группах: контроле 1 (пероральное введение воды очищенной), контроле 2 (внутрибрюшинное введение воды очищенной) и контроле 3 (внутрибрюшинное введение 2-ГП-β-ЦД, а также от интактного уровня (таблица А.10 приложения А).



* - статистически значимо по отношению к урокаму (P<0,05, t-тест).

Рисунок 4.1.5 - Значения коэффициентов нефропротекции СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама

4.2 Исследование гистологической картины почек при поражении хлоридом ртути (II) и при введении СЭ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама

В корковом веществе почки животных, которые получали только хлорид ртути (II), отмечалось резкое полнокровие и отек капилляров клубочков. Контуров их были размыты, фестончатая структура нарушена. Просветы капсул практически отсутствовали. Отмечалось резкое расширение проксимальных и дистальных извитых канальцев коркового вещества. Примерно половина этих канальцев была заполнена аморфной или зернистой эозинофильной массой (цилиндры). Эпителий большинства канальцев - некротизирован и слущен в их просвет (рисунок Б.7 приложения Б).

Значительным изменениям подверглось мозговое вещество почки. В канальцах мозгового вещества отмечались значительные дистрофические и некротические изменения эпителия, которые проявлялись в набухании и отделении эпителиальных клеток от базальных мембран и друг от друга, потере значительным количеством ядер базофилии, кариолизисе и десквамации эпителиальных клеток. Просветы канальцев были значительно расширены. В интерстиции наблюдался выраженный отек, лимфоцитарная и нейтрофильная инфильтрация, которая была особенно ярко выражена в мозговой зоне и имела очаговый характер. В отдельных зонах истонченные канальцы, сливаясь, образовали кистозидные участки. Просветы большинства канальцев заполнены аморфным эозинофильным содержимым, смешанным с эритроцитарными массами и слущенным эпителием канальцев (рисунок Б.8 приложения Б). Процент канальцев мозгового вещества почек контрольных крыс, отравленных хлоридом ртути (II), находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества составляет $88\% \pm 7,6\%$.

У животных, получавших СЭ ШБ, на гистологических срезах коркового вещества клубочки имели фестончатое строение, отек был выражен умеренно. Просветы капсул сохранены. Только отдельные единичные фрагменты извитых канальцев первого и второго порядка содержали аморфный эозинофильный депозит. Остальные канальцы были свободны от содержимого. Эпителий большинства канальцев сохранен. Степень десквамации эпителия и патологические изменения ядер (кариолизис) были значительно менее выражены, чем в контроле (рисунок Б.9 приложения Б).

На гистологических срезах мозгового вещества почки также наблюдались значительно меньшие изменения, чем в контрольной группе. Канальцы были расширены умеренно, кубический эпителий канальцев в большинстве сохранен. Ядра их нормохромные, выстроены мягко извитыми цепочками. Количество аморфных депозитов в просветах канальцев умеренное (рисунок Б.10 приложения Б). Процент канальцев мозгового вещества почек крыс, которые получали СЭ ШБ, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества составляет $33\% \pm 5,2\%$, что на 63% достоверно меньше контрольных значений.

В группе крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, морфологическая картина по выраженности патологических изменений соответствовала предыдущей группе (рисунки Б.11, Б.12 приложения Б). Процент канальцев мозгового вещества почек крыс, которые получали СЭ-2-ГП-β-ЦД, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества составляет $38\% \pm 6,4\%$, что достоверно меньше на 57%, чем у контрольных животных.

В группе животных, леченных урокамом, на фоне поражения почек хлоридом ртути (II) патологические изменения были более выражены, чем в предыдущих группах. Большая часть извитых канальцев коркового вещества утратила эпителиальную выстилку канальцев, просвет этих канальцев заметно расширен, заполнен эозинофильными депозитами (рисунок Б.13 приложения Б). Гломерулярный аппарат коркового вещества пострадал в меньшей степени. Клубочки сохранили фестончатое строение, просветы капсул зияют, свободны от содержимого. Тубулярный аппарат почки заметно поврежден. Эпителий примерно половины канальцев десквамирован. Просветы канальцев заполнены аморфными депозитами (рисунок Б.14 приложения Б). Процент канальцев мозгового вещества почек крыс, которые получали урокам, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества составляет $64\% \pm 4,8\%$, что на 24% меньше, чем у контрольных крыс, но достоверно больше на 48% и 41%, чем в группах, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД соответственно.

Таким образом, гистологические исследования свидетельствуют, что поражение почек хлоридом ртути (II), проявляется значительными дистрофическими и структурными изменениями, ярко выраженными на гистологической картине срезов. Изучаемые соединения оказывают защитное действие при данном типе поражения, которое проявляется в уменьшении степени дистрофии тканей и нормализации ее структуры. При этом, как и в случае биохимических данных, на гистологической картине почек животных, получавших **урокам**, *восстановительные процессы были выражены в меньшей степени*, чем у крыс, получавших **СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД**.

При изучении гистологической картины почек у животных интактной группы внешняя поверхность органа гладкая с плавно огибающей поверхностью. Микроскопически хорошо различимы капсула, корковый и мозговой слои. В корковом слое отчетливо просматриваются многочисленные клубочки нефронов, имеющие сферическую форму со слегка неровной поверхностью. Клубочки заключены в капсулы, просвет которых имеет серповидную форму, либо в виде кольца окружает клубочек. Полости капсул свободны от содержимого. Пространство между клубочками представлено гомогенно окрашенными клетками с многочисленными перфорациями - срезами извитых канальцев и сосудов коркового вещества. Эпителий коркового вещества плотно прилежит к поверхности канальцев, представлен непрерывным одноклеточным слоем эндотелиальных клеток. Ядра этих клеток округлые или овальные, правильной формы с глад-

кой поверхностью, располагаются в центре гомогенной цитоплазмы. Просвет канальцев зияет, свободен от содержимого. Мозговое вещество представлено гомогенно окрашенной паренхимой с радиарно (от сосочка пирамиды к периферии) расположенным канальцевым аппаратом. Просветы канальцев зияют, обычного поперечного размера, свободны от содержимого (рисунок Б.1 приложения Б).

Микроструктуризация почек крыс, получавших перорально только СЭ ШБ в терапевтической дозе, не изменена. Соединительнотканная капсула тонкая. В паренхиме почки сохранялось довольно отчетливое подразделение на корковый и мозговой ее отделы. В корковом слое мозговые лучи отграничивали дольки почки. В отдельных полях зрения были заметны полнокровные междольковые артерии. В корковом отделе почки выделялись собственно кортикальная и юкстамедуллярная зоны. Почечные тельца сохраняли фестончатый вид. Капилляры клубочков в указанных зонах умеренно полнокровные. Просветы боуменовой капсулы свободные, щелевидной формы. Синехий между висцеральным и париетальным ее листками не обнаружено. В клубочках не выявлено экссудативных процессов, так же как и пролиферации подоцитов, эндотелиальных и мезангиальных клеток. Эпителий всех отделов канальцев сохранен. Тубулярные просветы не расширены. Цилиндров в них не обнаружено. Сосуды в строме почки, особенно в дугообразных артериях, вазальной системе юкстамедуллярного окольного кровотока, умеренно гиперемизированные. Отека нефроинтерстиция, наличия в нем очаговых или диффузных полиморфных лейкоцитарных скоплений не выявлено (рисунки Б.3, Б.4 приложения Б).

В почках крыс, которым внутрибрюшинно вводили СЭ-2-ГП-β-ЦД в оптимальной терапевтической дозе, параренальная соединительнотканная оболочка - тонкая. Паренхима почки отчетливо структурировалась на корковый и мозговой слои. Мозговые лучи отграничивали дольки почки. Они состояли из ветвящихся собирательных трубочек, нисходящей и восходящей части петли Генле. В отдельных участках почки можно было заметить слабо полнокровные междольковые артериолы и кровеносные капилляры. Клубочки округлой формы, пространства гломерулярных капсул свободные. Цитоплазма проксимальных отделов эпителия канальцев мелкогранулярно-эозинофильная. Ядра канальцевого аппарата в корковом веществе отчетливо контурировались. Подобная микроморфология канальцевого локуса нефрона наблюдалась и в юкстамедуллярной зоне почек. По сравнению с корковыми отделами, здесь была более заметна гиперемия в дуговых венах и некоторых юкстамедуллярных шунтах. Эпителиоциты собирательных трубочек, были выражены отчетливо. Просветы их узкие, свободные. Отека перитубулярного интерстиция не выявлено (рисунки Б.5, Б.6 приложения Б).

Таким образом, на гистологической картине почек крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, каких-либо воспалительных, дистрофических, атрофических, некротических, склеротических и других патологических изменений в исследуемом органе не обнаружено.

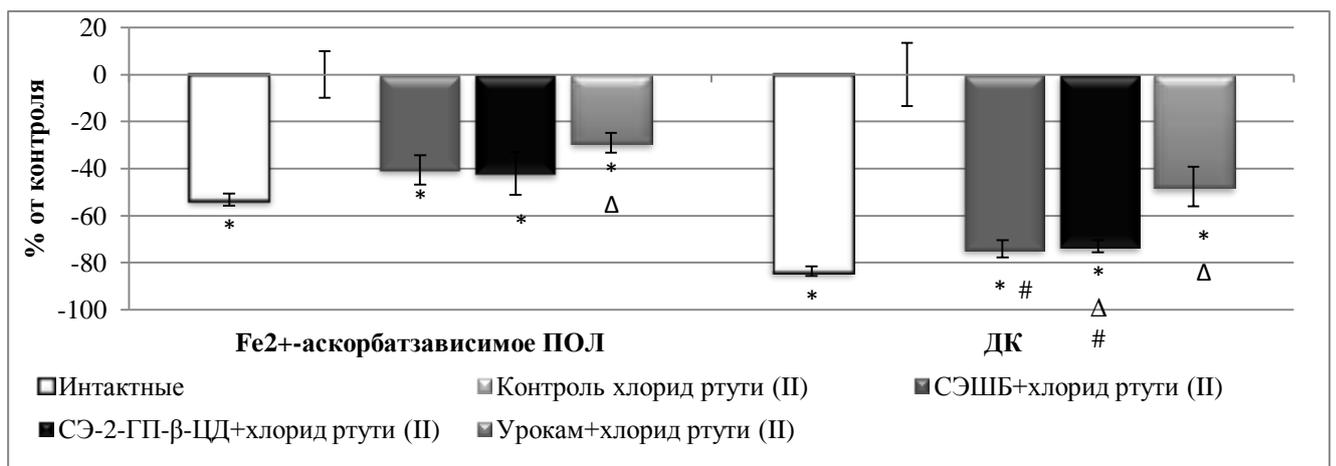
4.3 Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в сравнении с уроками на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при повреждении почек хлоридом ртути (II) у крыс

Как видно из таблицы А.2 приложения А, у крыс после воспроизведения модели повреждения почек хлоридом ртути (II) наблюдалось значительное накопление в почках как ДК в 6 раз, так и повышение интенсивности Fe²⁺-аскорбатзависимого ПОЛ в гомогенате в 2,1 раза по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало об активации ПОЛ in vivo.

Одновременно установлено значительное ослабление ферментативного звена антиоксидантной защиты: в гомогенате и постъядерной фракции почек достоверно снижались активности каталазы на 24%, СОД на 63%, Г-6-ФДГ на 47%, ГП на 31% и Г-S-T на 70%, в почках уменьшалось содержание GSH на 53%.

Таким образом, при поражении почек хлоридом ртути (II) наблюдался сдвиг про-антиоксидантного равновесия в сторону усиления процессов пероксидации и снижение эффективности системы антиоксидантной защиты, что характерно для развития окислительного стресса.

Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД привело к полной нормализации большинства исследованных показателей в почках. Так, у животных, получавших СЭ ШБ как перорально, так и внутривентриально, на фоне поражения почек хлоридом ртути (II) наблюдалось достоверное снижение содержания ДК по сравнению с контрольной группой крыс на 74% и 73%. При этом также замедлялась скорость образования МДА при Fe²⁺-аскорбат-зависимом ПОЛ на 40% и 42% (рисунок 4.3.1), т.е. практически в равной степени,



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

* - достоверно по отношению к контрольным животным;

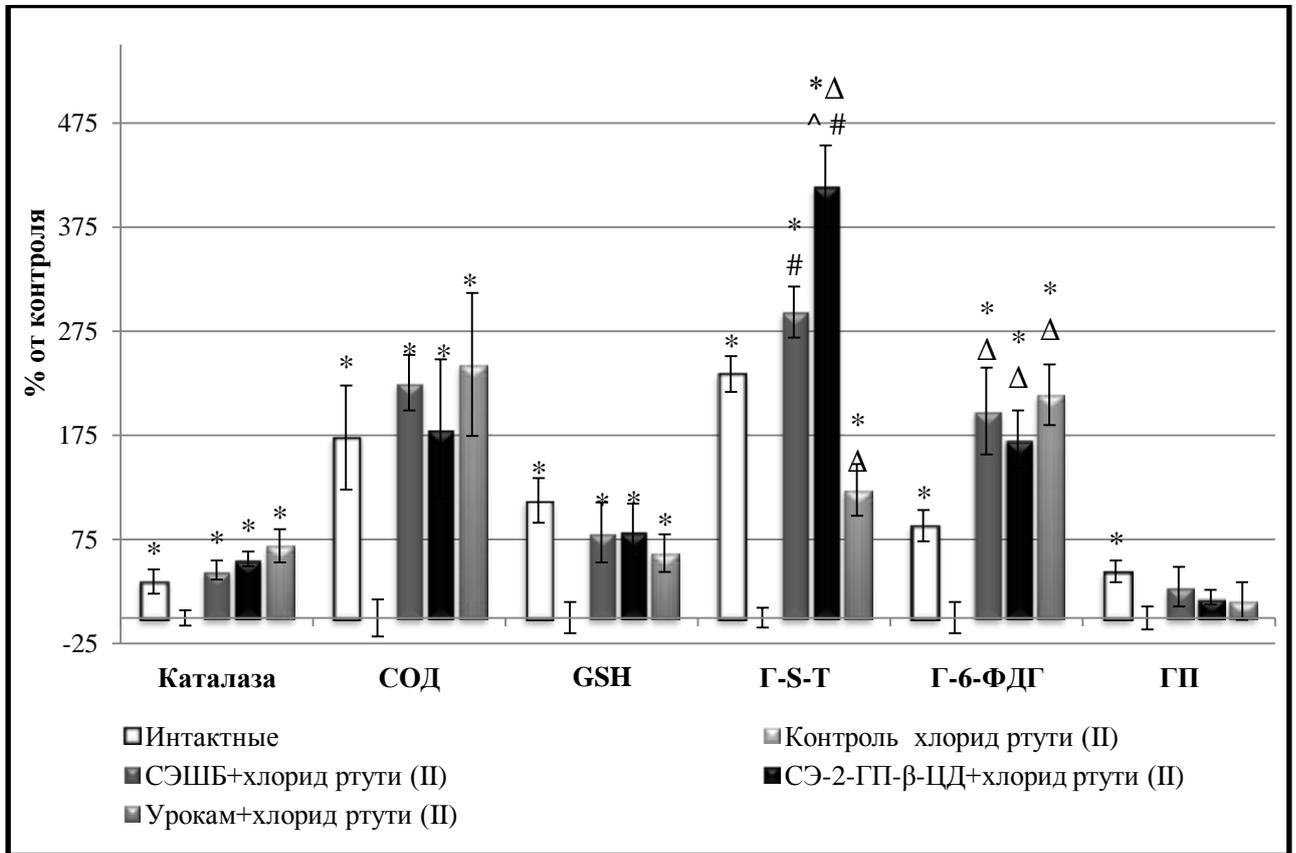
Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

- достоверно по отношению к животным, получавшим урокам.

Рисунок 4.3.1 - Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на интенсивность ПОЛ в почках крыс

причем эти показатели достоверно не отличались от нормы. У животных, получавших урокам, не наблюдалось полной нормализации как содержания ДК, которое снижалось по отношению к контролю в меньшей степени (-48%), так и интенсивности ПОЛ, которая также уменьшалась менее выражено (-39%) по сравнению с животными, получавшими СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД. При этом содержание ДК у животных, получавших урокам, было достоверно выше, чем у крыс, которым вводили СЭ ШБ перорально и внутрибрюшинно на 102% и 95% соответственно.

Под влиянием СЭ ШБ достоверно возрастали и не отличались от нормы активности каталазы на 44%, СОД на 226%, Г-S-T на 294% и содержание GSH на 82%, а активность Г-6-ФДГ достоверно увеличивалась на 197% и становилась даже выше уровня интактных животных на 59% (рисунок 4.3.2).



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 урокам;

^ - достоверно по отношению к животным, получавшим СЭ ШБ.

Рисунок 4.3.2 - Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на состояние антиоксидантной системы почек крыс

Введение СЭ ШБ внутрибрюшинно оказало практически такое же действие: увеличивались и не отличались достоверно от нормы активности каталазы на 56%, СОД на 181% и со-

держание GSH в почках на 83%. Активность Г-6-ФДГ повысилась на 171%, что, как и при пероральном применении, было достоверно выше интактных значений (в данном случае на 44%). Кроме того, наблюдался значительный рост активности Г-S-T на 416%, что стало достоверно выше интактного уровня на 54% и на 31% по сравнению с крысами, получавшими СЭ ШБ перорально (таблица А.2 приложения А).

Под влиянием препарата сравнения урокама содержание в почках GSH, активности СОД и каталазы повышались до уровня нормы (достоверные отличия по отношению к интактной группе отсутствовали), активность же Г-S-T хотя и повышалась на 124%, но не достигала интактных значений, а также была достоверно более низкой, чем у животных, получавших СЭ ШБ перорально и внутривентриально на 43% и 57% соответственно (таблица А.2 приложения А).

При этом, как и в случае применения СЭ ШБ, у крыс, получавших урокам, наблюдалось значительное повышение активности Г-6-ФДГ на 213%, что было достоверно выше значения нормы на 67%. В отношении такого фермента, как ГП, не выявлялось его четкого изменения во всех опытных группах, так как его активность достоверно не отличалась ни от контроля, ни от нормы.

Таким образом, так же, как и урокам, исследуемые субстанции при поражении почек хлоридом ртути (II) способствуют повышению активности основных антиоксидантных ферментов (каталазы, СОД, Г-S-T, Г-6-ФДГ) и содержанию GSH в почках. При этом активности каталазы и СОД, а также содержание GSH полностью нормализуются, а подъем активности Г-6-ФДГ настолько значителен, что превышает таковые активности у здоровых животных, что также отмечается и в отношении активности Г-S-T у животных, которым вводили СЭ ШБ внутривентриально. В то же время урокам уступал исследуемым субстанциям в отношении нормализации Г-S-T, поскольку активность данного фермента у этой группы животных повышалась в меньшей мере, чем в других опытных группах, и достоверно отличалась от нормы.

Для оценки восстановления равновесия в системе про-антиоксиданты, нарушенного введением хлоридом ртути (II) в почках, был рассчитан коэффициент окислительного стресса (как отношение произведения показателей ПОЛ к произведению показателей АОС, выраженных в относительных единицах к норме) (таблица 4.3.1), который значительно возрастал при поражении почек (до 921). При сохранении баланса в системе ПОЛ-АОС данный коэффициент равен 1. При применении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД значение этого коэффициента составляло 1,06, что практически равно 1 и характерно для нормы. Использование урокама также приводило к значительному снижению коэффициента окислительного стресса, но в меньшей степени, - до 4,4.

Таким образом, СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД способствовали более эффективному преодолению окислительного стресса и восстановлению про-антиоксидантного равновесия, чем препарат сравнения урокам.

Таблица 4.3.1

Значения коэффициента окислительного стресса при поражении почек хлоридом ртути (II) и при применении СЭ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах

Группы животных	Прооксиданты (ПОЛ x ДК), в отн.ед. к норме	Антиоксиданты (GSHxГ-S-TxГПх ката-лазахСОДxГ-6-ФДГ), в отн.ед. к норме	K _{про/антиоксиданты}
Интактные	1	1	1
Контроль (хлорид ртути (II))	12,9	0,014	921
СЭ ШБ 300мг/кг + хлорид ртути (II)	2	1,89	1,06
СЭ-2-ГП-β-ЦД 15мг/кг +хлорид ртути (II)	2	1,89	1,06
Урокам 1,25 мл/кг + хлорид ртути (II)	4,7	1,06	4,4

4.4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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 почек (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.

Применение СЭ ШБ и его водорастворимой формы СЭ-2-ГП-β-ЦД оказывает выраженное и равное по эффективности нефрозащитное действие на фоне введения хлорида ртути (II), которое сравнимо с эталонным препаратом урокамом в отношении устранения мочевого синдрома (93%, 92% и 82% соответственно)* и острой воспалительной реакции (81%, 77% и 68% соответственно)* и значительно превышает действие этого препарата в отношении предотвращения развития азотемического (91%, 89% и 49% соответственно)*, нефротического синдромов (91%, 100% и 48% соответственно)*, восстановления электролитного состава крови (66%, 56% и 39% соответственно)* и нормализации диуреза (92%, 86% и 54% соответственно)*.

При введении СЭ ШБ перорально в дозе 300 мг/кг наблюдается более выраженная по сравнению с урокамом нормализация содержания креатинина и мочевины в моче, объема мочи и СКФ, содержания в сыворотке крови калия, натрия, кальция, общего белка, мочевины, а при

* - указан процент эффективности

использовании СЭ-2-ГП-β-ЦД внутривнутрибрюшинно в дозе 15 мг/кг происходит более эффективная по сравнению с урокамом нормализация содержания креатинина в моче, объема мочи и СКФ, содержания в сыворотке крови кальция и общего белка.

По рассчитанному среднему коэффициенту нефропротекции с учетом нормализации всех показателей основных патосиндромов СЭ ШБ ($86 \pm 5,7\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($83 \pm 8,1\%$) обладают равнозначной эффективностью нефрозащитного действия, которая достоверно превышает действие урокама ($57 \pm 5,8\%$) в 1,5 раза, что подтверждается гистоморфологической картиной почек. По комплексу биохимических показателей и гистоморфологической картине почек пероральное и внутривнутрибрюшинное введение СЭ ШБ не оказывает влияния на здоровые почки.

В ряде работ [26,196, 269, 237] показано, что механизмом, участвующим в повреждении почек, вызванном воздействием хлорида ртути (II) является индукция окислительного стресса. Высокое сродство ртути к тиолам может приводить к истощению внутриклеточных тиолов (особенно GSH), что предрасполагает к окислительному повреждению проксимальные трубчатые клетки почек [269]. После воздействия хлорида ртути (II) снижается и активность ряда антиоксидантных ферментов. Так, авторы [196, 270] указывают о значительном снижении активности каталазы при введении токсина у крыс и мышей.

В нашем исследовании также выявлено развитие окислительного стресса при введении хлорида ртути (II), сопровождающееся описанными выше нарушениями функции и структуры почек, с активацией процессов липопероксидации – увеличением в почках ДК на 507%, интенсивности Fe^{2+} -аскорбат-зависимого ПОЛ на 113% и снижением активности каталазы, СОД, Г-6-ФДГ, ГП и Г-S-T, а также содержания GSH на 24%, 63%, 47%, 31%, 70% и 53% соответственно, что приводит к возрастанию коэффициента окислительного стресса до 921 (при норме - 1).

Лечебно-профилактическое введение СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг способствует нормализации активности ферментов АОС (каталазы, СОД, Г-S-T, Г-6-ФДГ) и содержания GSH в почках, а также показателей ПОЛ. Урокаму уступает исследуемым субстанциям в отношении нормализации интенсивности ПОЛ и активности Г-S-T.

При оценке степени восстановления про-антиоксидантного равновесия под влиянием СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД по такому интегральному показателю, как коэффициент окислительного стресса, позволяющему одновременно оценить состояние процессов ПОЛ и АОС, установлена их равная (1,06) и более выраженная по сравнению с урокамом (4,4) эффективность, как это отмечалось и в отношении степени нефрозащитного действия исследуемых субстанций по коэффициенту нефропротекции (см. выше). Из этого вытекает, что степень нефрозащитного действия существенным образом связана со степенью восстановления про-антиоксидантного равновесия: чем в большей степени наблюдается восстановление баланса в системе ПОЛ-АОС, тем выше степень защитного действия.

Многие авторы считают, что в механизмах предотвращения развития окислительного стресса большое значение принадлежит собственной антиоксидантной активности соединений, в частности, флавоноидов, для которых доказано существование таковой активности. В то же время, в последние годы все большее внимание уделяется исследованию возможности потенцирования эндогенных неферментативных и ферментативных систем, что представляется более эффективным для преодоления окислительного стресса.

Это отмечается и в отношении исследований по изучению нефрозащитного действия флавоноидов на модели поражения почек хлоридом ртути (II). Так, введение экстракта из семян рукколы посевной (*Eruca sativa*), содержащего в большом количестве флавоноиды, практически нормализует сниженные активности СОД, каталазы, ГП, глутатионредуктазы, а также уровень GSH в почках и повышенное содержание ТБК-активных продуктов [196]. Введение кемпферола по лечебной схеме в течение 28 дней препятствует повышению содержания МДА и снижению активностей СОД, ГП, каталазы, а также содержания GSH, витамина Е и аскорбиновой кислоты в почках крыс [246]. Профилактическое введение схизандрина В и полифенолов чая у крыс оказывает защитное действие при сулемовой нефропатии, снижая ПОЛ и усиливая АОС, за счет повышения активности СОД, ГП и содержания GSH [297]. Применение у крыс комбинации сухих экстрактов из лекарственных растений, обладающих нефрозащитной активностью (побегов толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylos uva – ursi* L.), листа брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis idaea* L.), травы горца птичьего (*Polygonum* L.), цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), листа крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.)), приводит к снижению концентрации МДА в сыворотке крови и гомогенатах почек, а также повышению содержания GSH в крови [26]. В работе [296] установлено, что при введении байкалина в почках восстанавливаются активность СОД и концентрация малонового диальдегида, измененные после ишемически-реперфузионного повреждения почек. Использование байкалина также способствует нормализации АОС в почках при их цисплатин-индуцированном повреждении – повышаются содержание GSH, витамина С и активность СОД [160].

Следует отметить, что особое значение в усилении флавоноидами резистентности к окислительному стрессу, вероятно, имеет повышение содержания GSH и активности Г-S-T, поскольку глутатион в большинстве клетках содержится в миллимолярных концентрациях, а Г-S-T составляет до 10% цитозольного белка, что обеспечивает необходимую защиту против токсических перекисей и продуктов метаболизма ксенобиотиков [85, 195, 235,314]

В наших исследованиях также продемонстрировано усиление эффективности работы глутатионового звена антиоксидантной защиты (содержание GSH, активности Г-S-T и Г-6-ФДГ), что в большей степени регистрируется после внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД. При этом наблюдается увеличение до уровней, достоверно превышающих норму, актив-

ностей и Г-S-T и Г-6-ФДГ, тогда как при пероральном введении СЭШБ и урокама - только активности Г-6-ФДГ. Помимо повышения активности Г-S-T, вносящей важный вклад в регуляцию ПОЛ, представляется важным способность байкалина, содержащегося в исследуемых субстанциях, повышать активность одной из $NADP^+$ -редуктаз - Г-6-ФДГ, участвующей в регенерации GSH из окисленной формы. Это формирует мощный резерв, усиливающий эффективность системы АОЗ, и позволяет обеспечивать более высокую скорость восстановления глутатиона, когда возникает в этом необходимость, а именно в условиях развития окислительного стресса.

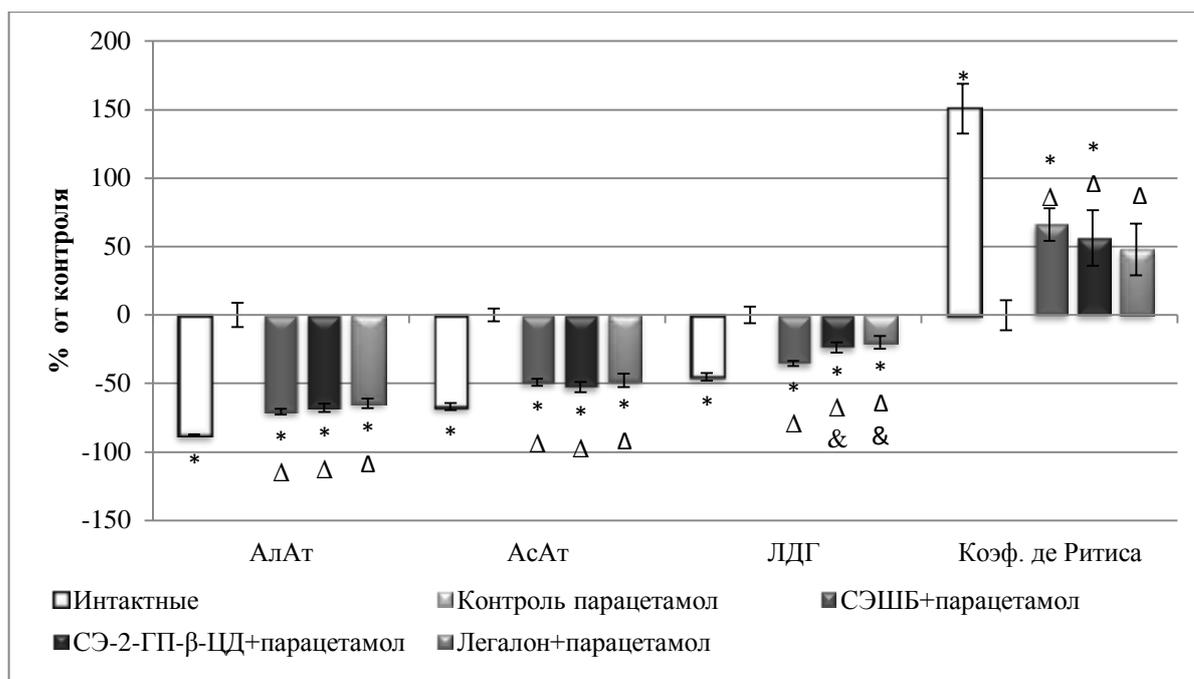
ГЛАВА 5 СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО, ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ И ЛЕГАЛОНА ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

5.1 Сравнительная оценка гепатозащитного действия СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона при поражении печени парацетамолом по биохимическим показателям

Как видно из данных, представленных в таблице А.3 приложения А, двукратное введение парацетамола в токсической дозе привело к повреждению печени. Развивался цитолитический синдром, в результате чего в крови повышались активности АлАт (+699%), АсАт (+201%), ЛДГ (+82%), снижался коэффициент де Ритиса (-60%), происходило повышение в сыворотке крови активностей ЩФ на 101% и γ-ГТ – на 203%, повышалось количество ОБ на 307% за счет фракции прямого билирубина, что свидетельствовало о развитии синдрома холестаза. Основные нарушения белкового, липидного и углеводного обменов, которые наблюдались при введении парацетамола, заключались в повышении содержания в сыворотке крови холестерина (+133%) и ТРГ (+212%), а также в накоплении ТРГ в печени на 336%. Одновременно наблюдалось уменьшение количества общего белка на 33% и альбуминов - на 56%, снижение активности ХЭ в сыворотке крови на 55%, что отражало ухудшение биосинтетической функции печени. Кроме этого снижалось содержание глюкозы в сыворотке крови на 44%.

Таким образом, выявленные изменения биохимических показателей свидетельствовали о развитии поражения печени в результате введения парацетамола с проявлениями признаков таких патологических синдромов, как цитоллиз, жировая дистрофия, холестаз, нарушение желчсекреторной, белково-синтетической функций печени, углеводного и липидного обменов.

Как видно из данных, представленных на рисунке 5.1.1 и в таблице А.3 приложения А, лечебно-профилактическое пероральное введение СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг, СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг внутрибрюшинно и препарата сравнения легалона в дозе 100 мг/кг при поражении печени парацетамолом привело к снижению активностей трансаминаз и ЛДГ, но значений интактного уровня эти показатели так и не достигли. Значения коэффициента де Ритиса, хотя и изменялись в сторону нормализации, но также достоверно отличались от нормы у крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД. При применении легалона коэффициент де Ритиса достоверно не отличался ни от контроля, ни от нормы, а активность ЛДГ была достоверно выше, чем у животных, получавших СЭ ШБ на 24%. Активность этого фермента у животных, которым вводили СЭ-2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно, также была достоверно выше на 18%, чем у крыс, получавших его перорально.



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

* - достоверно по отношению к контролю;

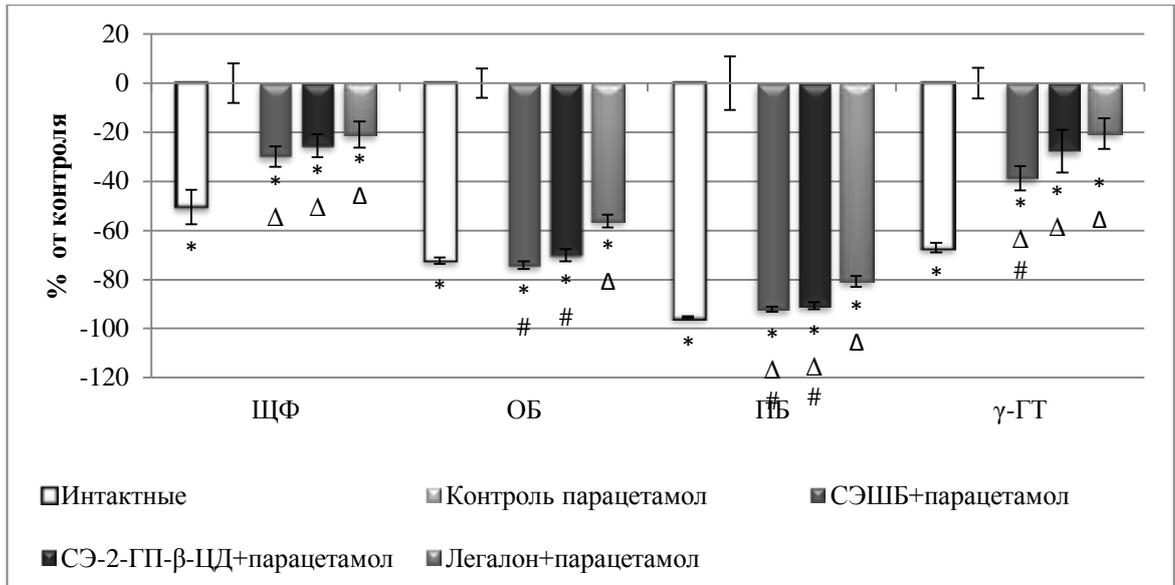
Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

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

Рисунок 5.1.1 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона на показатели синдрома цитоллиза, вызванного введением парацетамола у крыс

Изменение показателей синдрома холестаза под влиянием СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона представлено на рисунке 5.1.2 и в таблице А.3 приложения А. Активности ЩФ и γ-ГТ снижались у животных всех опытных групп и достоверно отличались и от контроля, и от нормы. Активность γ-ГТ у животных, которым вводили легалон, была выше, чем у животных, получавших СЭ ШБ на 30%. Содержание ОБ при использовании СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД снижалось на 77% и 74% соответственно, достоверно не отличаясь от здоровых животных (отмечалась полная нормализация), но содержание ПБ снижалось на 92% и 91% соответственно, но достоверно отличалось от нормы. При введении легалона количество ОБ и ПБ снижалось на 61% и 81% соответственно и достоверно отличалось от нормы в обоих случаях. Данные показатели у животных, получавших легалон, были достоверно более высокими, чем у животных, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на 58% и 47% соответственно и на 129% и 100% соответственно (таблица А.3 приложения А).

На рисунке 5.1.3 и в таблице А.3 приложения А представлены данные по влиянию СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на показатели белкового, липидного и углеводного обменов. При введении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона восстанавливалось до нормы лишь содержание общего белка в сыворотке крови. Содержание альбуминов увеличивалось на 68%, 46% и 80%



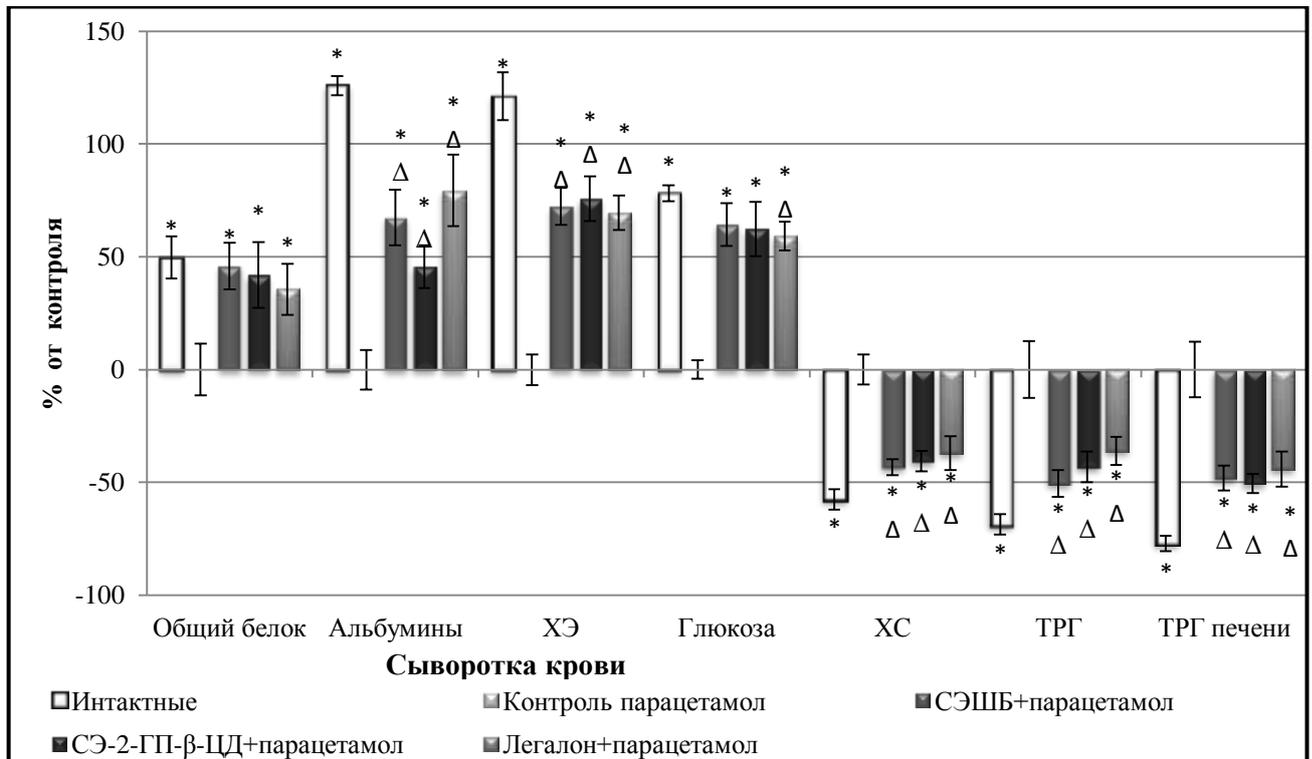
P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса)

*- достоверно по отношению к контролю;

Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

- достоверно по отношению к группе, получавшей легалон

Рисунок 5.1.2 - Влияние СЭШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона на показатели синдрома холестаза, вызванного введением парацетамола у крыс



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

*- достоверно по отношению к контролю;

Δ - достоверно по отношению к интактным животным.

Рисунок 5.1.3 - Влияние СЭШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона на показатели белкового, липидного и углеводного обменов при применении парацетамола у крыс

соответственно, а активность ХЭ повышалась на 72%, 76% и 70% соответственно, но достоверно отличались от интактных животных.

При введении СЭ ШБ перорально, СЭ-2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно и легалона содержание глюкозы в сыворотке крови полностью нормализовалось, достоверно не отличаясь от интактных значений. Показатели липидного обмена: содержание холестерина, ТРГ в сыворотке крови и ТРГ в печени уменьшались примерно в равной степени при введении исследуемых субстанций и легалона, но достоверно отличались от нормы. Между группами животных, получавших СЭ ШБ перорально и СЭ-2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно, по этим показателям достоверных отличий не выявлено, а также между ними и препаратом сравнения легалоном.

В таблице 5.1.1 суммированы результаты по восстановлению при применении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона показателей основных патологических синдромов поражения печени парацетамолом с указанием средних процентов восстановления (коэффициентов гепатопротекции) показателей цитолиза, холестаза, белково-синтетической и метаболической функций печени. Как видно из представленных данных, СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД оказали более выраженное влияние по предотвращению развития холестаза, чем легалон, поскольку при их введении наблюдалась полная нормализация содержания ОБ в сыворотке в крови, тогда как при введении легалона этот показатель полностью не нормализовался.

Таблица 5.1.1

Восстановление показателей основных патологических синдромов при введении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона при применении парацетамола 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, «±» - неполная нормализация, «-» - отсутствие эффекта

В целом же, исходя из среднего процента восстановления показателей всех изучаемых синдромов (рисунок 5.1.4), можно сказать, что при поражении печени, которое развивается при введении парацетамола, достоверных отличий в эффективности гепатозащитного действия между СЭ ШБ (75%), СЭ-2-ГП-β-ЦД (68%) и легалоном (65%) не выявлено, хотя легалон и имеет наименьшее значение данного коэффициента.

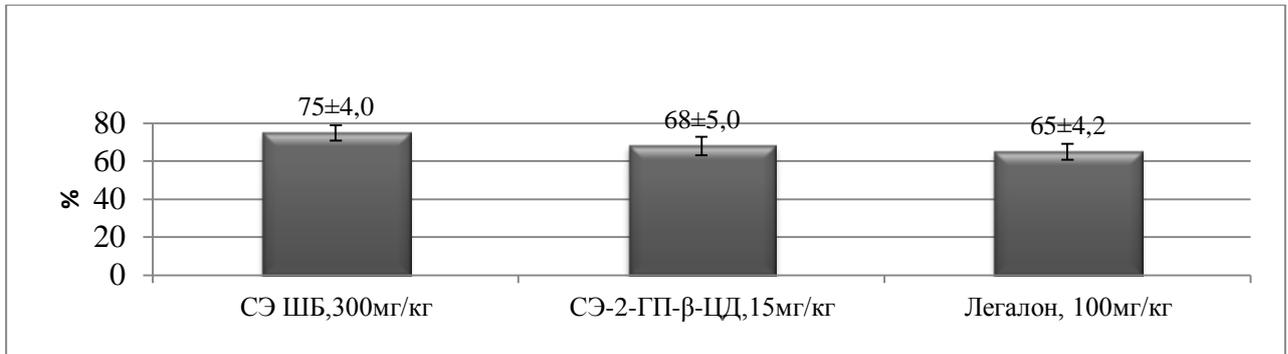
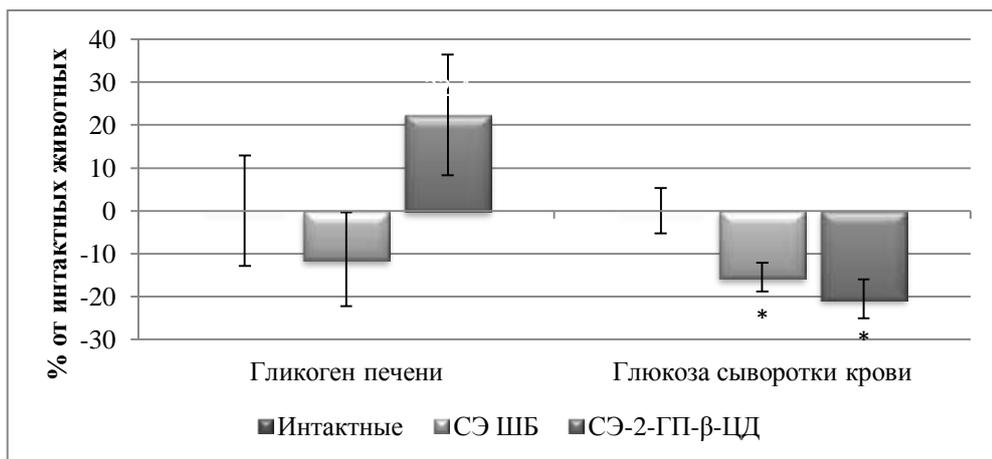


Рисунок 5.1.4 - Значения коэффициентов гепатопротекции при применении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона в терапевтических дозах при поражении печени парацетамолом

Поскольку перспективными гепатопротекторами следует считать соединения, не оказывающие влияния на здоровую печень, изучено изменение биохимических показателей, которые используются для характеристики степени повреждения печени, у крыс после курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, как описано в 2.3.8. Как видно из таблицы А.9 приложения А, все эти показатели находились на уровне интактных животных и достоверно не отличались от них (активности АлАт, АсАт, ЩФ, ЛДГ, ХЭ, γ-ГТ, содержание ОБ и его фракций, содержание общего белка и его фракций в сыворотке крови), а также от соответствующих контролей.

В то же время, было выявлено достоверное снижение по сравнению с соответствующими контрольными группами содержание глюкозы в сыворотке крови на 15% у животных, получавших СЭ ШБ, и на 21% у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД. При этом запасы гликогена в печени не изменялись (его содержание достоверно не отличалось от нормы) (рисунок 5.1.5).



* - достоверно по отношению к интактным животным ($P < 0,05$), тест Манна-Уитни, парный t-тест

Рисунок 5.1.5 - Влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на показатели углеводного обмена у здоровых животных

Подобные изменения в содержании компонентов углеводного обмена при курсовом введении СЭ ШБ могут свидетельствовать об усилении захвата глюкозы из крови печенью и её окислительного распада в этом органе [146, 274].

Было также установлено, что показатели липидного обмена: содержание ТРГ, холестерина в сыворотке крови и уровень ТРГ в гомогенатах печени не отличались от нормы и контрольных значений (рисунок 5.1.6, таблица А.9 приложения А).

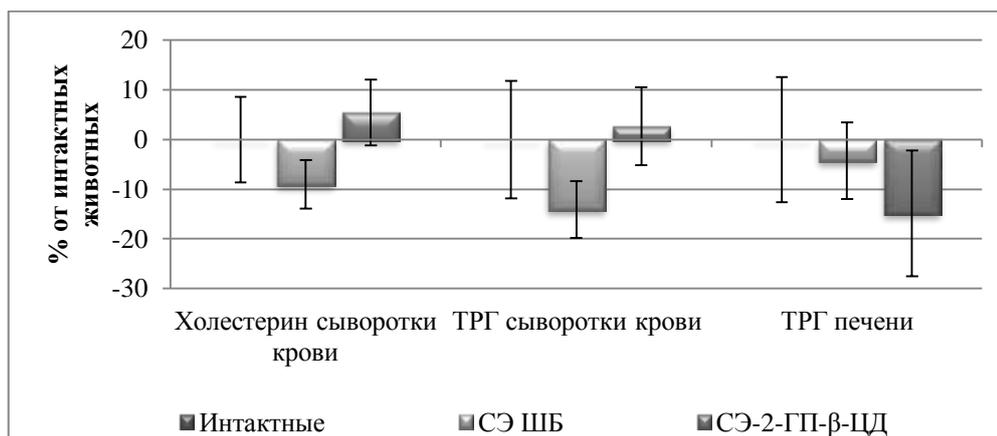


Рисунок 5.1.6 - Влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на показатели липидного обмена у здоровых животных

5.2 Исследование гистологической картины печени при поражении парацетамолом и при введении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона

В контрольной группе животных, получавших только парацетамол, на срезах печени было резко нарушено балочное строение долек. Наблюдалась выраженная гидропическая дистрофия, которая характеризовалась появлением в клетке вакуолей, наполненных цитоплазматической жидкостью. Паренхиматозные клетки были увеличены в объеме, цитоплазма их заполнена вакуолями, содержащими прозрачную жидкость. Ядро смещалось на периферию, иногда вакуолизировалось или сморщивалось. В части клеток наблюдался распад ультраструктур и переполнение их водой. Эти клетки превращались в огромную вакуоль, в которой плавало пузырько-видное ядро. Такие изменения клетки по существу являются выражением фокального колликвационного некроза. В центрлобулярной зоне отмечались фокальные некрозы клеток с начальным формированием мостовых портоцентральных некрозов. Большая часть гепатоцитов (особенно в центрлобулярной зоне) была увеличена в объеме, их цитоплазма казалась оптически пустой. Синусоидные капилляры были резко расширены (рисунок Б.18 приложения Б). Процент некротизированных гепатоцитов составил $7,0 \pm 0,1\%$ (у интактных крыс – $0,48 \pm 0,08\%$). В группе животных, получавших СЭ ШБ перорально в дозе 300 мг/кг на фоне введения параце-

тамола, патологические изменения выражены не резко. Балочная архитектоника печени изменена умеренно. Синусоидальные капилляры умеренно расширены. Наблюдались лишь начальные проявления гидропической дистрофии в форме просветления цитоплазмы клеток, преимущественно по их периферии. Ядра гепатоцитов в большинстве своем сохраняли обычную структуру и размеры. Центральные вены имели небольшое количество эритроцитов. Патологические включения в цитоплазме клеток не наблюдались. Лимфоцитарной инфильтрации не было. Участков некрозов не обнаружено (рисунок Б.19 приложения Б). Количество некротизированных гепатоцитов составило $1,8 \pm 0,15\%$.

В группе животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно в дозе 15 мг/кг на фоне введения парацетамола, гистологическая картина была аналогична предыдущей группе. Балочная структура печени изменена умеренно. Синусоидальные капилляры несколько расширены. Определялись первичные проявления гидропической дистрофии. Цитоплазма клеток по периферии была просветлена. Ядра гепатоцитов сохраняли обычную структуру и размеры. Центральные вены содержали умеренное количество крови. Патологические включения в цитоплазме клеток не наблюдались. Лимфоцитарной инфильтрации не было. Участков некрозов не обнаружено (рисунок Б.20 приложения Б). Число некротизированных гепатоцитов равнялось $1,2 \pm 0,11\%$.

В группе животных, получавших препарат сравнения легалон перорально в дозе 100 мг/кг на фоне введения парацетамола, наблюдались более выраженные признаки гидропической дистрофии, чем в двух предыдущих экспериментальных группах. Причем гидропическая дистрофия имела диффузный характер. Большинство гепатоцитов находилось в состоянии достаточно выраженной гидропической дистрофии, однако значительно менее выраженной, чем в контроле. Балочная структура печени также была нарушена в меньшей степени, чем в контроле, тем не менее, достаточно явно просматривалась. Центральные вены и кровеносные сосуды триад были заполнены аморфным депозитом. Ядра большей части гепатоцитов находились в стадии карioreкиса и карюлизиса. В зоне портальных трактов наблюдалась повышенная лимфоцитарная инфильтрация (рисунок Б.21 приложения Б). Процент некротизированных гепатоцитов составлял $3,5 \pm 0,42\%$, что было достоверно выше, чем у животных, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на 94% и 192%.

Таким образом, гистологические исследования печени свидетельствуют, что поражение парацетамолом проявляется значительными структурными изменениями и гидропической дистрофией, ярко выраженными на гистологической картине срезов.

Изучаемые соединения оказывают защитное действие при данном типе поражения, которое проявляется в уменьшении степени дистрофии тканей и нормализации ее структуры. При этом, как и в случае биохимических данных, на гистологической картине печени животных, по-

лучавших легалон, восстановительные процессы выражены в меньшей степени, чем у крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД перорально и внутрибрюшино.

Гистоморфологическая картина печени была также исследована в группах после курсового применения (14 дней) только СЭ ШБ перорально или СЭ-2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно в оптимальных терапевтических дозах .

На микропрепаратах печени крыс после курсового введения СЭ ШБ перорально центральные вены округлой или овальной формы, содержали небольшое количество эритроцитов. Гепатоциты в печеночных балках тесно прилегали друг к другу по ходу балок. Между печеночными балками были хорошо видны синусоиды, которые имели мягкую извитость и были свободны от содержимого. Гепатоциты имели равномерную гомогенную окраску, цитоплазма содержала нежную зернистость. Печеночные дольки прилегали так, что плавно переходили одни в другие. Междольковые перегородки тонкие и едва различимы, ровные. Печеночные балки имели радиальную ориентацию. Большинство клеток содержало одно ядро. В портальных зонах отчетливо различались триады. Признаков воспалительных, дистрофических, некротических и других патологических изменений не обнаружено (рисунок Б.16 приложения Б).

При обзорном исследовании на гистологических препаратах печени крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно, выявлена равномерная окраска по всей площади срезов. Центральные вены были округлой или овальной формы, содержали большое количество эритроцитов. Гепатоциты в печеночных балках тесно прилегали друг к другу по ходу балок. Между печеночными балками были хорошо видны резко расширенные синусоиды, с грубой извитостью, свободные от содержимого. Гепатоциты имели равномерную гомогенную окраску, цитоплазма содержала зернистость. Радиальная ориентация печеночных балок не нарушена. Ядра правильной округлой формы, размещены в центре цитоплазмы. В портальных зонах отчетливо различались триады. Сосуды печени не гиперемированы. Просветы сосудов триады зияли, правильной округлой формы. Вокруг зоны триад определялась небольшая лимфоцитарная инфильтрация. Признаков дистрофических и некротических изменений гепатоцитов не обнаружено (рисунок Б.17 приложения Б).

Таким образом, на гистологической картине печени крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, воспалительных, дистрофических, атрофических, некротических, склеротических и других патологических изменений в исследуемых органах не обнаружено.

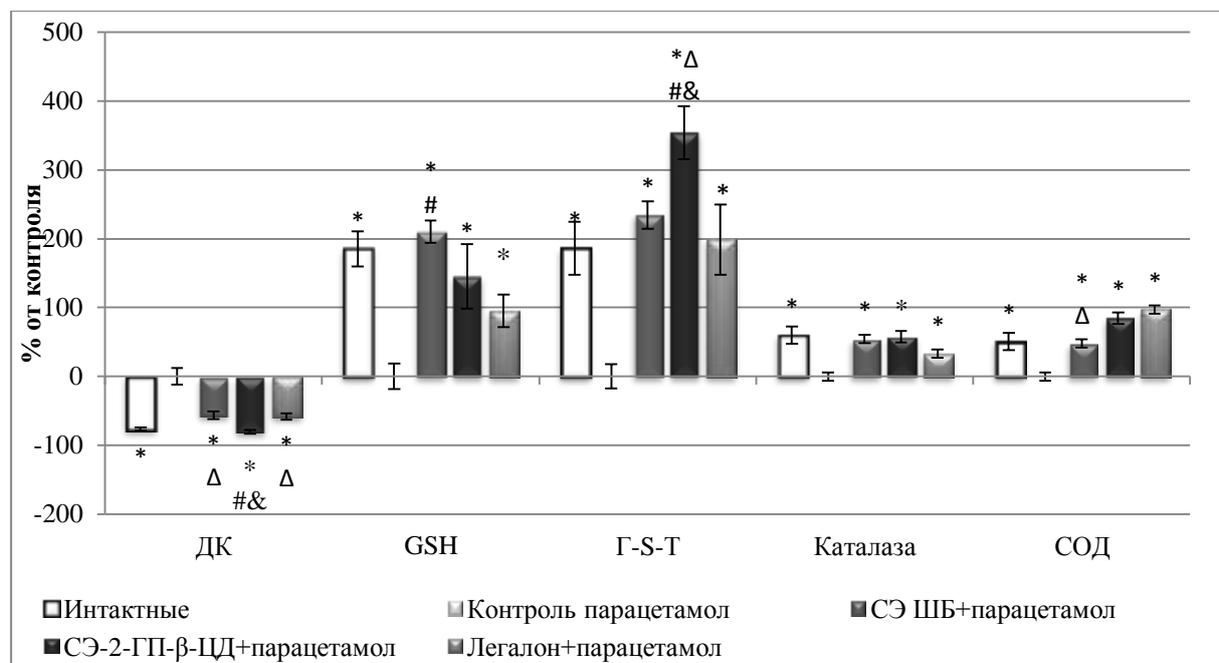
5.3 Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в сравнении с легалоном на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при повреждении печени парацетамолом у крыс

Как видно из таблицы А.4 приложения А, у крыс после введения парацетамола наблюдалось значительное накопление ДК в печени на 324% по сравнению с интактными животными.

ми. Одновременно регистрировалось снижение активности ферментов антиоксидантной системы: активности каталазы, СОД и Г-S-T на 36%, 53% и 65% соответственно, а также снижение уровня GSH на 65% по сравнению с интактными животными.

Таким образом, при поражении печени парацетамолом наблюдалось нарушение про-антиоксидантного равновесия и развитие окислительного стресса, что выражается в усилении процессов пероксидации и снижении активности эндогенной АОС.

При лечебно-профилактическом применении СЭ ШБ у животных перорально, так и СЭ-2-ГП-β-ЦД внутрибрюшинно на фоне введения парацетамола, наблюдалось достоверное снижение содержания ДК по сравнению с контрольной группой крыс на 59% и 81% соответственно, причем при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД значение данного показателя достоверно не отличалось от нормы и было достоверно ниже, чем у животных, которым вводили СЭ ШБ перорально на 53% (рисунок 5.3.1, таблица А.4 приложения А).



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 группе, получавшей легалон;

&- достоверно по отношению к группе, получавшей СЭ ШБ

Рисунок 5.3.1 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалона на содержание ДК, активности антиоксидантных ферментов и содержание глутатиона восстановленного в печени крыс на фоне введения парацетамола

При этом активность каталазы и содержание GSH в печени достоверно возрастали как при пероральном введении СЭ ШБ, так и при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД на

52% и 57% и в 3,1 и 2,5 раза соответственно по сравнению с контрольными животными и достоверно не отличались от уровня интактных животных. Активность СОД повышалась на 48% и 85% соответственно, достигая значения нормы только в случае внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД. Активность Г-S-T полностью нормализовалась под влиянием СЭ ШБ, а при введении СЭ-2-ГП-β-ЦД поднималась даже выше нормы на 59% и была достоверно более высокой, чем при введении СЭ ШБ на 37%, что отмечалось и при введении СЭ-2-ГП-β-ЦД на фоне сулемового нефроза (см. главу 4.3).

При введении препарата сравнения легалона содержание ДК снижалось на 57%, не достигая значения интактных животных и оставаясь достоверно более высоким, чем у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД на 124%. Активности каталазы и СОД возрастали на 29% и 102% соответственно, не отличаясь от нормы. При введении легалона достоверно в меньшей степени (на 37%), чем при введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД нормализовалось содержание GSH в печени, повышаясь по сравнению с контролем на 95%, но оставаясь достоверно ниже, чем у интактных крыс на 31%. При этом активность Г-S-T увеличивалась на 200%, достоверно не отличаясь от здоровых животных и животных, получавших СЭ ШБ, но была достоверно ниже на 34%, чем у животных после внутрибрюшинного введения СЭ-2-ГП-β-ЦД.

5.4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных нами исследований установлено, что при токсическом поражении печени парацетамолом наблюдается развитие цитолиза (АлАт на 699%, АсАт на 201%), холестаза (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.

Лечебно-профилактическое применение у крыс СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг на фоне поражения печени парацетамолом оказывает выраженное гепатопротекторное действие. При внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП-β-ЦД наблюдается более эффективная нормализация по сравнению с легалоном содержания общего и прямого билирубина в сыворотке крови, а при пероральном – еще и активностей ЛДГ и γ-ГТ. В отношении других исследованных биохимических показателей достоверных отличий между СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и легалоном не выявлено.

Таким образом, при поражении печени парацетамолом СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД так же, как и легалон, практически в равной степени способствуют нормализации белковосинтетической функции, показателей липидного и углеводного обменов, но в достоверно большей степе-

ни, чем легалон препятствуют развитию холестаза, а также цитолиза - при пероральном применении СЭ ШБ.

По коэффициенту гепатопротекции с учетом всех биохимических показателей СЭ ШБ ($75 \pm 4,0\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($68 \pm 5,0\%$) обладают одинаковой выраженностью гепатозащитного действия, которая сравнима с таковой легалона ($65 \pm 4,2\%$), но легалон не устраняет гипербилирубинемии.

В работе Ажуновой Т.А., 1987 [2] было установлено, что курсовое введение экстракта ШБ в дозе 300 мг/кг оказывает выраженное фармакотерапевтическое влияние на функциональное состояние печени при ее поражении парацетамолом, снижая явления цитолиза, благоприятно воздействуя на желчеобразовательную и желчевыделительную функции печени и препятствуя накоплению в организме продуктов ПОЛ, но сравнение его эффективности с эталонными препаратами авторами не проводилось.

Полученные данные о недостаточной эффективности легалона в отношении устранения гипербилирубинемии согласуются со сведениями литературы и ранее проведенными исследованиями о том, что препараты на основе расторопши пятнистой не в полной мере предотвращают развитие холестаза. Так, в работах показано сохранение повышенного уровня прямого и непрямого билирубина при введении карсила на фоне поражения печени $CC1_4$ [42,54,55,57,58] и повышенной активности γ-ГТ при алкогольной интоксикации [24,42,48,51]. В других экспериментальных исследованиях и в клинической практике также установлено, что применение данных препаратов не всегда приводит к нормализации содержания билирубина и его фракций при заболеваниях печени. Например, назначение в клинике силимарина в течение 1 мес. лишь у 55% больных привело к нормализации уровня ОБ [75]

Гистоморфологическая картина печени на фоне поражения парацетамолом свидетельствует о более эффективном гепатозащитном действии СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, чем препарата легалон, на фоне введения которого сохранялись более выраженные признаки гидропической дистрофии, сохранение нарушений балочной структуры и достоверно более высокий процент некротизированных гепатоцитов.

Курсовое применение СЭ ШБ перорально и СЭ-2-ГП-β-ЦД внутривенно не оказывает влияния на здоровую печень по комплексу биохимических показателей и гистоморфологической картине печени, что является обязательным требованием к потенциальным гепатопротекторам.

Нами также установлено, что при поражении печени парацетамолом наблюдается индукция окислительного стресса: значительное накопление продуктов ПОЛ – ДК (на 324%) с уменьшением активностей ферментов антиоксидантной системы: каталазы, СОД и Г-S-T, а также значительным снижением содержания GSH на 65% в печени, что согласуется с данными

литературы. Как известно, истощение GSH при введении высоких доз парацетамола вызвано образованием высокореактивного метаболита парацетамола NAPQI, который необратимо связывается с GSH, что ведет к усилению ПОЛ в силу значительного снижения АОЗ [256], т.к. GSH является важным компонентом АОС. Антиоксидантные свойства глутатиона восстановленного определяются как непосредственным взаимодействием с АФК и обменными реакциями с дисульфидными связями, так и обеспечением функционирования ряда ферментов глутатионового цикла, из которых главным является Г-S-T. Основная функция Г-S-T в печени - защита клеток от ксенобиотиков и продуктов ПОЛ посредством их восстановления при участии GSH [144,220].

Как правило, в здоровом организме механизм защиты для нейтрализации и предотвращения производства свободных радикалов с помощью эндогенной АОС «работает» эффективно. При использовании же высоких доз парацетамола баланс между генерацией АФК и механизмом антиоксидантной защиты может нарушаться [148], что приводит к развитию оксидативного стресса, накоплению токсичных метаболитов и развитию некроза. Кроме окислительного стресса, как указывают [203, 255], поражению печени парацетамолом, способствует и прямое токсическое действие метаболита NAPQI с последующей активацией воспалительного медиатора ФНО- α , что приводит к повреждению клеток печени и их гибели.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что исследуемые нами субстанции и эталонный гепатопротектор легалон препятствуют развитию окислительного стресса, что является, по нашему мнению, важнейшим механизмом их гепатозащитного действия. Введение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД способствует снижению содержания ДК в печени, отражающих интенсивность ПОЛ (на 59% и 81% соответственно), увеличивает или полностью нормализует активности таких антиоксидантных ферментов, как СОД и каталазы, что отмечается в наших исследованиях и при введении легалона. Но значительно более эффективно, чем легалон, СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД способствуют усилению глутатионового звена АОЗ, повышая содержание GSH в 3,1 и 2,5 раза и активности Г-S-T на 233% и 355% соответственно, тогда как легалон увеличивает эти показатели в 1,95 раза и на 200% соответственно по сравнению с патологическим контролем.

При этом введение СЭ-2-ГП- β -ЦД на фоне поражения печени парацетамолом повышает сниженную при патологии активность Г-S-T даже достоверно выше интактных значений на 59%, что отмечается, как продемонстрировано в главе 4, и на фоне поражения почек хлоридом ртути (II). Индукция данного фермента, по-видимому, вносит существенный вклад в усиление ферментативной системы антиоксидантной защиты и повышает способность организма к преодолению окислительного стресса [206].

Снижение интенсивности ПОЛ, индуцированного парацетамолом, и уменьшение окислительного стресса в печени животных под влиянием флавоноидов при интоксикации высокими дозами этого препарата установлено и рядом других исследований [265, 147, 253]. Некоторые авторы считают, что первостепенное значение для поддержания про- /антиоксидантного баланса в организме при помощи активных компонентов ряда растительных препаратов имеет их прямое антиоксидантное действие, что приводит к снижению содержания АФК, выделяющихся в результате метаболизма парацетамола [143], защищает от окислительного повреждения и поддерживает активность таких антиоксидантных ферментов, как СОД и каталаза, участвующих в ликвидации АФК и органических перекисей из клеток [216]. Не исключено, что байкалин, основной компонент СЭ ШБ, при введении в организм снижает свободнорадикальное окисление путем прямого антиоксидантного действия, выступая в качестве «ловушки» свободных радикалов, образующихся при метаболизме парацетамола, и уменьшая накопление продуктов ПОЛ.

С другой стороны, немаловажное значение для преодоления окислительного стресса при парацетамоловой интоксикации имеет усиление байкалином **глутатионового звена эндогенной АОС**: поддержание необходимого **уровня GSH** (защита от истощения) и **активности Г-S-T**, которая использует GSH для связывания высокореактивного метаболита парацетамола NAPQI. Способность байкалина предотвращать истощение глутатиона восстановленного при ацетаминофен-индуцированном поражении печени у мышей продемонстрирована и в работе [212].

Таким образом, можно предполагать, что механизм гепатопротекторной, как и нефропротекторной (см. главу 4) активности байкалина заключается в его способности тормозить индуцированный различными факторами окислительный стресс путем: 1) непосредственного антиоксидантного действия; 2) индукции в организме системы АОЗ.

Эта гипотеза согласуется с работами, в которых показано, что гепатопротекторные свойства связаны как с увеличением антиоксидантной защиты, так и со снижением *in vivo* свободнорадикального окисления [143, 164, 257, 263].

Исходя из полученных нами результатов, чрезвычайно важным для защиты против окислительного стресса следует считать именно активирование эндогенной защитной системы и оптимизацию ее работы. Так, СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в большей степени, чем легалон и урокам, усиливают систему АОЗ в печени и почках, обладая при этом и более выраженной гепато-защитной и нефрозащитной активностями.

ГЛАВА 6 СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОНЕФРОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО, ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ, ЛЕГАЛОНА И УРОКАМА ПРИ СОЧЕТАННОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ЦИКЛОФОСФАНОМ

6.1 Сравнительное изучение гепатонепрозащитного действия СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, легалона и урокама при применении циклофосфана

Как следует из данных таблицы А.5 приложения А, однократное введение циклофосфана вызвало повышение в сыворотке крови активностей АлАт на 39%, АсАт на 22% (со снижением коэффициента де Ритиса на 25%), ЛДГ на 58% и ЩФ на 21%, а также повышение количества общего билирубина на 45%, в основном, за счет прямой фракции (+64%), что характерно для синдромов цитолиза и холестаза. Кроме того, у животных контрольной группы по сравнению с интактными крысами (таблица А.6, приложения А) в сыворотке крови возростала концентрация креатинина на 32% и мочевины на 41%, увеличивалась концентрации креатинина в моче на 49% и снижался такой показатель, как СКФ в 1,7 раза, что свидетельствовало о нарушении экскреторной функции почек. Интоксикация животных ЦФ сопровождалась также угнетением диуреза, свидетельствующим о снижении водовыделительной функции почек: у животных контрольной группы объем выделяемой мочи уменьшился на 27%. Основные нарушения белкового, липидного и углеводного обменов, которые наблюдались при введении ЦФ, заключались в следующем: отмечалось повышение содержания в сыворотке крови холестерина на 17%, глюкозы на 24%, ТРГ - на 60%, а в печени наблюдалось увеличение содержания ТРГ на 277% и снижение количества гликогена на 71%. Одновременно в сыворотке крови наблюдалось снижение количества общего белка (-14%) и белковых фракций (альбуминов на 19%, глобулинов на 18%).

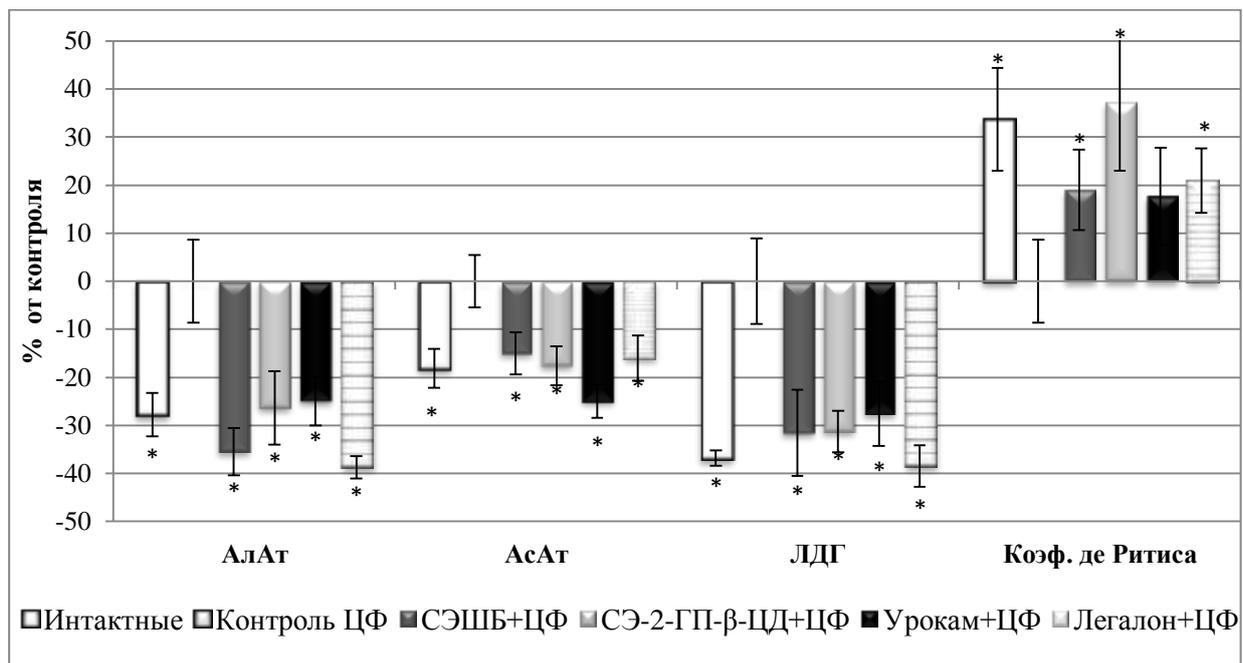
Таким образом, регистрируемые изменения *биохимических показателей* при введении циклофосфана у крыс свидетельствовали о развитии поражения **печени и почек**: наличие синдромов цитолиза и холестаза, жировой дистрофии печени, нарушения желчсекреторной, белково-синтетической и гликогензапасяющей функций печени, азотонемического и нефротического синдромов.

При исследовании *гистологической картины* этих органов после введения циклофосфана были выявлены **патологические изменения в печени и почках**. Как видно из рисунка Б.22 приложения Б, в **печени** наблюдались ярко выраженные структурные нарушения с гидropической дистрофией. Была резко изменена балочная система печеночных долек. Клетки печени находились в состоянии паренхиматозной дистрофии. Гепатоциты были увеличены в размерах, набухшие. Цитоплазма большей части гепатоцитов утратила естественную зернистость и хроматофилию. Синусоидные капилляры печеночных балок заметно расширены. В отдельных зо-

нах были видны периваскулярные диапедезные кровоизлияния. Ядра многих гепатоцитов находились в состоянии кариорексиса и кариолизиса. В 3-х (перивенулярных) зонах печеночных долек нередко встречались очаги некроза. Процент некротизированных гепатоцитов составил $4,84 \pm 0,25\%$.

На гистологической картине **почек** (рисунок Б.27 приложения Б) были обнаружены достаточно выраженные участки фокального некроза канальцевого аппарата коркового вещества. Контуры почечных клубочков утратили фестончатую структуру, были отечны и заполняли весь просвет капсулы и сливаются ней. Извитые канальцы коркового вещества в большинстве своем заполнены аморфными или зернистыми депозитами. Эпителий канальцев на большом их протяжении десквамирован. Количество канальцев в состоянии дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества составил $78 \pm 6,1\%$.

Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг после введения ЦФ, как видно из данных, представленных на рисунке 6.1.1 и в таблице А.5 приложения А, привело к снижению активностей трансаминаз и ЛДГ до уровня интактных крыс, как и использование препаратов сравнения урокама и легалона в терапевтических дозах.

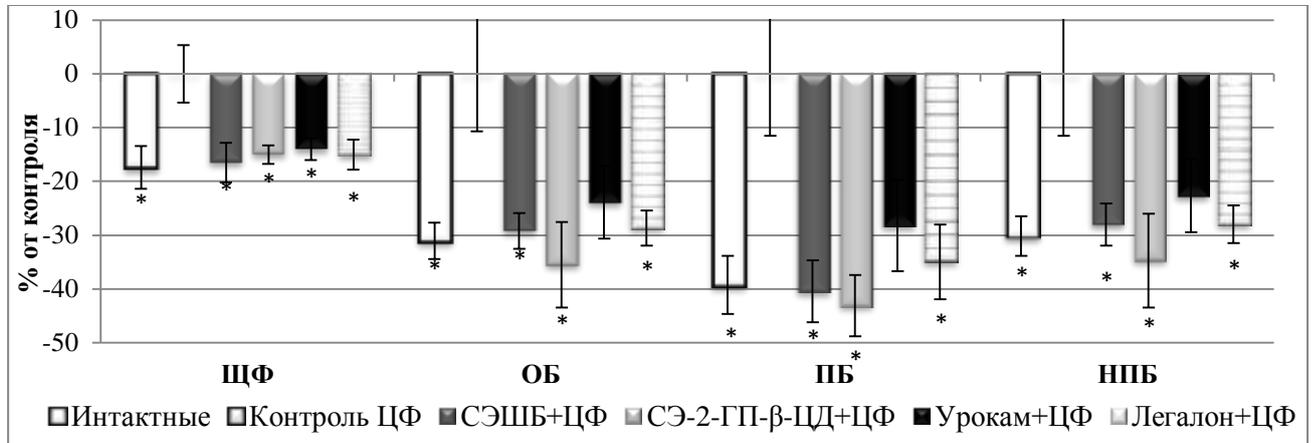


$P < 0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса)
*- достоверно по отношению к контролю.

Рисунок 6.1.1. - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на показатели цитолитического синдрома, вызванного введением циклофосфана у крыс

Активность ЩФ во всех опытных группах также полностью нормализовалась, т.к. достоверно не отличалась от значений интактных животных. Содержание общего билирубина и

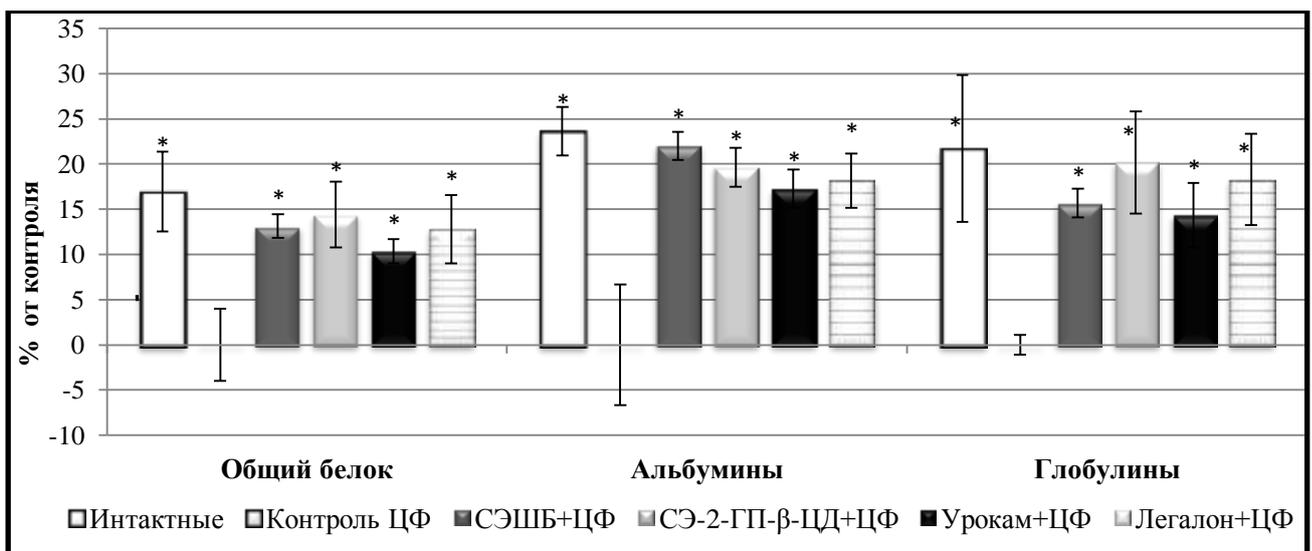
его фракций восстанавливались до уровня нормы при использовании СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и препарата сравнения легалон. Только при введении урокама значения этих показателей достоверно не отличались ни от контроля, ни от интактных животных (рисунок 6.1.2).



$P < 0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса)
*- достоверно по отношению к контролю.

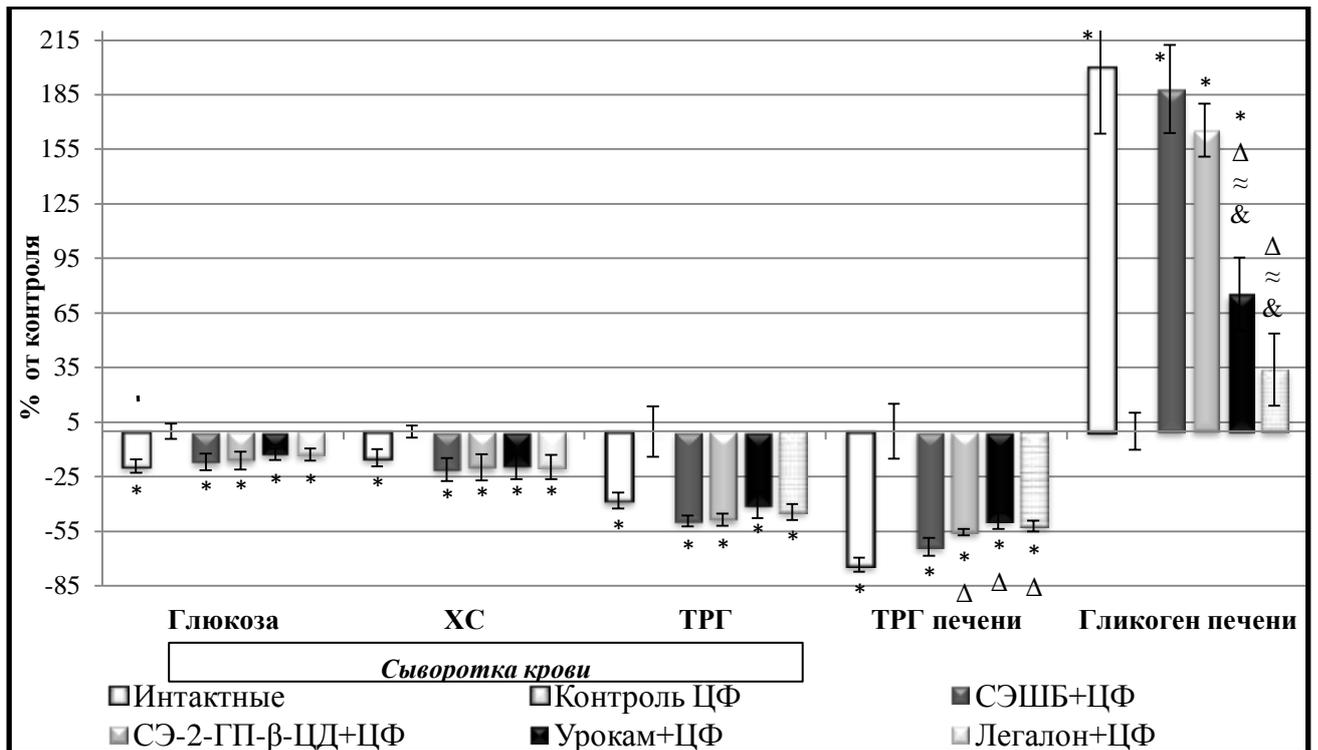
Рисунок 6.1.2 - Влияние СЭ Ш, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на показатели холестазы при введении циклофосфана у крыс

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в сравнении с урокамом и легалоном на показатели липидного, углеводного и белкового обменов представлены на рисунках 6.1.3, 6.1.4 и в таблице А.5 приложения А.



$P < 0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса)
*- достоверно по отношению к контролю;

Рисунок 6.1.3 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на показатели белкового обмена при введении циклофосфана у крыс



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

* - достоверно по отношению к контролю;

Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

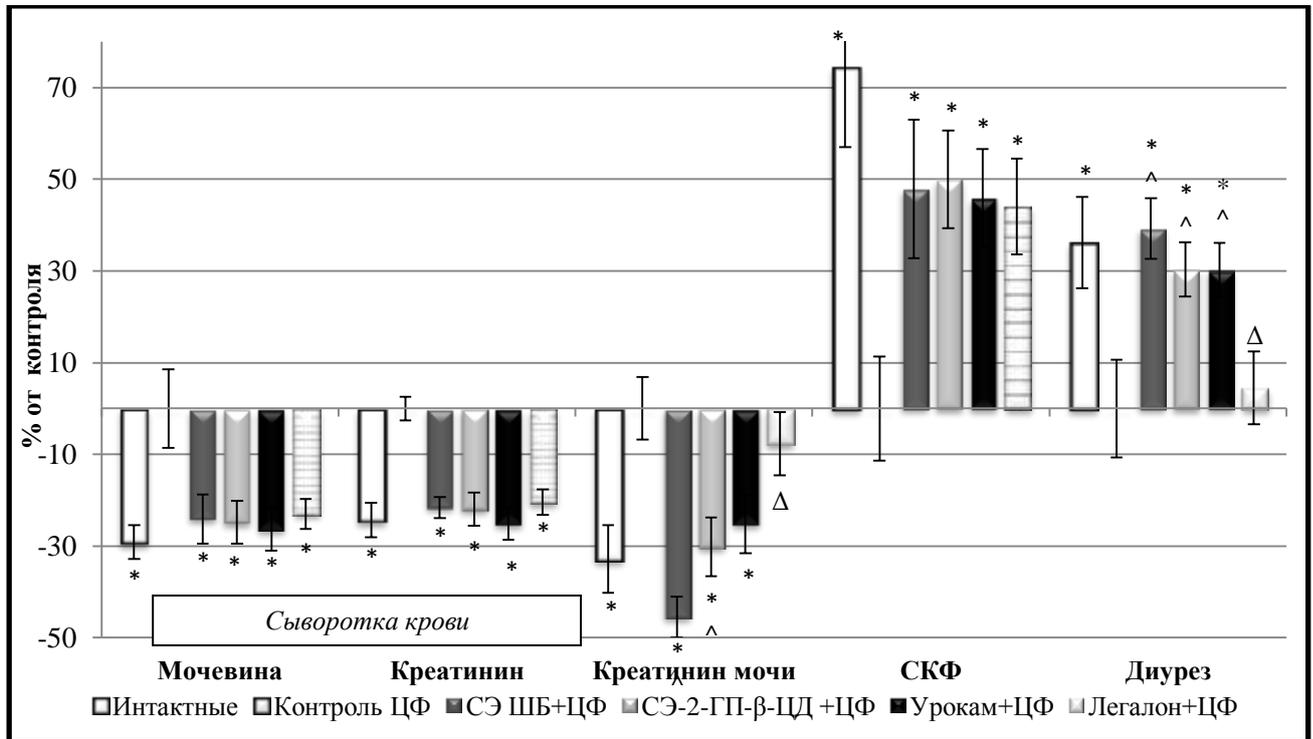
& - достоверно по отношению к животным, получавшим СЭ ШБ;

≈ - достоверно по отношению к животным, получавшим СЭ-2-ГП-β-ЦД

Рисунок 6.1.4 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на показатели липидного и углеводного обменов при введении циклофосфана у крыс

При использовании СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, легалона и урокама в сыворотке крови повышалось содержание общего белка, фракций альбуминов и глобулинов, снижалось содержание холестерина, глюкозы и ТРГ до значений интактных животных. При применении СЭ ШБ содержание ТРГ в печени снижалось на 64% и достигало уровня интактных животных. У крыс, которым вводили СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокам и легалон, содержание ТРГ в печени уменьшалось примерно в равной степени (-56%, -49%, -52% соответственно по отношению к контролю), но оставалось достоверно выше значений нормы. Содержание гликогена в печени повышалось до уровня здоровых животных при использовании и СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД - на 184%, 164% соответственно относительно патологического контроля. При введении урокама содержание гликогена увеличивалось на 72% по сравнению с контролем, но достоверно отличалось от интактного уровня на 49%, а при использовании легалона данный показатель оставался на том же уровне, что и у крыс патологического контроля (достоверные отличия отсутствовали). Введение крысам СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона оказало в равной степени выраженное

нормализующее влияние на содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови, содержание креатинина в моче, СКФ и диурез (рисунок 6.1.5, таблица А.6 приложения А).



$P < 0,05$ (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 легалон.

Рисунок 6.1.5 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на показатели функционального состояния почек при применении циклофосфана у крыс

При этом наблюдалась полная нормализация содержания мочевины, креатинина и СКФ. Содержание креатинина в моче и диурез восстанавливались до уровня нормы при использовании СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама. При введении легалона эти показатели оставались на уровне нелеченных животных, достоверно отличаясь от нормы и значений у тех животных, которые получали СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокам. Таким образом, при введении легалона достоверно в меньшей степени восстанавливался диурез и содержание креатинина в моче.

В таблице 6.1.1 представлены данные по восстановлению биохимических показателей основных патологических синдромов поражения печени с указанием средних процентов гепатопротекции по синдромам. Видно, что СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в равной степени практически полностью нормализуют все изученные показатели. Препарат сравнения урокам уступает исследуемым субстанциям по воздействию на холестаза, по устранению жировой дистрофии печени и нормализации содержания гликогена в этом органе. Препарат сравнения легалон также не

в полной мере препятствует жировому перерождению печени и восстановлению гликогенсинтезирующей функции печени.

При интегральной оценке (рисунок 6.1.6) эффективности гепатопротекторного действия СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона по среднему значению коэффициентов гепатопротекции с учетом всех биохимических показателей выявлено, что значение этого коэффициента для СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД составляет $94 \pm 5,5\%$ и $95 \pm 4,9\%$, т.е. отмечается равная степень их эффективности, которая сравнима с таковой гепатопротектора легалона ($86 \pm 7,5\%$). Более низкий коэффициент гепатопротекции имеет препарат урокам ($80 \pm 7,7\%$).

Таблица 6.1.1

Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на восстановление показателей основных патологических синдромов поражения печени при применении циклофосфана у крыс

Испытуемые вещества и препараты, доза, мг/кг	Основные патологические синдромы повреждения печени			
	Цитолиз (ЛДГ, АлАт, АсАт)	Холестаз (ЩФ, ОБ, ПБ)	Печеночно-клеточная недостаточность	
			белково-синтетическая функция (общий белок, альбумины, глобулины)	метаболическая функция (глюкоза, ТРГ печени, ТРГ сыворотки крови, гликоген, ХС)
СЭ ШБ, 300	+++	+++	+++	+++++
% гепатопротекции	$86 \pm 3,3\%$	$98 \pm 2,3\%$	$81 \pm 6,1\%$	$106 \pm 13,5\%$
СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15	+++	+++	+++	+±++++
% гепатопротекции	$89 \pm 4,3\%$	$104 \pm 8,5\%$	$87 \pm 3,1\%$	$99 \pm 14,5\%$
Урокам, 1,25мл/кг	+++	+±±	+++	+±+±+
% гепатопротекции	$97 \pm 6,6\%$	$78 \pm 3,8\%$	$64 \pm 1,8\%$	$81 \pm 17,7\%$
Легалон, 100	+++	+++	+++	+±+-+
% гепатопротекции	$98 \pm 5,5\%$	$90 \pm 2,5\%$	$79 \pm 2,8\%$	$81 \pm 19,3\%$

Примечания: «+» - полная нормализация показателя, «±» - неполная нормализация, «-» - отсутствие эффекта

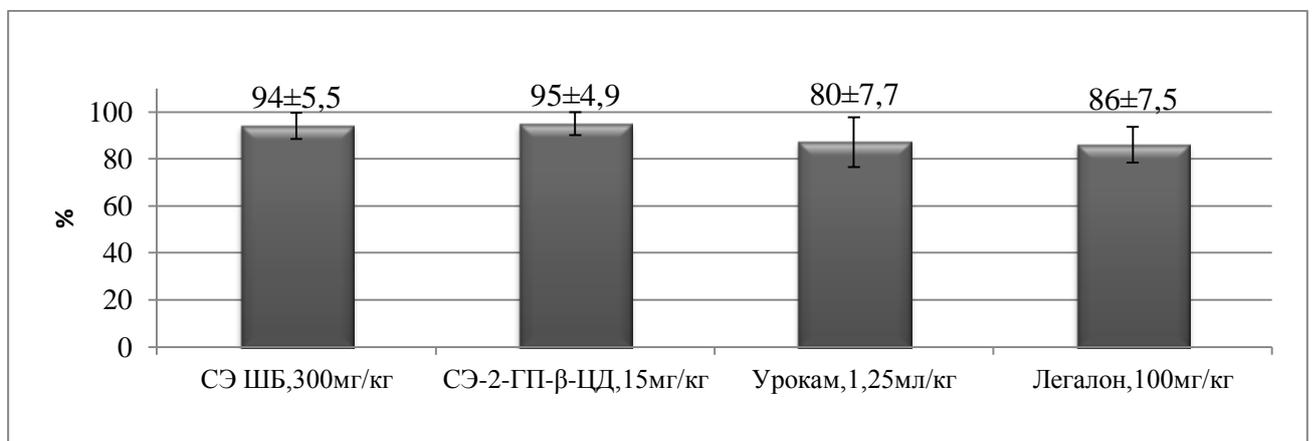


Рисунок 6.1.6 - Значения коэффициентов гепатопротекции при лечебно-профилактическом применении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на фоне введения циклофосфана у крыс

В таблице 6.1.2 представлены данные по восстановлению показателей патологических синдромов повреждения почек с указанием средних процентов нефропротекции по синдромам. Видно, что в отношении устранения азотемического, нефротического синдромов и водовыделительной функции почек СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокам проявляют равную эффективность, но превосходят легалон по ликвидации азотемического синдрома и нормализации диуреза.

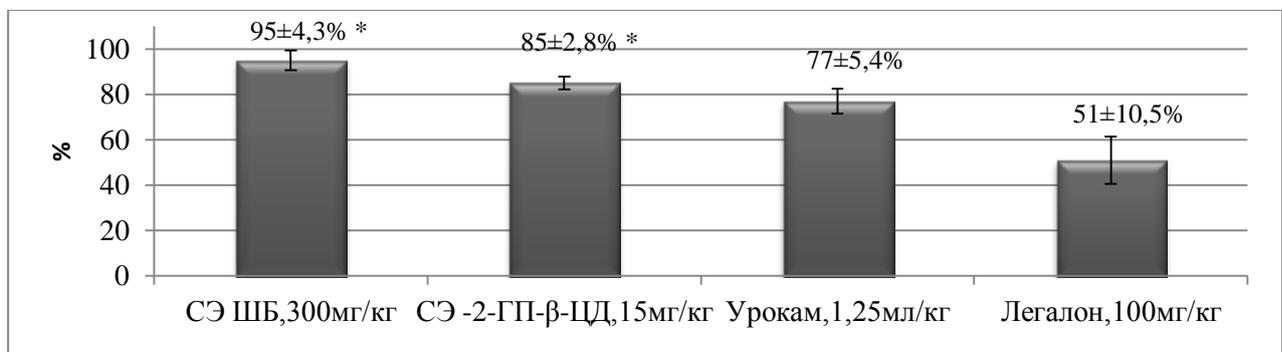
Таблица 6.1.2

Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на восстановление показателей патосиндромов поражения почек при применении циклофосфана у крыс

Испытуемые вещества и препараты, доза, мг/кг	Показатели функционального состояния почек		
	Показатели азотемического синдрома (креатинин в моче, мочевины и креатинин в сыворотке крови, СКФ)	Показатели нефротического синдрома (общий белок, альбумины, глобулины в сыворотке крови)	Диурез
СЭ ШБ, 300	++++	+++	+
% нефропротекции	94±15,8%	81±6,1%	109%
СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15	++++	+++	+
% нефропротекции	83±5,6%	87±3,1%	85%
Урокам, 1,25 мл/кг	++++	+++	+
% нефропротекции	83±8,9%	64±1,8%	85%
Легалон, 100	-+++	+++	-
% нефропротекции	62±13,6%	79±2,8%	12%

Примечания: «+» - полная нормализация показателя, «±» - неполная нормализация, «-» - отсутствие эффекта

Исходя из средних коэффициентов нефропротекции, рассчитанных с учетом всех исследованных показателей, видно, что СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД оказывают достоверно более выраженное нефрозащитное действие, чем легалон, но их эффективность действия сравнима с таковой эталонного нефропротектора урокама (рисунок 6.1.7).



* - достоверно по отношению к животным, получавшим легалон (P<0,05) парный t-тест.

Рисунок 6.1.7 - Значения коэффициента нефропротекции СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на фоне введения циклофосфана у крыс

Как в случае биохимических и функциональных показателей, на гистологической картине печени и почек животных, получавших легалон и урокам, восстановительные процессы были выражены в меньшей степени, чем у крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, причем гистологическая картина оказалась наиболее приближенной к интактным животным у крыс, которым вводили СЭ-2-ГП-β-ЦД.

В группе животных, получавших СЭ ШБ (рисунок Б.23 приложения Б), структуризация печеночных балок нарушена умеренно. Декомплексации паренхиматозных цитов печени относительно друг друга не наблюдалось. Сосуды портальных трактов умеренно полнокровны, агрегации эритроцитов, стазов крови, плазматического пропитывания стенок сосудов отсутствовали. Признаков отека интерстиция перипортальных и портальных зон не выявлено. Ядра клеток имеют правильную округлую форму, гладкую поверхность, признаки кариорексиса и кариолизиса обнаруживались в единичных клетках. Гепатоциты имели равномерную гомогенную окраску, но естественная зернистость просматривалась нечетко. Просветы сосудов триады имеют, правильной округлой формы. Процент некротизированных гепатоцитов составил $0,72 \pm 0,08\%$.

Гистологическая картина срезов почек у этой группы животных также была близка к интактным крысам (рисунок Б.28 приложения Б). Капилляры клубочков умеренно полнокровные. Просветы капсул заметно уменьшены. Синехий между висцеральным и париетальным листками капсулы только в отдельных нефронах. Пролиферации эндотелия, мезангиальных клеток не наблюдалось. Эпителий всех отделов канальцевого аппарата нефрона сохранен, просветы канальцев свободны от аморфного содержимого. Канальцев, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества, не обнаружено. Сосуды кортикального и юкстамедуллярного отделов почки умеренно полнокровные. Следует отметить активное функционирование в юкстамедуллярных отделах перитубулярных интеркапиллярных анастомозов.

В группе животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, гистологическая картина срезов **печени и почек** в наибольшей степени была приближена к интактной группе. Центральные вены **печени** равномерно расширены. Дольковое и балочное строение долек изменено незначительно. Границы между клетками четкие, цитоплазма равномерно эозинофильная. Ядра округлой формы, пузырьковидные с ядрышком. Между дольками встречаются единичные лимфоидные клетки, а также ядра отдельных звездчатых клеток, набухшие и гиперхромные. В портобиллиарной ткани вокруг желчных протоков имеется умеренная лимфоидноклеточная инфильтрация. Синусоиды слегка расширены, умеренно полнокровны. Процент некротизированных гепатоцитов – $0,60 \pm 0,07\%$ (рисунок Б.24 приложения Б).

На срезах **почек** у этой группы животных клубочки равномерной величины. Петли клубочков равномерно полнокровные. Эпителий извитых канальцев гомогенно окрашен. Эпителий

прямых канальцев крупный с розовой цитоплазмой. Ядра крупные, «визуально видные». Сосуды умеренно полнокровные. Эпителий почечных канальцев в большей части сохранен, просветы канальцев свободны от содержимого. Канальцев, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества не обнаружено (рисунок Б.29 приложения Б).

В группе животных, получавших урокам, патоморфологические изменения в **печени**, вызванные циклофосфаном, были очевидны, но менее ярко выражены, чем в контрольной группе. Балочная структура сохранена частично, наблюдается грубая извитость хода печеночных балок. Встречаются единичные периваскулярные диапедезные кровоизлияния. Цитоплазма гепатоцитов умеренно утратила сродство к красителям. Зернистость в гепатоцитах слабозаметна. Синусоиды расширены. Часть ядер гепатоцитов - набухшие со слабо выраженной базофилией. Особенно заметны указанные явления в периферической зоне печеночных долек. Процент некроза – $2,35 \pm 0,28\%$ (рисунок Б.25 приложения Б).

В группе животных, леченных урокамом, направленность патоморфологических изменений **почек** аналогична контрольной группе, однако выраженность их заметно сглажена. Это касается в первую очередь извитых канальцев коркового вещества, которые в половине объема свободны от аморфного содержимого, их эпителий частично сохранен. Вместе с тем выраженность поражения клубочков достаточно глубока. Контуров их размыты, спаяны с капсулой, просвет капсулы отсутствует вовсе. Процент канальцев почек, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества составляет $43\% \pm 4,2\%$. В отдельных участках срезов наблюдаются очаги фокального некроза канальцев коркового вещества (рисунок Б.30 приложения Б).

В группе животных, получавших гепатопротектор легалон, на срезах **печени** наблюдалось заметное нарушение структурной организации печеночных балок, утрата гепатоцитами естественной зернистости. Гепатоциты были заметно увеличены в размерах. Хроматофилия цитов в целом сохранялась. Определялись лишь фокальные участки с утратой сродства к красителям. Большая часть ядер клеток печени имели четкие контуры, однако встречались гепатоциты с ядрами в состоянии кариорексиса. Синусоидные капилляры были расширены. Пространства Диссе определялись с трудом. Процент некротизированных гепатоцитов составил $1,8 \pm 0,15\%$ (рисунок Б.26).

На гистологических срезах **почек** группы крыс, получавших легалон, большинство мальпигиевых клубочков имели нарушенную фестончатую структуру и размытые контуры, просветы капсул отсутствовали, хотя архитектура части клубочков относительно сохранена. В канальцевом аппарате коркового вещества видны участки с признаками некробиотических изменений: утрата хроматофилии, десквамация канальцевого эпителия, наличие в просветах канальцев зернистых депозитов. Процент канальцев почек, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества, составлял $51\% \pm 3,8\%$ (рисунок Б.31 приложения Б).

6.2 Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, легалона и урокама на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при сочетанном повреждении печени и почек циклофосфаном у крыс

Как видно из таблиц А.7 и А.8 приложения А, у крыс после введения циклофосфана наблюдалось значительное накопление ДК как в печени, так и в почках в 3,3 и 4 раза соответственно, а также повышалась интенсивность Fe^{2+} -аскорбатзависимого ПОЛ примерно в равной степени в 2,4 и 2,5 раза соответственно по сравнению с интактными животными. Одновременно установлено значительное ослабление ферментативного звена антиоксидантной защиты: достоверно снижались в почках активности каталазы на 33%, СОД на 55%; в печени каталаза уменьшалась на 55%, а СОД - на 49%. Выявлено также падение уровня GSH в печени и почках на 63% и 37% соответственно, а также снижение активности ГП (на 41% и 26%), Г-S-T (на 43% и 56%) и Г-6-ФДГ (на 37% и 62%). В печени в большей степени было снижено содержание GSH и активность ГП, а в почках - активность Г-S-T и Г-6-ФДГ.

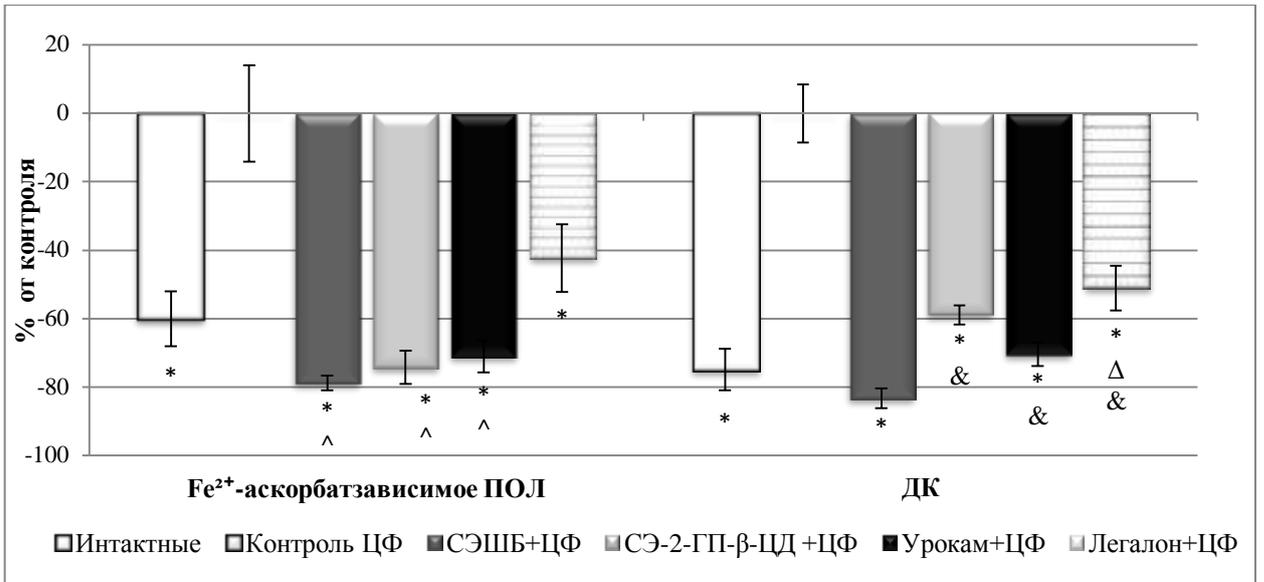
Таким образом, при поражении печени и почек ЦФ наблюдался сдвиг про-антиоксидантного равновесия в сторону усиления процессов пероксидации со значительными нарушениями в функционировании эндогенной АОС, что является свидетельством развития окислительного стресса.

Курсовое введение всех исследуемых веществ препятствовало развитию выявленных при введении ЦФ сдвигов и нарушений, вызванных окислительным стрессом, хотя и в разной степени (таблицы А.7, А.8 приложения А).

Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД привело к нормализации исследованных показателей *в почках* (рисунки 6.2.1, 6.2.2).

В почках наблюдалось достоверное снижение содержания ДК по сравнению с контрольной группой крыс на 83% и 62%, замедлялась скорость образования МДА при Fe^{2+} -аскорбатзависимом ПОЛ на 79% и 74% соответственно. Активность каталазы достоверно возрастала на 86% и 64%, а активность СОД повышалась на 93% и 171% соответственно. Под влиянием урокама также нормализовались все перечисленные показатели в почках. При введении легалона интенсивность ПОЛ в этом органе снижалась на 42% и достигала нормы, при этом уровень ДК снижался на 51%, но значения интактных животных так и не достиг, активность СОД нормализовалась (+202%), а активность каталазы достоверно не отличалась от патологического контроля.

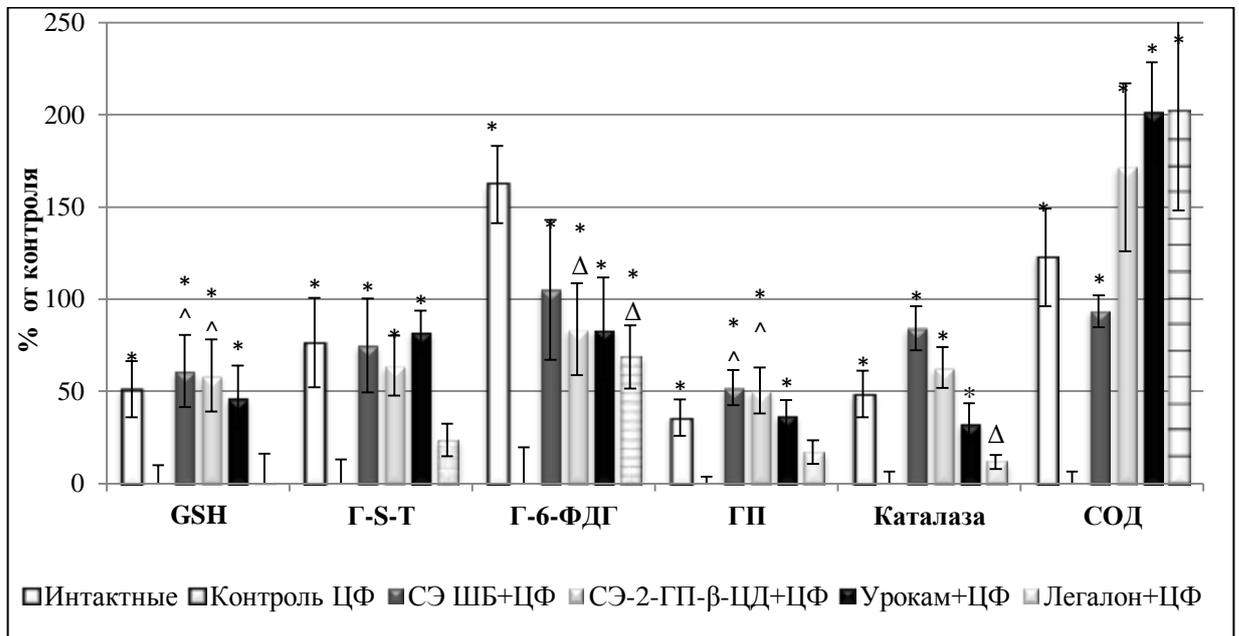
Применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД способствовало восстановлению в почках содержания GSH, а также активности ферментов, использующих его для детоксикации (ГП и Г-S-T) и способствующих его регенерации (Г-6-ФДГ). При этом наблюдалась полная нормализация ГП



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 6.2.1 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на интенсивность ПОЛ в почках крыс



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

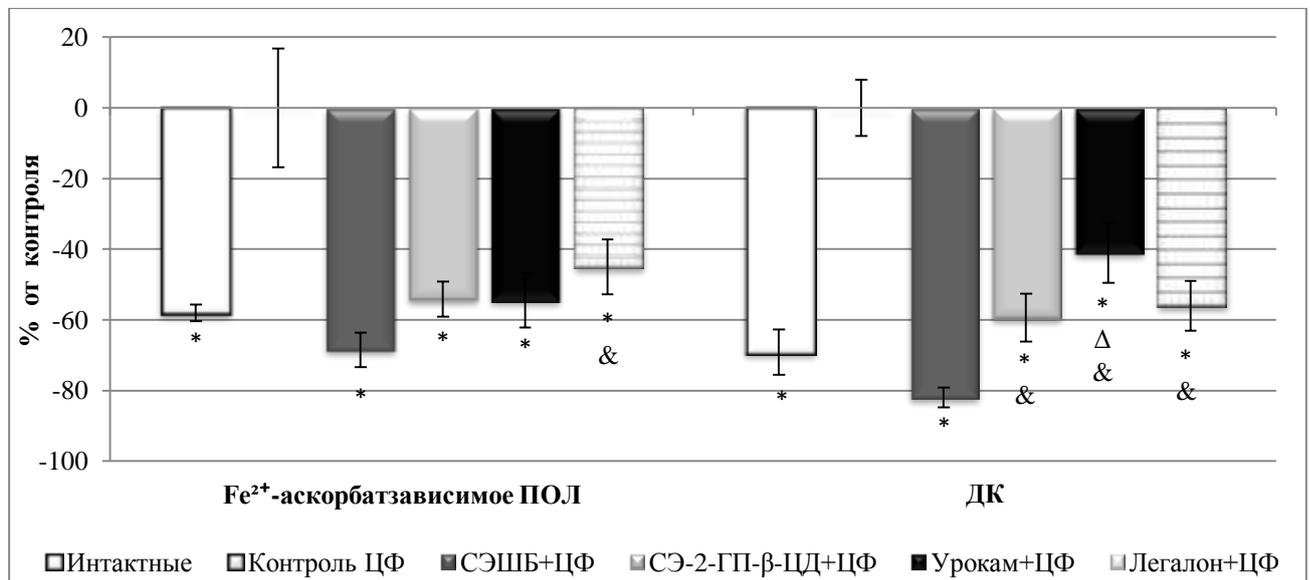
- * - достоверно по отношению к контролю;
- Δ - достоверно по отношению к интактным животным;
- ^ - достоверно по отношению к животным, получавшим легалон.

Рисунок 6.2.2 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на активность каталазы, СОД и НАДФН- GSH- зависимой антиоксидантной системы почек при введении циклофосфана у крыс

и Г-S-T в обеих группах и Г-6-ФДГ у животных, получавших СЭ ШБ, поскольку они достоверно не отличались от интактных животных.

При курсовом введении урокама также нормализовались все перечисленные показатели. При введении легалона количество GSH в почках оставалось на уровне животных патологического контроля, активности ГП и Г-S-T достоверно не отличались от контроля и здоровых животных, активность Г-6-ФДГ возрастала на 69%, но оставалась на 36% достоверно более низкой, чем у интактных животных (рисунок 6.2.2).

Изучение интенсивности ПОЛ и эффективности системы АОЗ в печени (рисунки 6.2.3, 6.2.4) позволили установить, что применение СЭ ШБ снижало уровень ДК на 82% и интенсивность накопления МДА при Fe^{2+} -аскорбатзависимом ПОЛ на 70%, а активности каталазы и СОД при этом возрастали на 53% и 70% соответственно, достоверно не отличаясь от интактных значений. Использование СЭ-2-ГП-β-ЦД также приводило к восстановлению указанных показателей ПОЛ и АОС до уровня здоровых животных. При применении нефропротектора урокама интенсивность Fe^{2+} -аскорбатзависимого ПОЛ достигала уровня интактных животных, содержание ДК снижалось на 41%, а активность каталазы возрастала на 53%, но эти показатели достоверно отличались от интактных животных, активность же СОД у этих животных достоверно не отличалась ни от нормы, ни от контроля.



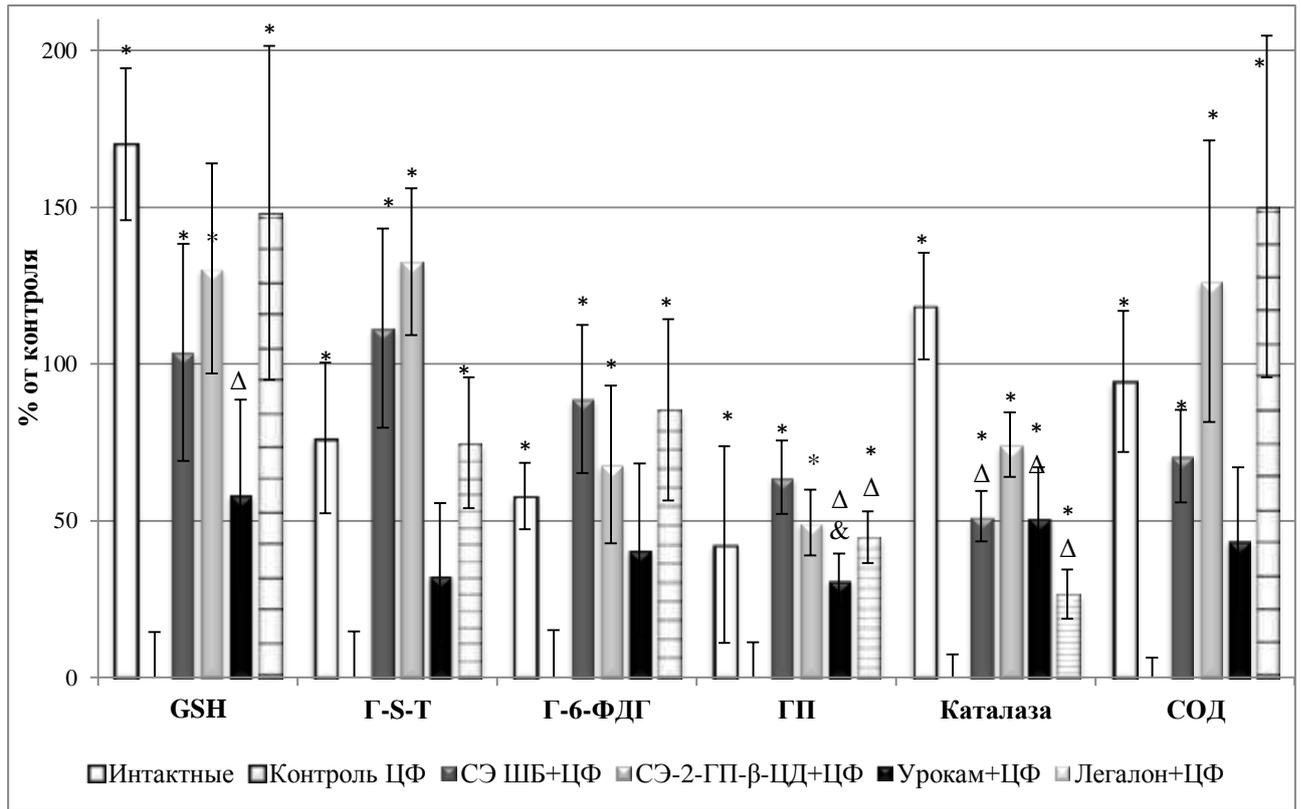
P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса)

*- достоверно по отношению к контролю;

Δ - достоверно по отношению к интактным животным;

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

Рисунок 6.2.3 -Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на интенсивность ПОЛ в печени крыс при введении циклофосфана



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 6.2.4 - Влияние СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама и легалона на активность каталазы, СОД и НАДФН-GSH-зависимой антиоксидантной системы печени при введении циклофосфана

При применении гепатопротектора легалона содержание ДК в печени снижалось в 2 раза, интенсивность Fe^{2+} -аскорбатзависимого ПОЛ - на 45%, достигая интактных значений. При этом активности ферментов СОД и каталазы достоверно повышались по отношению к контролю на 150% и 27% соответственно при полной нормализации активности СОД в печени.

Нормализация содержания GSH в печени отмечалась у животных, получавших СЭ ШБ (+104%), СЭ-2-ГП-β-ЦД (+130%) и легалон (+148%), но при введении урокама содержание GSH оставалось на уровне контроля. Кроме того, во всех опытных группах, кроме группы животных, получавших урокам, наблюдалось полное восстановление активности Г-S-T. Активность ГП восстанавливалась до уровня интактных крыс в группах, которые получали СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, при введении урокама – ее значение не отличались от контроля. Применение легалона привело к увеличению активности данного фермента, но она так и не достигла нормы. В отношении фермента, восстанавливающего НАДФ до НАДФН, необходимого для поддержания пула GSH, выявлено, что в исследуемых группах (СЭ ШБ+ЦФ, СЭ-2-ГП-β-ЦД+ЦФ, легалон +

ЦФ) наблюдалось повышение активности Г-6-ФДГ на 89%, 68%, 85% соответственно по сравнению с контролем, чем, вероятно, и можно объяснить то, что их применение препятствовало падению GSH в печени, которое наблюдалось под влиянием циклофосфана. В то же время, в группе животных, получавших урокам + ЦФ, активность этого фермента достоверно не отличалась ни от контроля, ни от нормы.

Таким образом, несмотря на то, что **в почках** под влиянием **урокама** наблюдалась полная нормализации активности Г-6-ФДГ, и происходило полное восстановление активности НАДФ-GSH-зависимой системы, **в печени** все показатели, отражающие ее активность, у тех животных, которые получали данный препарат, находились на уровне контроля. Напротив, в отношении легалона выявлено более эффективное восстановление работы данной системы в печени, чем в почках. У животных, которые получали **легалон**, **в печени** наблюдалась нормализация активности антиоксидантных ферментов Г-S-T и Г-6-ФДГ, а также содержания GSH. Активность ГП достоверно повышалась по сравнению с контролем на 45%, хотя и оставалась достоверно более низкой, чем у интактных крыс на 15%. **В почках же** под влиянием легалона достоверно по сравнению с контролем повышалась только активность Г-6-ФДГ (на 69%), остальные исследованные показатели достоверно не отличались от контроля.

В отличие от урокама и легалона, **под влиянием СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД** изученные нами показатели НАДФ - GSH-зависимой системы АОЗ полностью восстанавливались **как в печени, так и почках (т.е. в обоих органах)**.

Для интегральной оценки восстановления равновесия в системе про-антиоксиданты, нарушенного введением ЦФ, был рассчитан коэффициент окислительного стресса (как отношение произведения показателей ПОЛ к произведению показателей АОС, выраженных в относительных единицах к норме) (таблица 6.2.1) Выявлен его значительный рост при патологии печени (до 455) и почек (до 319), вызванной введением ЦФ. **В печени** этот коэффициент был наиболее приближен к 1 (характерно для нормы) при применении СЭ ШБ (0,7) и 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.

В почках, как видно из таблицы 6.2.2 наиболее эффективно восстановление баланса в системе ПОЛ/АОС выявлено при применении СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама, когда коэффициент окислительного стресса практически равен 1. У животных, получавших легалон, этот коэффициент был выше в 10 раз.

Таблица 6.2.1

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	K _{про/анти-оксиданты}
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

Таблица 6.2.2

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	K _{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, 15 мг/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

Таким образом, проведенные исследования показали, что при введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД эффективное восстановление баланса в системе про-антиоксиданты наблюдается как в печени, так и в почках. В то же время урокам восстанавливает про-антиоксидантное равновесие в большей степени в почках, чем в печени, а легалон – напротив – в большей степени в печени, чем в почках.

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. Принято считать, что чем ближе значение коэффициента корреляции по модулю к 1, тем теснее связь между анализируемыми переменными. Рассчитанные коэффициенты оказались равными -0,97 для печени и -0,96 для почек.

Таким образом, выявлена тесная обратная корреляция между % гепато-, нефропротекции и коэффициентами окислительного стресса (рисунок 6.2.5).

В связи с этим, можно заключить, что выраженность гепато- и нефрозащитного действия в значительной мере обусловлена восстановлением про-антиоксидантного равновесия. Чем выше степень восстановления баланса в системе ПОЛ/АОЗ, тем в большей степени проявляется защитное действие.



Рисунок 6.2.5 - Кривые зависимости между процентами гепато-, нефропротекции и коэффициентами окислительного стресса

6.3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных нами исследований установлено, что циклофосфан обладает гепато-и нефротоксическим действием и вызывает **одновременное поражение печени и почек** с нарушением про-антиоксидантного равновесия и развитием окислительного стресса в этих органах: повышается содержание ДК (на 225% и 296%) и интенсивность Fe^{2+} -аскорбатзависимого ПОЛ (на 138% и 150%) при одновременном снижении содержания GSH (на 63% и 34%) и падении активностей 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%), вследствие чего значительно увеличивается коэффициент окислительного стресса до 455 ед.в печени и 319 ед. в почках.

Цитотоксическое действие циклофосфана рядом исследователей [49, 223, 262] объясняется его метаболической активацией в результате гидроксилирования системой микросомальных монооксигеназ с образованием более токсичных продуктов. Затем метаболиты под воздействием Г-S-T подвергаются конъюгации с GSH, что приводит к его истощению с последующей активацией свободнорадикального окисления и ПОЛ. Более высокая интенсивность микросомального окисления, наблюдающаяся в печени, и приводит к более выраженному снижению

GSH, который расходуется на процессы конъюгации с циклофосфаном и его метаболитами в большей степени в печени, чем в почках, что и установлено в наших исследованиях, а также согласуется с данными других авторов [36, 105].

Развитие синдромов цитолиза (повышение АЛат на 39%), холестаза (повышение ЩФ и ОБ на 21%; и на 45%), с накоплением ТРГ в печени (повышение на 277%) после введения циклофосфана свидетельствует *о поражении печени*, а азотонемического (повышение креатинина в крови на 32%, в моче на 49%, мочевины – на 41%, снижение СКФ на 43%), нефротического синдромов (снижение содержания белка на 14%, альбуминов на 19%, глобулинов на 18%) и снижение диуреза (на 27%) - *о поражении почек*, что подтверждается наличием на гистологических срезах печени и почек значительных дистрофических и структурных изменений.

В работе [262] также установлено, что после введения ЦФ в печени и почках крыс регистрировалось повышение ПОЛ, снижение содержания GSH и витамина С, активности каталазы, а также наличие микро- и макроскопических повреждений органов.

Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозах 300 мг/кг и 15 мг/кг при введении циклофосфана у крыс оказывает выраженное гепатозащитное действие. Коэффициенты гепатопротекции, рассчитанные для СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, легалона и урокама с учетом восстановления всех изученных показателей основных патосиндромов, составляющие $94 \pm 5,5\%$, $95 \pm 4,9\%$, $86 \pm 7,5\%$ и $80 \pm 7,7\%$ соответственно, достоверно не отличаются между собой. Но урокам в меньшей степени, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД способствует восстановлению содержания общего билирубина и его фракций в сыворотке крови. Кроме того, у животных, получавших урокам, в меньшей степени, чем в остальных экспериментальных группах, снижается количество ТРГ в печени, а также на достаточно низком уровне сохраняется содержание 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 при введении циклофосфана у крыс оказывает нефрозащитное действие сравнимое с эталонным нефропротектором урокамом по коэффициентам нефропротекции: $95 \pm 4,3\%$, $85 \pm 2,8\%$ и $77 \pm 5,4\%$ соответственно, но более эффективное, чем при использовании легалона ($51 \pm 10,5\%$), что подтверждается гистоморфологической картиной. Легалон в меньшей степени, чем СЭ ШБ, СЭ-2-

ГП-β-ЦД и урокам препятствует развитию азотемического синдрома и нормализует диурез. Гистологическая картина почек наиболее приближена к интактной группе у крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Нужно отметить, что в доступной нам литературе не найдено сведений о применении шлемника байкальского для снижения токсического действия циклофосфана, хотя имеются данные о защитных эффектах при интоксикациях ЦФ других растительных препаратов, содержащих флавоноиды и другие биологически активные вещества, обладающие антиоксидантной активностью, например, водных экстрактов шалфея, кассии остролистной, индийского крыжовника [68]. Но в работе [160] продемонстрировано нефрозащитное действие байкалеина при повреждающем действии другого цитостатика - цисплатина. При этом введение байкалеина снижало окислительный стресс, апоптоз и воспаление, а также нормализовало функции почек.

В наших исследованиях также установлено, что применение СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД, урокама, легалона на фоне введения циклофосфана снижает интенсивность ПОЛ и усиливает ферментативное звено АОЗ, способствуя восстановлению про-антиоксидантного равновесия.. Установлена тесная обратная корреляция между коэффициентом окислительного стресса и процентами гепато- и нефропротекции, что свидетельствует о важности восстановления про-антиоксидантного равновесия в механизмах гепато- и нефропротекторного действия байкалина.

Урокам, обладая нефрозащитной активностью, оказывает и гепатозащитное действие, хотя и менее выраженное, практически *не влияя при этом* на восстановление системы АОЗ в печени и *полностью восстанавливая* эту систему в почках. В связи с чем, можно заключить, что нефрозащитное действие урокама обусловлено его воздействием на основные звенья патогенеза поражения почек (т.е. патогенетически обоснованно), тогда как защита печени урокамом является скорее *опосредованной* через обеспечение защиты почек, поскольку эти органы тесно связаны между собой и морфологически и функционально.

Напротив, *легалон*, обладая гепатозащитной активностью, оказывает и нефрозащитное действие, также менее выраженное, *практически не влияя* на восстановление системы АОЗ в почках и практически *полностью восстанавливая* данную систему в печени, в связи с чем, его применение именно как гепатопротектора является патогенетически обоснованным, а нефрозащитное действие – опосредованным. 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** через влияние на патогенетические звенья поражения этих органов, что позволяет рассматривать байкалин, как вещество *гепатонезрозащитного действия, имеющее два органа-мишени*.

Выявленная **гепатонезрозащитная активность** байкалина, входящего в состав СЭ ШБ, делает перспективным создание препаратов на его основе для предупреждения побочных эффектов цитостатиков, обладающих очень часто и нефро- и гепатотоксичностью, как это продемонстрировано в наших исследованиях для циклофосфана. В литературе имеются сведения, что шлемник байкальский у мышей и крыс с перевиваемыми опухолями ингибирует развитие злокачественных новообразований и не способен стимулировать их рост и метастазирование [145, 158, 159], а в [135] установлено, что совместное введение экстракта из ШБ и ЦФ животным с опухолью значительно усиливает противоопухолевое действие цитостатика, снижая при этом его гематотоксическое действие.

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

7.1 Изучение антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия байкалина в модельных системах *in vitro*

Исходя из результатов, полученных в опытах на животных с токсическими поражениями печени и почек (при действии парацетамола, хлорида ртути (II) и циклофосфана), СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД при пероральном и внутрибрюшинном введениях препятствовали развитию окислительного стресса при данных патологиях, снижая интенсивность ПОЛ и поддерживая функционирование эндогенной системы АОЗ, а также проявляя при этом выраженное гепато-и нефрозащитное действие.

Вещества, которые способны подавлять развитие окислительного стресса и восстанавливать нарушенное равновесие, могут прямо или косвенно влиять на показатели системы про-антиоксиданты и, как следствие, устранять или провоцировать его проявления. Одним из ключевых биологических свойств флавоноидов, к которым относится байкалин, составляющий 95% СЭ ШБ, является их *прямое* антиоксидантное действие, т.е. снижение интенсивности свободно-радикального процесса ПОЛ на различных этапах. При этом известно, что в зависимости от химической структуры и концентрации флавоноиды могут оказывать как анти-, так и прооксидантный эффект [144].

Антиоксидантную активность байкалина, как основного действующего вещества СЭ ШБ, изучали *in vitro* на модели Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ в липосомальной системе в сравнении с кверцетином. В данной системе, как известно [21], преимущественно действуют ингибиторы липидных радикалов и вещества, способные влиять на концентрацию железа.

В качестве критерия АОА использовали значение коэффициента IC_{50} , который показывает концентрацию вещества в среде инкубации, вызывающую снижение интенсивности Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ на 50%.

В таблице 7.1.1 представлены данные о влиянии байкалина и кверцетина на накопление МДА в среде инкубации (в процентах к контролю) в указанных конечных концентрациях.

Как видно из представленных данных, при минимальной исследуемой концентрации $3,125 \times 10^{-6}$ М байкалин снижал накопление перекисных продуктов на 23%, а кверцетин в концентрации 1×10^{-6} М - на 21%. Концентрация, при которой интенсивность ПОЛ была почти полностью снижена, для байкалина и кверцетина составила 10^{-4} М (88% и 94% соответственно). При дальнейшем повышении концентрации кверцетина до 5×10^{-4} М достоверного увеличения процента снижения накопления МДА, т.е. снижения интенсивности ПОЛ, не наблюдалось.

Таблица 7.1.1

Влияние байкалина и кверцетина на интенсивность Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ

Конечная концентрация байкалина в инкубационной среде, мкг/мл	Конечная концентрация байкалина в инкубационной среде, мкмоль/л	Байкалин, % снижения ПОЛ, n=3	Конечная концентрация кверцетина в инкубационной среде, мкмоль/л	Кверцетин, % снижения ПОЛ, n=3
44,6	100	88,0±3,94	500	98,7±0,87
22,3	50	83,2±4,18	100	94,4±1,51
11,2	25	68,7±2,82	50	70,4±2,61
5,6	12,5	46,3±2,05	10	43,9±3,68
2,8	6,25	33,6±2,26	5	20,9±2,48
1,4	3,125	23,0±0,84	1	10,2±1,26

Для сравнения эффективности АОА байкалина и кверцетина были построены графики зависимости процента снижения интенсивности ПОЛ от концентрации испытуемых соединений в среде инкубации, представленные на рисунках 7.1.1 и 7.1.2. По уравнениям аппроксимирующих кривых были рассчитаны коэффициенты IC_{50} . Для байкалина этот показатель составил $21,7 \times 10^{-6}$ М, а для кверцетина – $35,8 \times 10^{-6}$ М.

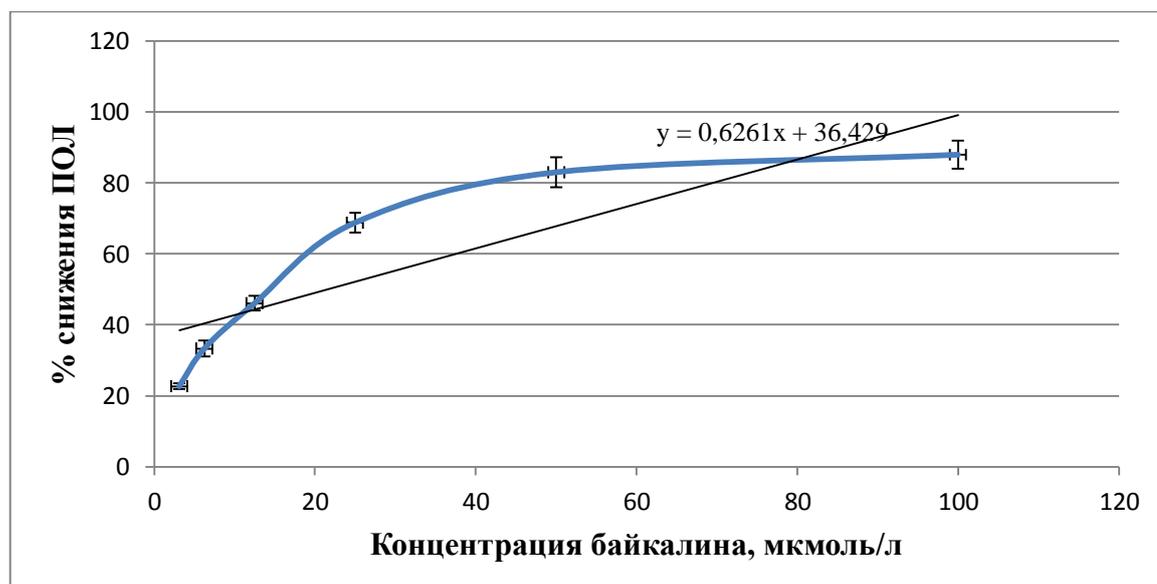


Рисунок 7.1.1 – Зависимость процента снижения интенсивности Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ от концентрации байкалина в инкубационной среде

Таким образом, исходя из рассчитанного коэффициента IC_{50} , можно сделать вывод, что антиоксидантная активность байкалина сравнима с таковой кверцетина, что подтверждает и отсутствие достоверной разницы между процентами торможения ПОЛ при равных конечных концентрациях байкалина и кверцетина в среде инкубации. Поскольку в используемой нами модельной системе присутствуют ионы Fe^{2+} , а усиление ПОЛ связано с генерацией **липидных радикалов**, можно сказать, что антиокислительная активность исследованных флавоноидов

реализуется либо путем хелатирования ионов Fe^{2+} , либо путем улавливания липидных радикалов, либо и тем и другим способом.

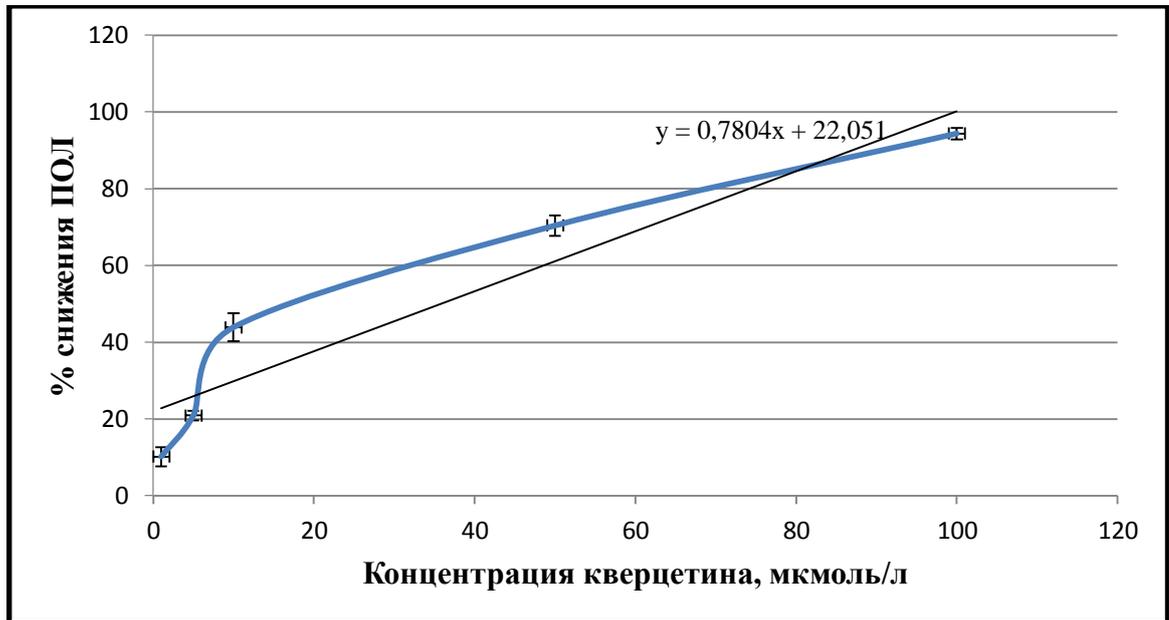


Рисунок 7.1.2 – Зависимость процента снижения интенсивности Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ от концентрации кверцетина в инкубационной среде

Известно, что усиление процессов пероксидации липидов является одним из патогенетических механизмов повреждения **мембран** и липопротеиновых комплексов, составляющих основу субмикроскопической организации клеток. В работах [22,23,192] показано высокое повреждающее действие свободных радикалов, а также вторичных продуктов ПОЛ на мембраны клеток. Следствием такого повреждения является ингибирование активности мембраносвязанных ферментов, расстройство регуляции процессов тканевого дыхания и пластического обмена, повышение проницаемости для протонов и воды, появлением «пор» в структуре, что в итоге приводит к цитолизу и гибели клетки.

Снижение устойчивости мембран **эритроцитов** косвенно отражает наличие деструктивного процесса в мембранах других клетках. В связи с этим, нами было изучено мембраностабилизирующее действие байкалина в сравнении с кверцетином и α -токоферолом на мембранах эритроцитов *in vitro* при инициации ПОЛ эргокальциферолом. Для оценки мембраностабилизирующего действия рассчитывали значение коэффициента IC_{50} , который показывает концентрацию вещества в среде инкубации, вызывающую торможение **гемолиза эритроцитов** на 50%.

Выявлено, что байкалин и α -токоферол в минимальных концентрациях ($1,19 \times 10^{-5}$ М, $2,88 \times 10^{-5}$ М и соответственно) уменьшали гемолиз эритроцитов в равной степени на 13%, а

кверцетин в концентрации $2,063 \times 10^{-5}$ М - на 7%. Торможение гемолиза в максимальной изученных концентрациях для байкалина ($9,5 \times 10^{-5}$ М) составило 65%, для кверцетина ($16,5 \times 10^{-5}$ М) – 80%, а для α -токоферола (23×10^{-5} М) – 98% (таблица 7.1.2).

Таблица 7.1.2

Влияние байкалина, кверцетина и α -токоферола на пероксидный гемолиз, вызванный эргокальциферолом

Конечная концентрация байкалина, мкг/мл	Конечная концентрация байкалина	% торможения, n=3	Конечная концентрация кверцетина	% торможения, n=3	Конечная концентрация α -токоферола	% торможения, n=3
50	$9,5 \times 10^{-5}$ М	$65 \pm 2,3$	$16,5 \times 10^{-5}$ М	$80 \pm 3,5$	23×10^{-5} М	$98 \pm 1,2$
25	$4,75 \times 10^{-5}$ М	$41 \pm 1,9$	$8,25 \times 10^{-5}$ М	$57 \pm 1,7$	$11,5 \times 10^{-5}$ М	$44 \pm 3,2$
12,5	$2,38 \times 10^{-5}$ М	$25 \pm 2,2$	$4,125 \times 10^{-5}$ М	$15 \pm 2,3$	$5,75 \times 10^{-5}$ М	$26 \pm 3,3$
6,25	$1,19 \times 10^{-5}$ М	$13 \pm 2,1$	$2,063 \times 10^{-5}$ М	$7 \pm 1,7$	$2,88 \times 10^{-5}$ М	$13 \pm 1,5$

Примечание - n – количество проб для каждой концентрации

Для расчета коэффициентов IC_{50} были построены графики зависимости процента торможения гемолиза от концентрации исследуемых соединений в среде инкубации, представленные на рисунках 7.1.3, 7.1.4, 7.1.5, которые составили для байкалина $6,8 \times 10^{-5}$ М, для кверцетина – $9,7 \times 10^{-5}$ М, а для α -токоферола - $11,9 \times 10^{-5}$ М.

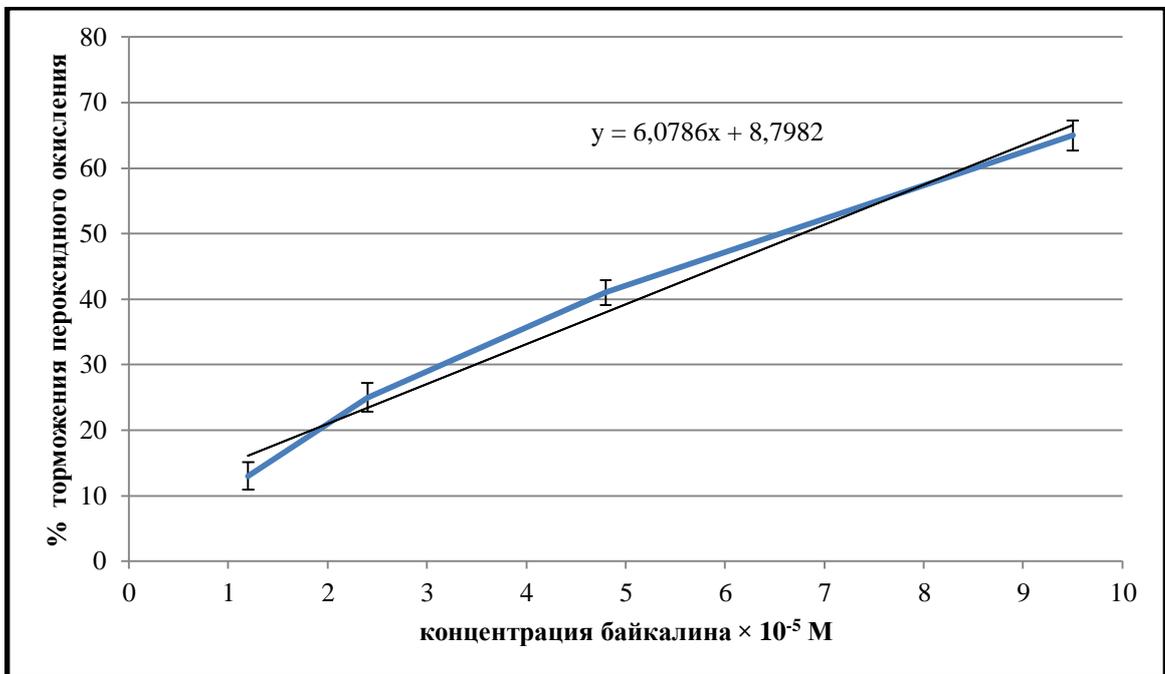


Рисунок 7.1.3 – Зависимость процента торможения пероксидного гемолиза от концентрации байкалина в инкубационной среде

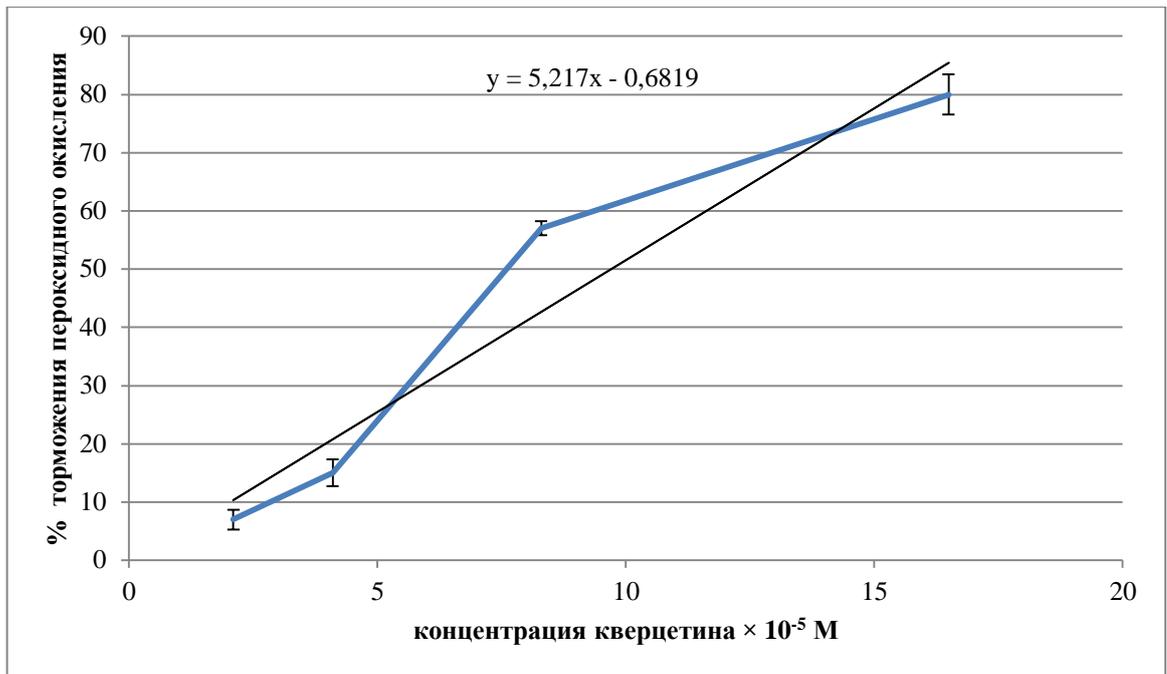


Рисунок 7.1.4 – Зависимость процента торможения пероксидного гемолиза от концентрации кверцетина в инкубационной среде

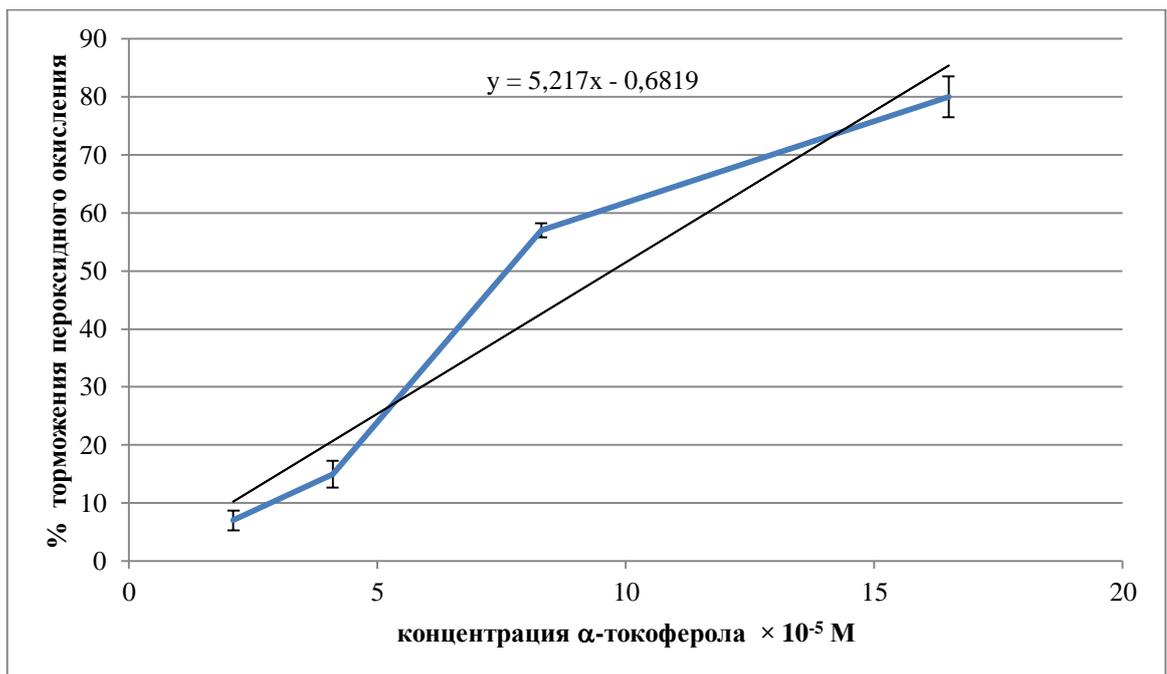


Рисунок 7.1.5 – Зависимость процента торможения пероксидного гемолиза от концентрации α-токоферола в инкубационной среде

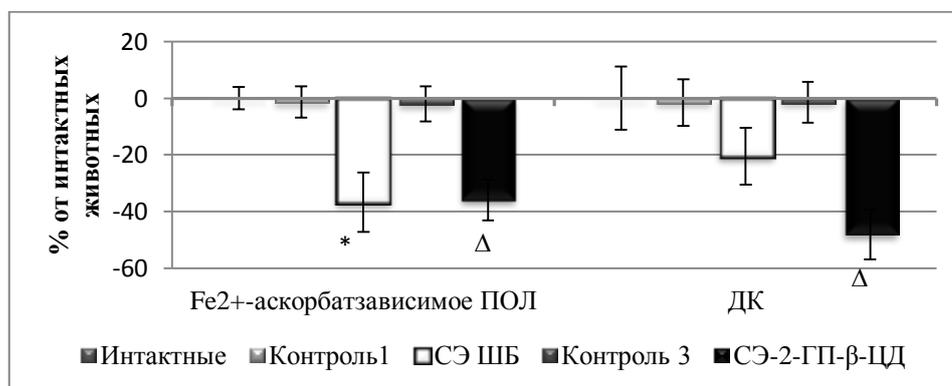
Таким образом, исходя из полученных значений коэффициентов IC_{50} , можно сделать вывод, что байкалин обладает мембраностабилизирующим действием, эффективность которого сравнима с флавоноидом кверцетином и витамином Е.

7.2 Изучение 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

Для понимания того, каким образом байкалин в условиях организма, т.е. *in vivo*, препятствует развитию окислительного стресса, изучения его антиоксидантной активности *in vitro*, а также исследований, проведенных в условиях патологии, представляется недостаточным. Тем более что воздействие веществ на свободнорадикальные процессы при патологии, когда имеют место структурно-функциональные повреждения и нарушения метаболизма, может существенно отличаться от нормы.

В связи с этим, проведено изучение влияния СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на системы ПОЛ/АОЗ при курсовом введении *здоровым животным* в терапевтических дозах в сравнении с хорошо изученным антиоксидантом – флавоноидом кверцетином, который также вводили в терапевтической дозе – 85 мг/кг (см. подраздел 2.3.8). В качестве контролей служили животные, которым вместо СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД вводили перорально (контроль1) или внутривентриально (контроль 2) эквивалентное количество воды (здоровый контроль), контрольной группе 3 (контроль3) вводили внутривентриально только 2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг. Значения показателей у этих животных достоверно не отличались от таковых у интактных крыс (см. таблицы А.2, А.4, А.7, А.8 приложения А), поэтому их значения расценивались, как соответствующие норме.

Было установлено, что в почках крыс, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, интенсивность Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ в ПЯФ была достоверно ниже, чем у контрольных крыс на 36% и 35% соответственно. Содержание же ДК в гомогенатах почек было достоверно снижено только у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД на 48% по сравнению с соответствующим контролем (рисунок 7.2.1, таблица А.12 приложения А).



* - достоверно по отношению к контролю1 ($P < 0,05$) тест Манна-Уитни, парный t-тест
^Δ - достоверно по отношению к контролю 3 ($P < 0,05$) тест Манна-Уитни, парный t-тест

Рисунок 7.2.1 - Влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на интенсивность ПОЛ в почках крыс

Курсовое введение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД не привело к изменению в почках активности ферментов АОС и содержания GSH, их значения достоверно не отличались от соответствующих контролей (таблица А.13 приложения А) и нормы (рисунок 7.2.2). Следует подчеркнуть, что активации ферментов Г-S-T и Г-6-ФДГ у здоровых животных под влиянием СЭ ШБ не наблюдалось, как при пероральном, так и внутривентральном введениях.

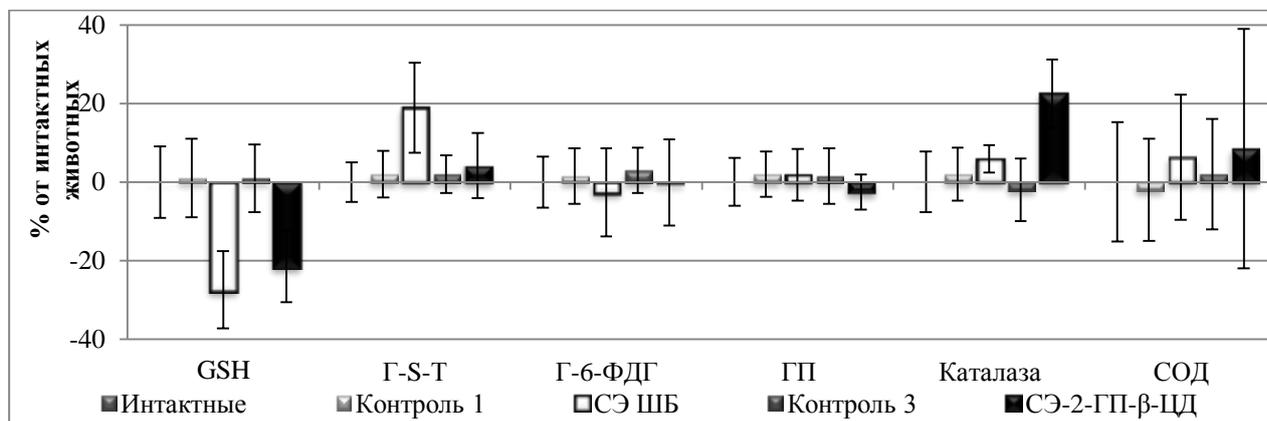
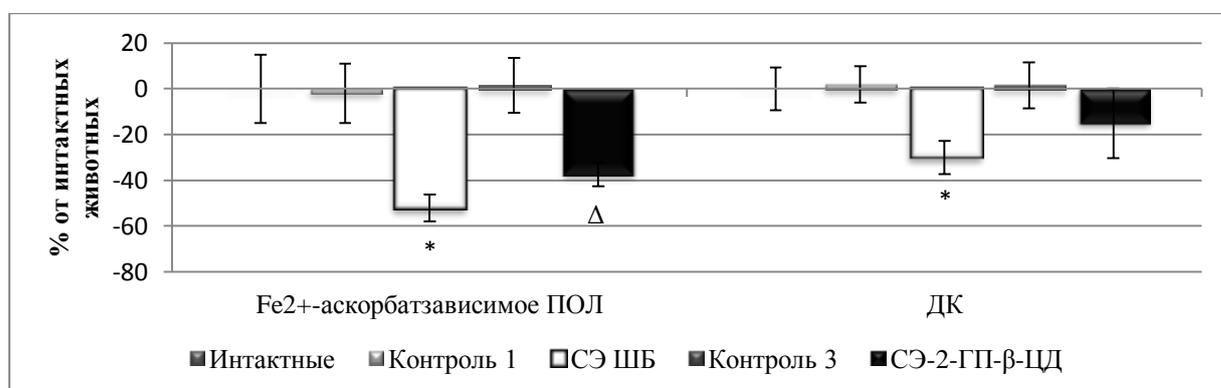


Рисунок 7.2.2- Влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на АОС почек крыс

При изучении влияния СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на интенсивность ПОЛ и антиоксидантную систему **печени** при курсовом введении здоровым животным установлено достоверное снижение интенсивности Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ в ПЯФ по сравнению с соответствующими контрольными группами на 52% и 37% соответственно. Содержание ДК в гомогенатах печени у животных, получавших СЭ ШБ, было снижено на 30%, а у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, уровень ДК достоверно не отличался от соответствующего контроля (рисунок 7.2.3, таблица А.11 приложения А).

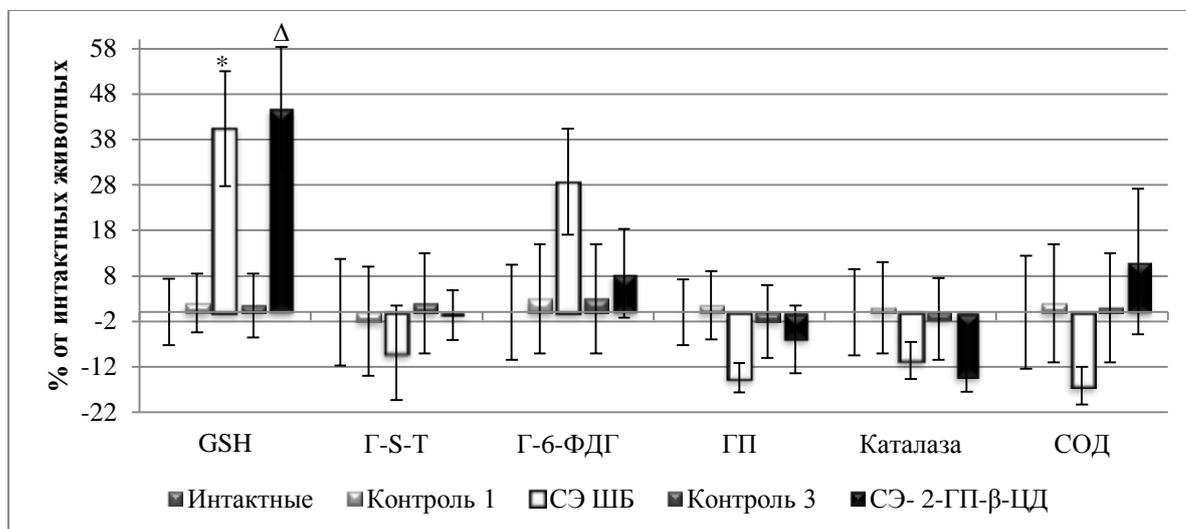


* - достоверно по отношению к контролю 1 ($P < 0,05$) тест Манна-Уитни, парный t-тест

Δ - достоверно по отношению к контролю 3 ($P < 0,05$) тест Манна-Уитни, парный t-тест

Рисунок 7.2.3 - Влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на интенсивность ПОЛ в печени крыс

В результате курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД достоверно повысилось в печени содержание **восстановленного глутатиона** на 40% и 51% соответственно в сравнении с контрольными группами (рисунок 7.2.4, таблица А.11 приложения А).



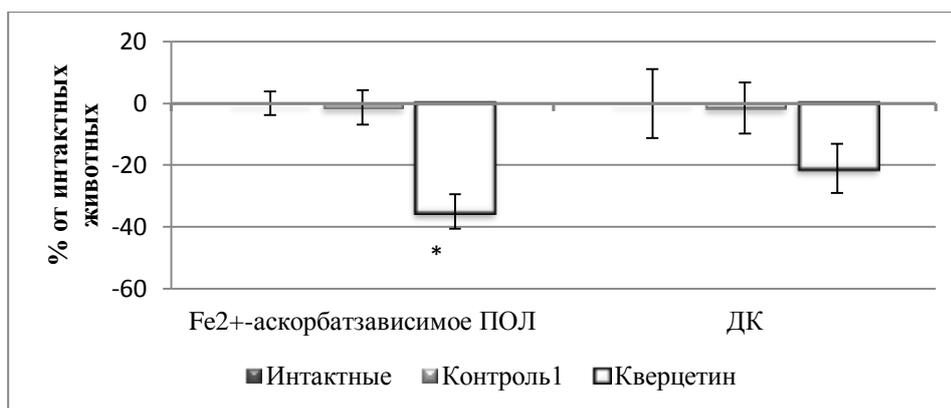
*- достоверно по отношению к контролю 1 ($P < 0,05$) парный t-тест

^Δ - достоверно по отношению к контролю 3 ($P < 0,05$) тест Манна-Уитни, парный t-тест

Рисунок 7.2.4 - Влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на АОС печени крыс

Активность ферментов АОС, таких как Г-S-T, Г-6-ФДГ, каталаза, ГП и СОД, под влиянием курсового введения исследуемых субстанций не изменилась по сравнению с интактными животными (достоверно значимых различий при этом по сравнению с нормой не выявлено) и по сравнению с соответствующими контрольными группами (рисунок 7.2.4, таблица А.11 приложения А). Нужно отметить, что внутрибрюшинное введение только 2-ГП-β-ЦД (контроль 3 в данной экспериментальной серии) не оказало влияния на систему ПОЛ/АОЗ как в печени (таблица А.11 приложения А), так и в почках (таблица А.12 приложения А).

Как видно из данных, представленных на рисунках 7.2.5-7.2.8 и в таблицах А.11 и А.12 приложения А, выявленные изменения в системе ПОЛ/АОС печени и почек при курсовом введении кверцетина носили такую же направленность, что и при введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД: в почках выявлено снижение Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ в ПЯФ на 35% без изменения содержания ДК (рисунок 7.2.5), а в печени наблюдалось как достоверное снижение Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ в ПЯФ на 50%, так и содержания ДК на 35% (рисунок 7.2.7). В отношении изменения показателей АОС у животных, которым вводили кверцетин, как и у животных, которые получали СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, выявлено достоверное повышение содержания GSH в печени на 27% (рисунок 7.2.8), тогда как остальные изученные показатели достоверно не отличались от соответствующего контроля 1 и нормы (интактные животные).



* - достоверно по отношению к контролю 1 ($P < 0,05$) тест Манна-Уитни, парный t-тест

Рисунок 7.2.5 - Влияние курсового введения кверцетина в терапевтической дозе на интенсивность ПОЛ в почках крыс

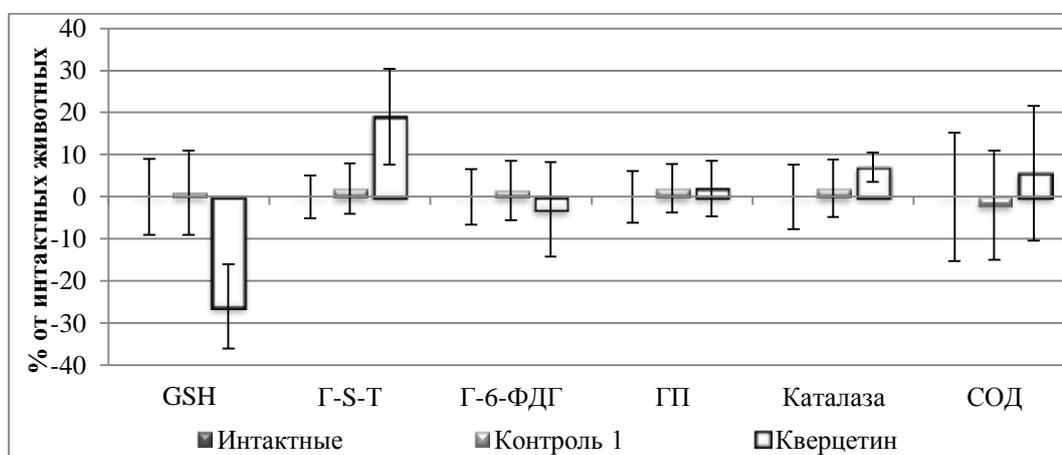
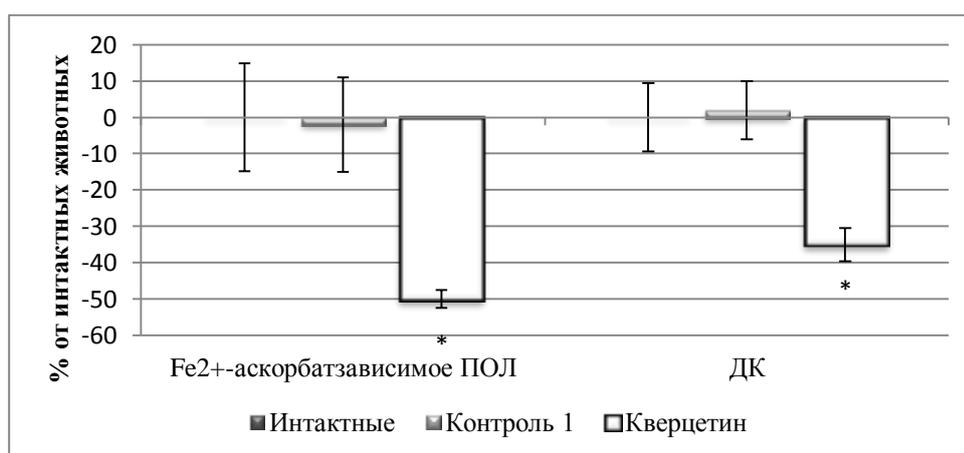
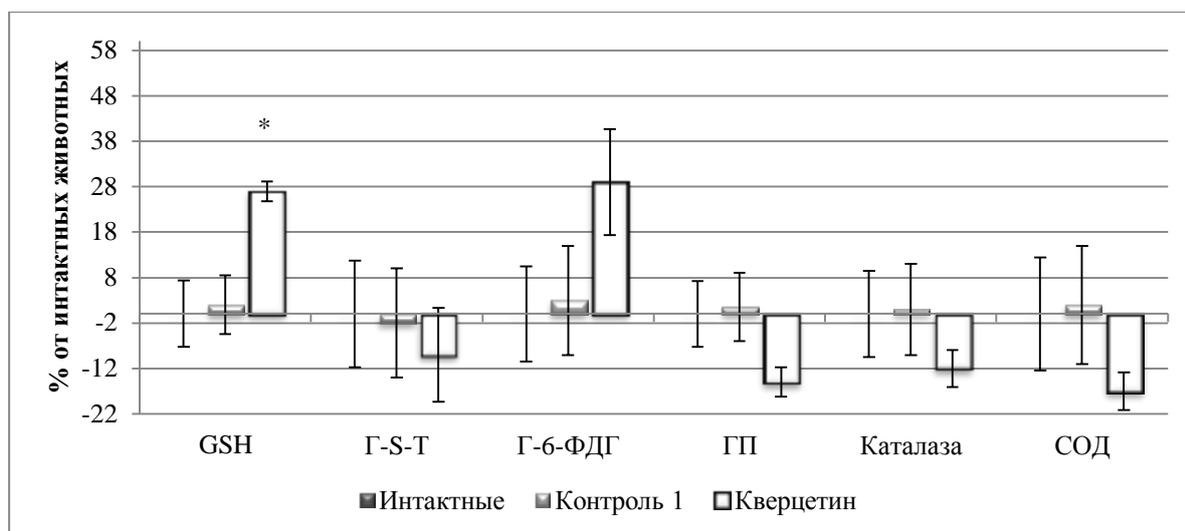


Рисунок 7.2.6 - Влияние курсового введения кверцетина в терапевтической дозе на АОС почек крыс



* - достоверно по отношению к контролю 1 ($P < 0,05$) тест Манна-Уитни, парный t-тест

Рисунок 7.2.7 - Влияние курсового введения кверцетина в терапевтической дозе на интенсивность ПОЛ в печени крыс



*- достоверно по отношению к контролю 1 ($P < 0,05$) парный t-тест

Рисунок 7.2.8 - Влияние курсового введения кверцетина в терапевтической дозе на АОС печени крыс

Таким образом, проведённое исследование по изучению влияния курсового введения СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и кверцетина на процессы ПОЛ и активность эндогенной АОС показало, что в организме животных регистрируется снижение интенсивности ПОЛ в печени и почках и повышение содержания GSH в печени. Подавление накопления продуктов ПОЛ при введении СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД является, скорее всего, проявлением прямого антиоксидантного действия байкалина, входящего в состав СЭ ШБ, в условиях *in vivo*. Подобные изменения, которые отмечаются при введении кверцетина (вещества, для которого хорошо изучены и доказаны антиоксидантные свойства), могут быть подтверждением данного заключения.

7.3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании исследований, проведенных в модельных системах *in vitro*, нами установлено, что основной компонент СЭШБ байкалин, относящийся к флавонам, обладает антиоксидантной активностью в липосомальной системе при Fe^{2+} - индуцированном ПОЛ сравнимой с кверцетином ($IC_{50} 21,7 \times 10^{-6}$ М и $35,8 \times 10^{-6}$ М соответственно), а, следовательно, способен либо связывать Fe^{2+} , либо «гасить» липидные радикалы, а также байкалин обладает мембраностабилизирующим действием сравнимым с кверцетином и α-токоферолом 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), что свидетельствует о способности байкалина проявлять свое действие в липидной фазе мембран.

Полученные нами результаты согласуются с известными в литературе сведениями о выраженных антиоксидантных свойствах байкалина, изученных в разных системах *in vitro*. Так,

например, в работе [265] продемонстрирован защитный эффект байкалина при пероксид-индуцированном повреждении нейрональных клеток сравнимый с действием флавоноида кверцетина. Байкалин относится к семейству 3-оксифлавонов, являющемуся наиболее активной формой флавоноидов. В работах [149,151] показана его высокая антиоксидантная активность при инициации ПОЛ с участием Fe^{2+} , т.е. способность байкалина действовать в качестве хелатора металлов переменной валентности и ингибировать ПОЛ на стадии разветвления цепей. Кроме того, байкалин ингибирует ПОЛ, вызванное УФ-облучением, которое сопровождается образованием свободных радикалов, запускающих цепной процесс липопереоисления, что позволяет предположить его действие в качестве «ловушки» свободных радикалов [5]. В работе [150] также описано, что байкалин обладает высокой антиоксидантной эффективностью, реализуемой за счет и антирадикальных и хелатирующих свойств.

Степень АОА флавоноидов многие авторы объясняют наличием и количеством в их структуре гидроксильных групп, отдающих подвижный атом водорода при взаимодействии с различными АФК, превращая их в малоактивные соединения [105, 130, 150]. Активность байкалина связывают с наличием и расположением фенольных гидроксильных групп (C_5 , C_6), указывая, что важную роль играет также и общая конформация молекулы флавоноида [5].

Помимо нейтрализации свободных радикалов и связывания ионов Fe^{2+} , в гетерофазных системах, таких как липопротеины, каковыми являются и мембраны, АОА флавоноидов определяется во многом их липофильностью и гидрофильностью. Например, в экспериментальной системе окисления рапсового масла при $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ миритетин проявлял более выраженную ингибирующую активность, чем кверцетин, но в другой модельной системе – окисление липидов мембран эритроцитов – эффективнее был кверцетин, что связывается с его большей липофильностью [150]. Вероятно, флавоноиды могут действовать подобно α -токоферолу, выступая в качестве структурных антиоксидантов и стабилизируя мембраны. Проникая в гидрофобную область мембран, молекулы флавоноидов значительно снижают подвижность липидов, что, в свою очередь, снижает эффективность взаимодействия пероксидных радикалов с новыми липидными молекулами ($RO_2^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}$). Так как в большинстве биологических мембран данная стадия цепных процессов ПОЛ является лимитирующей, то соответственно, снижается скорость всего процесса окисления [240].

То, что в биологических мембранах флавоноиды могут действовать аналогично липофильным антиоксидантам или в какой-то степени имитировать их действие, свидетельствуют результаты, полученные авторами работы [198]. Продемонстрировано, что защитный эффект глутатиона в отношении окисления митохондриальных мембран реализуется посредством восстановления липофильного α -токоферола, в отсутствие которого глутатион не влияет на процессы

ПОЛ. При этом если к дефицитным по токоферолу микросомальным мембранам добавлялись флавоноиды (физетин, нарингенин), то защитный эффект глутатиона восстанавливался.

Подтверждением этому могут служить и данные нашей работы о повышении устойчивости мембран эритроцитов к пероксидному гемолизу под влиянием байкалина, что было сравнимо с действием α -токоферола. В работе [273] установлено, что применение байкалина снижало гемолиз, защищало сульфгидрильные группы белков мембраны и мембранную текучесть эритроцитов при свободно-радикальном окислении, вызванном пероксидом водорода, даже более эффективно, чем α -токоферол. Способность байкалина тормозить гемолиз эритроцитов и ингибировать ПОЛ в гомогенатах печени и мозга крыс при блеомицин-индуцированном повреждении у крыс показана и в работе [152].

Сочетание антиоксидантных и мембраностабилизирующих свойств, которыми обладает байкалин, может вносить существенный вклад в преодоление окислительного стресса и являться одним из составных механизмов, обеспечивающих гепато- и нефропротекторное действие СЭ ШБ, поскольку, несомненно, способствует обеспечению целостности клеточных мембран и мембран субклеточных структур, а также предохраняет их от повреждающего действия токсичных агентов.

Исследование состояния системы ПОЛ/АОЗ *in vivo* показало, что введение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД приводит к некоторому снижению **в почках** интенсивности ПОЛ ПФП на 36% в обоих случаях и содержания ДК на 48% при внутрибрюшинном введении СЭ-2-ГП- β -ЦД. **В печени** также наблюдается снижение интенсивности ПОЛ ПФП (на 52% и 37% соответственно) и уменьшение содержания ДК на 31% при пероральном введении СЭ ШБ. Снижение содержания продуктов ПОЛ может быть следствием собственного антиоксидантного действия флавоноида байкалина – основного компонента СЭ ШБ. К тому же подобные изменения регистрируются и под влиянием кверцетина, также обладающего антиоксидантными свойствами. Поступление экзогенных антиоксидантов прямого действия, возможно, приводит к подавлению продукции свободных радикалов и образования перекисных продуктов. Кроме того, как показали фармакокинетические исследования (см. главу 3.4), в печени и почках создаются такие же концентрации (8,1 мкг/г и 4,5 мкг/г соответственно), в которых байкалин проявляет антиоксидантное действие ($IC_{50} = 9,7$ мкг/мл), как продемонстрировано в исследованиях *in vitro*.

Следует отметить важное значение выявленного в наших исследованиях стимулирующего влияния курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД на глутатионовую систему, а именно повышения содержания глутатиона восстановленного в печени (на 40% и 51% соответственно). Известно, что увеличение уровня GSH в печени значительно повышает её устойчивость к действию химических соединений, вызывающих некроз, поскольку позволяет обеспечить достаточно эффективную защиту от пагубного действия пероксида водорода, липоперекисей и инактивации

цию разнообразных ксенобиотиков [42, 170, 279]. Кроме того, важнейшей функцией GSH является восстановление SH-групп ферментов и других белков при их окислении или связывании, что значительно повышает неспецифическую резистентность организма и может ускорять адаптацию организма к действию повреждающих факторов [155, 205, 295].

Увеличение содержания GSH может быть связано с усилением его синтеза *de novo*. Так, показано, что кверцетин, кемферол и апигенин увеличивают внутриклеточное содержание GSH в культуре клеток посредством повышения активности γ -глутамилцистеинсинтетазы, ключевого фермента синтеза GSH, в результате индукции антиоксидант-респонсивного элемента [165].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с достаточно высокой частотой возникновения сочетанных поражений печени и почек [70, 73, 86, 100, 101, 139] актуальной задачей является поиск и создание новых эффективных средств, обладающих нефро- и гепатозащитной активностями. Вследствие общности патогенетических механизмов повреждения печени и почек, связанных с усилением окислительного стресса, перспективным в этом плане являются соединения, которые обладают собственным антиоксидантным действием, либо те, которые стимулируют эндогенную систему антиоксидантной защиты [18]. Такими соединениями являются природные флавоноиды, получаемые из лекарственного растительного сырья. Помимо влияния на основные звенья патогенеза токсических поражений печени и почек, их преимуществом являются высокая эффективность, относительная безопасность, низкая токсичность, минимальные побочные эффекты даже при длительном приеме.

В народной медицине многих стран с успехом применяется шлемник байкальский, содержащий флавоноиды [133]. Поскольку флавоноидные соединения обладают низкой биодоступностью при пероральном применении, что связано преимущественно с их метаболическими превращениями в кишечнике, то и максимальная концентрация их в плазме крови низкая. Поэтому является важным создание их растворимых форм для разработки инъекционных препаратов и введения их, минуя ЖКТ, что, возможно, позволило бы повысить их эффективность, обеспечить 100% биодоступность и избежать необходимости их применения в больших дозах, что имеет место при использовании пероральных форм лекарственных препаратов на основе флавоноидов.

Объектом нашего исследования был выбран СЭ корней и корневищ ШБ производства компании Shenzhen Naturactive (КНР), содержащий 95% флавоноидов байкалина, представляющего собой 7-глюкуронид байкалеина. Это было подтверждено в лаборатории физико-химических методов исследования научно-исследовательского центра ПМФИ методом ВЭЖХ. Растворимая форма СЭ ШБ была получена при использовании 2-ГП-β-ЦД в качестве солюбилизатора и методом спектофотометрии доказано повышение растворимости.

Среднелетальная доза СЭ ШБ при пероральном и внутрибрюшинном введении была определена на 108 мышах самках. Полученные результаты показали, что LD₅₀ для СЭ ШБ при пероральном применении составляет 16 452 мг/кг, и в соответствии с классификацией токсичности химических веществ [15] субстанция относится к IV классу – малотоксичные вещества. Для СЭ-2-ГП-β-ЦД при внутрибрюшинном введении LD₅₀ составило 366 мг/кг, что согласно данной классификации, относится к III классу – умеренно токсичные вещества.

Определение оптимальных терапевтических доз СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД было проведено с использованием классических моделей поражения печени тетрахлорметаном (раствор тетрахлорметана 0,15 мл/100 г трехкратно) и поражения почек хлоридом ртути (раствор хлорида ртути (II) 2 мл/100 г) по комплексу биохимических показателей и проценту гибели животных. Для характеристики степени восстановления биохимических показателей рассчитывали коэффициенты гепато- и нефропротекции.

Установлено, что при лечебно-профилактическом введении СЭ ШБ в дозах от 50 до 300 мг/кг и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозах от 5 до 15 мг/кг на фоне поражения печени или почек по степени нормализации биохимических и функциональных маркеров, коэффициентам гепато- и нефропротекции и проценту выживших животных оптимальной терапевтической дозой СЭ ШБ при испытании в качестве гепато- и нефропротектора является доза 300 мг/кг, а СЭ-2-ГП-β-ЦД - доза 15 мг/кг, т.е. внутрибрюшинное введение СЭ-2-ГП-β-ЦД позволяет снизить дозу в 20 раз.

Проведенные фармакокинетические исследования показали, что внутрибрюшинное введение СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг обеспечивает создание практически *таких же концентраций байкалина в органах-мишенях - печени и почках*, что и пероральное введение СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг, что и приводит к значительному снижению оптимальной терапевтической дозы СЭ-2-ГП-β-ЦД. Таким образом, для достижения концентраций, которые необходимы для проявления защитного эффекта, при внутрибрюшинном введении требуется значительно меньшая доза байкалина, что необходимо учитывать при дальнейшей разработке инъекционной или инфузионной лекарственной формы.

Выявленная двухфазность повышения концентрации байкалина в плазме крови после внутрибрюшинного введения, по нашему мнению, обусловлена энтерогепатической циркуляцией флавоноида, что является одним из требований, предъявляемых к потенциальным гепатопротекторам, каковому и отвечает водорастворимая форма СЭ-2-ГП-β-ЦД.

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 по степени нормализации показателей основных патосиндромов, характеризующих поражение почек и гистоморфологической картине органа.

Установлено, что при токсическом поражении почек хлоридом ртути (II) наблюдается развитие выраженного азотемического, нефротического и мочевого патосиндромов со снижением диуреза, фильтрующей способности почек, увеличением их весового индекса, нарушением электролитного состава крови. На гистологической картине почек отмечается нарушение микроциркуляции, отек, значительные дистрофические и некротические изменения эпителия. Про-

цент канальцев мозгового вещества почек, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества, составляет $88\% \pm 7,6\%$.

Применение СЭ ШБ и его водорастворимой формы СЭ-2-ГП-β-ЦД оказывает выраженное и равное по эффективности нефрозащитное действие на фоне введения хлорида ртути (II), которое сравнимо с эталонным препаратом урокамом в отношении устранения мочевого синдрома и острой воспалительной реакции, но значительно превышает действие этого препарата в отношении развития азотемического, нефротического синдромов, восстановления электролитного состава крови и нормализации диуреза. Урокам достоверно уступает исследуемым субстанциям по степени нормализации следующих показателей: креатинин и мочевины мочи, СКФ, диурез, содержание калия, натрия, фосфора, кальция, общего белка в сыворотке крови.

По рассчитанному среднему коэффициенту нефропротекции с учетом нормализации всех показателей основных патосиндромов СЭ ШБ ($86 \pm 5,7\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($83 \pm 8,1\%$) обладают равнозначной эффективностью нефрозащитного действия, которая достоверно превышает действие урокама ($57 \pm 5,8\%$) в 1,5 раза. Гистологическая картина подтверждает их более выраженное нефрозащитное действие по сравнению с урокамом, при введении которого восстановительные процессы на срезах почек выражены в меньшей степени. Процент канальцев мозгового вещества почек крыс, находящихся в дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества у крыс, которые получали СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД составляет соответственно $33\% \pm 5,2\%$ и $38\% \pm 6,4\%$, а урокам - $64\% \pm 4,8\%$, что достоверно больше в 1,9 и 1,7 раза, чем в группах, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Изучение гепатозащитной активности СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД проведено на модели поражения печени парацетамолом (2,5 г/кг, per os, 2 дня) в сравнение с легалонем в оптимальных терапевтических дозах (300, 15 и 100 мг/кг соответственно) при лечебно – профилактическом введении по нормализации биохимических показателей основных патосиндромов поражения печени и гистологической картине органов. Выявленные изменения биохимических показателей свидетельствуют о развитии поражения печени в результате введения парацетамола с проявлениями признаков цитолиза, жировой дистрофии, холестаза, нарушения желчсекреторной, белково-синтетической функций печени, углеводного и липидного обменов. На гистологической картине печени нарушено балочное строение долек, наблюдается выраженная гидропическая дистрофия, некрозы клеток ($7,0 \pm 0,1\%$). Большая часть гепатоцитов увеличена в объеме.

Лечебно-профилактическое применение у крыс СЭ ШБ в дозе 300 мг/кг и СЭ-2-ГП-β-ЦД в дозе 15 мг/кг на фоне поражения печени парацетамолом оказывает выраженное гепатопротекторное действие. СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД так же, как и легалон, практически в равной степени способствуют нормализации белково-синтетической функции, показателей липидного и углеводного обменов, но в достоверно большей степени, чем легалон препятствуют развитию холе-

стаза (по содержанию общего и прямого билирубина в сыворотке крови, активности γ -ГТ) при обоих способах введения, а также цитолиза (по активности ЛДГ) при пероральном применении СЭ ШБ.

По коэффициенту гепатопротекции с учетом биохимических показателей основных патосиндромов СЭ ШБ ($75 \pm 4,0\%$) и СЭ-2-ГП- β -ЦД ($68 \pm 5,0\%$) обладают одинаковой выраженностью гепатозащитного действия, которая сравнима с таковой легалона ($65 \pm 4,2\%$), но обладают преимуществом перед легалоном в отношении предупреждения холестаза в обоих случаях.

Гистоморфологическая картина печени свидетельствует о более эффективном гепатозащитном действии на фоне поражения парацетамолом СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД, чем препарата легалон, при введении которого имеются более выраженные признаки гидропической дистрофии, сохранение нарушений балочной структуры и достоверно более высокий процент некротизированных гепатоцитов - $3,5 \pm 0,42\%$ в сравнении с $1,8 \pm 0,15\%$ и $1,2 \pm 0,11\%$, т.е. в 1,9 и 2,9 раза выше соответственно по отношению к легалону.

Изучение биохимических и функциональных маркеров повреждения печени и почек и гистологической картины этих органов у животных после курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД позволило установить отсутствие влияния исследуемых субстанций на здоровые печень и почки, что является необходимым условием для препаратов, перспективных в плане разработки гепатопротекторов и нефропротекторов.

В результате проведенных нами исследований продемонстрировано, что введение цитостатика циклофосфана (150 мг/кг внутривенно, однократно) приводит к развитию *сочетанного поражения печени и почек*, о чем свидетельствуют развитие синдромов цитолиза, холестаза, жировой дистрофии печени, азотемического и нефротического синдромов со снижением диуреза. На гистологической картине *печени* выявлено нарушение балочной системы печеночных долек, наличие паренхиматозной дистрофии, набухание и увеличение размеров гепатоцитов с утратой естественной зернистости и хроматофилии, увеличение процента некротизированных гепатоцитов до $4,84 \pm 0,25\%$. На гистологической картине *почек* также выявлены выраженные патологические изменения: отеки и утрата фестончатой структуры почечных клубочков, десквамация эпителия канальцев на большом их протяжении. Количество канальцев в состоянии дистрофии эпителия с наличием аморфного вещества составляет $78 \pm 6,1\%$.

Лечебно-профилактическое применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД в дозах 300 мг/кг и 15 мг/кг на фоне введения циклофосфана 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 ($80 \pm 7,7\%$). В то же время, при использовании синдромального подхода для оценки *эффективности гепатозащитного действия* выявлено, что уро-

кам в меньшей степени, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, препятствует развитию синдрома холестаза (по содержанию общего билирубина и его фракций в сыворотке крови), жировой дистрофии печени (по количеству ТРГ), а также нормализует метаболическую функцию печени (на достаточно низком уровне сохраняется содержание гликогена). Применение легалона так же, как и СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, приводит к нормализации практически всех показателей основных патосиндромов, но не влияет на гликогенсинтезирующую функцию печени и полностью не предотвращает развитие жировой дистрофии, как и в случае введения СЭ-2-ГП-β-ЦД. 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.

По коэффициенту нефропротекции эффективность нефрозащитного действия СЭ ШБ ($95 \pm 4,3\%$) и СЭ-2-ГП-β-ЦД ($85 \pm 2,8\%$) сравнима с урокамом ($77 \pm 5,4\%$), но достоверно выше, чем у легалона ($51 \pm 10,5\%$) в 1,5-1,7 раза. При введении легалона в наименьшей степени восстанавливается диурез и содержание креатинина в моче. Гистологическая картина почек наиболее приближена к интактной группе у крыс, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, чем при использовании препаратов сравнения и СЭ ШБ.

В результате проведенных нами исследований установлено, что при действии повреждающих факторов, таких как хлорид ртути (II), парацетамол и циклофосфан, в печени и почках наблюдается развитие окислительного стресса, который является важным патогенетическим фактором многих заболеваний печени и почек. При этом отмечается усиление интенсивности ПОЛ, а также истощение эндогенной АОЗ - падение содержания GSH и активности антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, Г-6-ФДГ, ГП, Г-S-T).

Одновременно с нормализацией показателей основных патосиндромов и гистологической картины органов установлено, что исследуемые нами субстанции способствовали преодолению окислительного стресса, снижая интенсивность ПОЛ и усиливая активность ферментов АОЗ при поражении печени и почек.

При поражении почек хлоридом ртути СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД снижают содержание ДК и интенсивность Fe^{2+} -аскорбатиндуцированного ПОЛ с одновременным повышением активности основных антиоксидантных ферментов (каталазы, СОД, Г-S-T, Г-6-ФДГ) и содержания GSH в почках. При этом отмечается значительный подъем активностей Г-S-T у животных, получавших СЭ-2-ГП-β-ЦД, и Г-6-ФДГ у животных, получавших СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокам, который настолько значителен, что приводит к достоверному превышению таковых активностей у здоровых животных. При поражении печени парацетамолом СЭ-2-ГП-β-ЦД более эффективно, чем СЭ

ШБ и легалон восстанавливает показатели АОЗ, способствуя в наибольшей степени подъему активности Г-S-T до значений, которые достоверно превышают норму.

Лечебно-профилактическое применение *СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД* на фоне введения ЦФ приводит к нормализации почти всех исследованных показателей ПОЛ/АОЗ, как в почках, так и в печени. У животных, получавших СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, наблюдается достоверное снижение содержания ДК, уменьшение интенсивности Fe²⁺- аскорбатзависимого ПОЛ, а также повышение активностей почти всех ферментов АОЗ и содержания GSH до нормы по сравнению с группами крыс патологического контроля. При введении СЭ-2-ГП-β-ЦД наряду с другими показателями полностью восстанавливается и активность каталазы, в отличие от СЭ ШБ, когда его введение не приводит к полной нормализации активности данного фермента.

При введении *легалона* на фоне ЦФ в печени полностью нормализуются показатели ПОЛ, восстанавливаются активности всех АО ферментов, лишь активности каталазы и ГП достоверно отличаются от нормы, но в почках этого не наблюдается: не повышается содержание GSH, активности Г-S-T и ГП, не полностью нормализуются активности СОД и каталазы и содержание ДК.

При введении *урокама* на фоне ЦФ содержание ДК в печени и активность каталазы восстанавливаются не полностью, не изменяются активности СОД, Г-S-T, Г-6-ФДГ, ГП и содержание GSH, но в почках все эти показатели полностью нормализуются и достоверно не отличаются от нормы.

Интегральная оценка восстановления про-антиоксидантного равновесия под влиянием СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и препаратов сравнения на фоне поражения печени и почек проведена по коэффициенту окислительного стресса (отношение произведения показателей ПОЛ к произведению показателей АОС, выраженных в относительных единицах к норме).

При поражении *почек хлоридом ртути (II)*, когда регистрируется значительный рост коэффициента окислительного стресса до 921 ед, применение СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД приводит к его снижению до 1,06, что наиболее приближено к норме, когда значение данного коэффициента принимается равным 1. При использовании урокама также наблюдается значительное снижение коэффициента окислительного стресса, но в меньшей степени, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД - до 4,4. Одновременно урокам, как указано выше, проявляет и менее выраженное, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, нефрозащитное действие.

При поражении *печени ЦФ* повышенный до 455 ед. коэффициент окислительного стресса под влиянием СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД резко снижается и приближен к 1 (0,7 и 1,4 соответственно). Использование легалона также приводит к значительному снижению коэффициента окислительного стресса до 2,8, но в меньшей степени, чем СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД. При приме-

нении урокама этот показатель равен 13,8, что почти в 10 раз выше, чем для исследуемых субстанций. Одновременно легалон и урокам по выраженности гепатозащитного действия уступают СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД.

При поражении *почек ЦФ* наиболее эффективное восстановление баланса в системе ПОЛ/АОС выявлено при применении СЭ ШБ, СЭ-2-ГП-β-ЦД и урокама, когда коэффициент окислительного стресса практически равен 1. У животных, получавших легалон, этот коэффициент был выше в 10 раз, что сопровождается и менее выраженным нефропротекторным действием этого препарата.

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 нефрозакщитного действия.**

Следует отметить, что при повреждающем действии на печень и почки циклофосфана, *эталонный гепатопротектор легалон* оказывает не только гепато-, но и нефрозакщитное действие, хотя и менее выраженное, а *эталонный нефропротектор урокам* обладает также и гепато-защитной активностью, хотя и менее выраженной. При этом выявлено, что урокам *более эффективно* препятствует развитию *окислительного стресса* именно в *почках*, чем в печени, а легалон – наоборот - в печени, чем в почках. Защищая один орган путем воздействия на важнейшие звенья патогенеза, данные препараты, тем самым, *опосредованно*, пусть и не так эффективно, защищают и другой, функционально тесно связанный, орган (печень-почки).

В то же время, СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, содержащие в качестве основного компонента байкалин, эффективно восстанавливают про-антиоксидантное равновесие *одновременно в обоих органах (и в печени, и в почках)* и обеспечивают их *равнозначно выраженную* защиту, воздействуя на основные факторы патогенеза в обоих органах, т.е. можно сказать, что исследуемые субстанции являются *гепатонепфропротекторами*.

Таким образом, СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД, обладающие комплексным нефро- и гепатозащитным действием, могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения в плане создания различных лекарственных препаратов при различных способах введения, снижающих побочное действие циклофосфана (например, препаратов сопровождения противоопухолевой химиотерапии циклофосфаном). Это является тем более обоснованным, поскольку для самого байкалина

выявлена противоопухолевая активность [145, 158, 159], а также способность усиливать противоопухолевую активность цитостатиков и снижать их гематотоксическое действие [135].

Для понимания механизмов восстановления про- антиоксидантного нами изучены антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие байкалина в системах *in vitro* и влияние курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД в терапевтических дозах на состояние системы ПОЛ/АОЗ у здоровых животных. Нами установлено, что байкалин, относящийся к флавонам, обладает антиоксидантной активностью в липосомальной системе при Fe^{2+} - индуцированном ПОЛ сравнимой с кверцетином (IC_{50} $21,7 \cdot 10^{-6}$ М и $35,8 \cdot 10^{-6}$ М соответственно), а, следовательно, способен либо связывать Fe^{2+} , либо «гасить» липидные радикалы, а также обладает мембраностабилизирующим действием сравнимым с кверцетином и α-токоферолом по торможению перекисного гемолиза эритроцитов, вызванного эргокальциферолом, (IC_{50} $6,8 \times 10^{-5}$ М, $9,7 \times 10^{-5}$ М и $11,9 \times 10^{-5}$ М соответственно), что способствует обеспечению целостности клеточных мембран и мембран субклеточных структур и предохраняет от цитолиза и гибели клетки.

В работе [112] показано, что байкалин препятствует поражению биологических мембран и предотвращает нарушение функций митохондрий в связи с прямым мембраностабилизирующим действием. При этом байкалин обеспечивает поток атомов водорода от восстановленных пиридиннуклеотидов (NADPH и NADH) через токоферол и, возможно убихинон, на ингибирование липидных свободных радикалов, а также служит донором водорода для ГП.

Проявлением собственного АО действия байкалина *in vivo* следует считать и выявленное в наших исследованиях снижение показателей ПОЛ в печени и почках у здоровых животных в результате курсового введения СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД. Поступление экзогенных антиоксидантов прямого действия, возможно, приводит к подавлению продукции свободных радикалов и образования перекисных соединений. Это тем более вероятно, поскольку фармакокинетические исследования показали, что в печени и почках создаются те же концентрации (8,1 мкг/г и 4,5 мкг/г соответственно), в которых байкалин проявляет антиоксидантное действие ($IC_{50} = 9,7$ мкг/мл), продемонстрированное *in vitro*.

Известно, что для восстановления баланса в системе ПОЛ/АОС важное значение имеет как ингибирование процессов ПОЛ, так и поддержание активности эндогенной ферментной системы антиоксидантной защиты, которая контролирует процесс свободнорадикального окисления на различных стадиях.

Уместно предположить, что в условиях развития окислительного стресса поступление экзогенных антиоксидантов позволяет снизить нагрузку на эндогенную ферментативную и неферментативную систему АОЗ, защитить АОС от повреждения свободными радикалами и перекисления, предотвратить ее истощение. Об этом свидетельствуют, например, данные о восстановлении защитного эффекта глутатиона после добавления флавоноидов (физетин, нарингени) к де-

фицитным по α -токоферолу мембранам [198]. Описаны и другие виды взаимодействия флавоноидов с эндогенными антиоксидантами. Имеются сведения, что добавление в культуру гепатоцитов кверцетина и катехина на фоне H_2O_2 -индуцированного поражения клеток, их защитное действие сопровождается усилением активности ГП [151].

В работе [56] показано, что под влиянием флавоноидов, выделенных из листьев крапивы, наблюдается достоверное уменьшение содержания накопленных при действии циклофосфана продуктов ПОЛ и повышение активности СОД и каталазы в сыворотке крови. Кроме того, для флавоноидов, выделенных из пятилистника кустарникового, установлено снижение накопления продуктов пероксидации в сыворотке крови и гомогенате печени и повышение активности ферментов антиоксидантой защиты [6, 88].

Нашими исследованиями также продемонстрировано, что СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД препятствуют истощению GSH при развитии окислительного стресса в печени и почках и способствуют сохранению активности важнейших антиоксидантных ферментов.

В то же время, в последние годы все больше авторов склонно считать, что более эффективным для преодоления окислительного стресса является потенцирование эндогенной системы АОЗ, чем просто защита ее от повреждения свободными радикалами. Повышение эффективности эндогенной системы АОЗ может вносить более существенный вклад в ускорение возврата системы в состояние про/антиоксидантного равновесия при действии повреждающих факторов, чем собственная АОА соединений.

Полученные нами результаты свидетельствуют в пользу этих суждений. В наших исследованиях выявлена способность СЭ ШБ, СЭ-2-ГП- β -ЦД, а также урокама и легалона оказывать стимулирующее влияние на NADPH-GSH-зависимую систему антиоксидантной защиты - повышать содержание GSH в печени у здоровых животных, а также в условиях окислительного стресса вызывать индукцию таких ферментов, как Г-6-ФДГ и Г-S-T ферментов. Причем, чем в большей степени наблюдается активация, тем более выраженным – защитное действие.

Повышение $NADP^+$ -редуктазной активности (Г-6-ФДГ) позволяет обеспечивать более высокую скорость регенерации GSH в условиях, когда возникает в этом необходимость (например, активация ПОЛ). По мнению авторов работы [83] в конечном итоге эффективное преодоление окислительного стресса определяется не самим содержанием GSH как такового, а активностью ферментов, принимающих участие в его восстановлении из окисленной формы, либо использующих GSH для процессов детоксикации.

Повышение активности Г-6-ФДГ ($NADP^+$ -редуктазы) тесно связано с химической природой флавоноидов, которые способны формировать самостоятельные редокс-системы и выступать как в качестве доноров, так и акцепторов водорода, создавая в клетке резерв окисленных никотинамидных коферментов [77]. При этом усиление процессов реокисления этих кофермен-

тов обусловлено акцепцией протонов от NADH и NADPH на полифенольные структуры [117]. В силу протонифицирующих свойств флавоноиды, возможно, участвуют и в формировании пула восстановленного глутатиона. Помимо этого, увеличение содержания GSH может быть связано с повышением активности γ -глутамилцистеинсинтетазы, ключевого фермента синтеза GSH, в результате индукции антиоксидант-респонсивного элемента, как показано в работе [165].

Таким образом, стимулирующее влияние флавоноидов на физиологическую систему АОС определяется не только тем, что, как экзогенные антиоксиданты, они снижают потребление и «нагрузку» на эндогенные компоненты АОЗ, поддерживая и восстанавливая их активность, но и способностью вызывать индукцию определенных генов в ответ на окислительный или химический стресс [165, 200, 252].

Учитывая роль GSH в повышении устойчивости к действию разнообразных повреждающих факторов, можно сказать, что повышение его содержания в клетке создает как бы скрытый резерв, усиливающий мощность эндогенной АОС и обеспечивающий более эффективную работу этой системы в условиях окислительного стресса.

Повышение эффективности эндогенной NADPH-GSH-зависимой системы антиоксидантной защиты и поддержание необходимого уровня глутатиона восстановленного в клетках печени, которые вносят значительный вклад в восстановление и поддержание равновесия в системе ПОЛ/АОС и в проявление гепатозащитного действия флавоноидов различных классов, показаны и в ранее проведенных нами исследованиях [25, 27, 28, 31, 35, 41, 42, 50, 51, 52, 53, 76, 118, 119, 131].

Таким образом, полученные нами результаты продемонстрировали наличие выраженной гепато- и нефрозащитной активности СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД при поражении печени и почек при пероральном и внутривенном введениях, в большинстве случаев – равнозначную, но по некоторым параметрам более высокую при внутривенном введении, а также превышающую действие эталонных гепато- и нефропротекторов, в связи с чем данные субстанции могут быть предложены для дальнейшего доклинического изучения с целью создания различных форм лекарственных препаратов для одновременной терапии заболеваний печени и почек.

Исходя из полученных нами результатов и данных литературы, можно предполагать возможный механизм гепато- и нефрозащитного действия байкалина, входящего в состав СЭ ШБ и СЭ-2-ГП- β -ЦД: 1) антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие; 2) активирование глутатионового звена АОС. Следует подчеркнуть, что более значительным при этом, вероятно, является активирование эндогенной АОС и оптимизации ее работы, чем собственная АОА соединений.

ОБЩИЕ 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+} - индуцированном 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.

Список литературы

1. Ажунова, Т.А. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения экстракта шлемника байкальского при токсическом гепатите / Т.А. Ажунова, С.М. Николаев // Моделирование и фармакотерапия органов пищеварения. — Улан-Удэ: БНЦ СО АН СССР, 1990. — С. 3–14.
2. Ажунова, Т.А. Влияние экстракта шлемника байкальского на функциональное состояние печени при токсическом гепатите / Т.А. Ажунова // Актуальные проблемы фармакологии и поиска новых лекарственных препаратов. - Томск, 1987. - Т.3. – С.70-72.
3. Азарова, О.В. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О.В. Азарова, Л.П. Галактионова // Химия растительного сырья. – 2012. - №4.- С.61-78.
4. Алтуфьев, Ю.В. Устойчивое развитие человечества / Ю.В. Алтуфьев, Ю.А. Попова, М.С. Безуглова. – Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2009. – 208с.
5. Антиоксидантные свойства некоторых природных биофлавоноидов / О.А. Макаренко, А.П. Левицкий, В.И. Литвиненко и др. // Вестник ОНУ.-2010.- Т.15, вып.5.-С.15-21.
6. Арьева, М.М. Влияние сухого экстракта Курильского чая кустарникового на течение экспериментального сахарного диабета / М.М. Арьева // Автореф. дисс. ... к.м.н.. – Улан-Удэ, 1998. – 20 с.
7. Асеева, Т.А. Лекарственные растения в тибетской медицине / Т.А. Асеева, К.Ф. Блинова, Г.П. Яковлев.— Новосибирск: Наука, 1985. —154с.
8. Астахова, А.В. Современные технологии лекарственных форм: получение, исследование и применение комплексов включения лекарственных веществ с циклодекстринами (обзор) / А.В. Астахова, Н.Б. Демина // Хим.-фармацевт. журн. -2004. - Т.38. - №2. - С. 46-49.
9. Ахаладзе, Г.Г. Гнойный холангит: вопросы патофизиологии и лечения / Г.Г. Ахаладзе // Consilium medicum. – 2003. -Т.5, №4. – С.11-21.
10. Бабаян, М.Л. Гепатопротекторная терапия при заболеваниях печени у детей / М.Л. Бабаян, А.И. Хавкин // Лечащий врач. – 2013. - № 1. С. 5-8.
11. Беликов, В.Г. Увеличение растворимости индометацина / В.Г. Беликов, Е.В. Компанцева // Фармация.- 1983. - №3. – С. 54-58.
12. Беликов, В.Г. Увеличение растворимости лекарственных веществ / В.Г. Беликов, Е.В. Компанцева // Хим. фарм. журн. – 1986. - № 20(5).- С. 525-532.
13. Беликов, В.Г. Циклодекстрины и их соединения включения с лекарственными веществами / В.Г. Беликов, Е.В. Компанцева//Хим. фарм, журн. – 1990.-№24(7).-С.19–23.

14. Белова, Я.В. Механизмы развития патологических процессов в печени / Я.В. Белова, Ю.В. Алтуфьев // Журнал фундаментальных и прикладных исследований. – 2009. - №3(28). С.114-120.
15. Березовская, И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И.В. Березовская // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. - Т. 7, №3. – С. 32-34.
16. Бугров, В.Ю. Нарушение функции почек в зависимости от длительности механической желтухи и методов предоперационной подготовки (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис...канд.мед.наук: 14.00.27 / Вадим Юрьевич Бугров - Великий Новгород, 2005. - 18 с.
17. Валеева, И.Х. Сравнительное изучение эффективности димефосфона и ксидифона при индометацин-индуцированной гастропатии у крыс / И.Х. Валеева, Л.Е. Зиганшина, А.Ф. Титаренко // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2010.-N 12.-С.21-24.
18. Венгеровский, А.И. Гепатопротекторное и антиоксидантное действие экстракта солянки холмовой при парацетамоловом гепатите у крыс / А.И. Венгеровский, А.Н. Мелентьева, В.Н. Буркова // Химико-фармацевтический журнал. - 2010. №3. – С.29-31.
19. Венгеровский, А.И. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ / А.И. Венгеровский, И.В. Маркова, А.С. Саратиков // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, - 2005. - С. 683—691.
20. Вершинин, Н.В. Фармакология и клиника сибирских растений с седативным и гипотензивным действием / Н.В. Вершинин, Д.Д. Яблоков // Новые лекарственные растения Сибири и их лечебные препараты. 1946. - Т.46. - Вып. 2. -С. 10-16.
21. Владимиров, Ю.А. Определение антиоксидантной активности методами хемилюминесценции / Ю.А. Владимиров, О.Б. Любимов, Д.Ю. Измайлов // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 9 Междунар. съезда «Фитофарм 2005» и конф. молодых учёных Европейск. фитохимич. о-ва «Растения и Здоровье» 22-25 июня 2005 г.- СПб., 2005.- С.67-73.
22. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков.– М.: Наука, 1972. – 252 с.
23. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю.А. Владимиров // Соросовский образоват. журн.- 2000.- № 12.- С. 12–19.
24. Влияние биофлавоноидов на про-/антиоксидантное равновесие при остром алкогольном отравлении Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, Е.П. Парфентьева и др. // Гепатология сегодня:

- материалы Одиннадцатой Рос. конф. 27-29 марта 2006 г. //Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2006. - Т. 16. - №1. - Приложение №27.-С. 68.
25. Влияние гесперидина на уровень оксида азота (NO) в организме крыс в норме и при остром поражении печени тетрахлорметаном / А.А. Тимошин, Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева и др. // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы Междунар. науч. конф.; Седьмой съезд Белорус, общественного объединения фотобиологов и биофизиков, Минск 21-23 июня 2006 г.- Минск.: ИООО «Право и экономика», 2006. - Г.2.- С.261-263.
 26. Влияние нового фитосредства на функциональное состояние почек у белых крыс при интоксикации сулемой / А.Г. Мондодоев, Л.Н. Шантанова, С.М. Николаев и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010.- №2 (72).- С.189-194.
 27. Влияние флавицина на механизмы, участвующие в развитии окислительного стресса при курсовом введении здоровым животным / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, А.Ю. Терехов и др.// Разработка, исследование и маркетинг новой фармац. продукции: сб. науч. тр. - Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2009. - Вып.64.— С. 418-421.
 28. Влияние флавоноидов растительного происхождения на перекисное окисление липидов / Е.Г. Доркина, Э.Т. Оганесян, М.Р. Хочава и др.// Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы Междунар. съезда (4; 29 июня-1 июля 2000 г; Великий Новгород). - СПб., 2000. - С. 155 - 157.
 29. Влияние фосфатидилхолинхолестериновых липосом на рост некоторых бактериальных культур / Л.П. Мельянцева [и др.] // Журн. микробиологии эпидемиологии и иммунологии. – 1994. - №2. – С. 14 – 17.
 30. Возможность фитофармакологической коррекции углеводного и липидного обмена с помощью биологически активных добавок к пище, содержащих фитостероиды / Володин В.В., Володина С.О, Макарова М.Н. и др. // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН.- 2010.- № 11(157).- С. 2-9.
 31. Выделение гесперидина и суммарной флавоноидной фракции из отходов цитрусовых и экспериментальное изучение их использования в качестве гепатозащитных средств / Е.Г. Доркина, Э.Т. Оганесян, М.Р. Хочава и др. //Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2002. -31с.
 32. Гаврилин, М.В. Количественное определение байкалина в сухом экстракте корней шлемника байкальского методами ВЭЖХ и капиллярного электрофореза / М. В. Гаврилин, М.В. Ларский, С.П. Сенченко // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. № 4. - С.5-8.

33. Гаврилин, М.В. Повышение растворимости гесперидина с использованием 2-гидроксипропил- β -циклодекстрина / М.В. Гаврилин, Л.И. Щербакова, О.М. Маркова // Фармация. - 2011. - №2. - С.11-13.
34. Гаврилов, В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. –1983. - № 3. –С. 33 – 35.
35. Гепатозащитное действие флавоноидов вики изменчивой и вики обрубленной / Э.Т. Оганесян, Е.Г. Доркина, О.А. Андреева и др. // Фармация. - 2004. - №4,- С. 41 -42.
36. Глушков, С.И. Состояние системы глутатиона в тканях печени крыс при острых отравлениях циклофосфаном / С.И. Глушков, С.А. Куценко, В.А. Кашуро и др. // Токсикологический вестник. – 2003. – №.4. – С. 25–30.
37. Гоженко, А.И. Патогенез токсических нефропатий / А.И. Гоженко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2006. -№ 2(4).- С. 9-16.
38. Гомазков, О.А. Уровни нейрохимической дизрегуляции при патологии мозга. В кн.: Дизрегуляционная патология нервной системы / Под ред. академика РАМН Е.И. Гусева, академика РАМН Г.Н. Крыжановского. - М., МИА. - 2009. - С. 455.
39. Добронравов, В.А. Поражение почек и хронический вирусный гепатит С / В.А. Добронравов, Н.В. Дунаева // Нефрология. - 2008. - Том 12. №4. С.9-20.
40. Доркина, Е.Г. Гепатопротекторные свойства флавоноидов (фармакодинамика и перспективы клинического изучения): автореф. дис...докт. биол. наук: 14.03.06/ Доркина Елена Григорьевна.- Волгоград, 2010.-48с.
41. Доркина, Е.Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е.Г. Доркина // Эксперим. и клинич. фармакология. - 2004. -Т.67, №6. - С. 41- 45.
42. Доркина, Е.Г. Флавоноиды и окислительный стресс: монография / Е.Г. Доркина. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2014.- 96 с.
43. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях 1986 года [Электронный ресурс] — Доступ из справ.-правовой системы КонсультантПлюс.
44. Еремина, Е.Ю. Лекарственные поражения печени / Е.Ю. Еремина // Справочник фельдшера и акушерки. - 2013.-N 8. - С.17-22
45. Запруднов, А.М. Парацетамол в педиатрической практике / А.М. Запруднов. М., Стерлинг Хелс,1994.- С.26-52.
46. Здоровье населения России: динамика и возрастные особенности (1994-2011 гг.) / П.М. Козырева [и др.] // Вестник Института социологии. - 2013. - № 6. – С. 9-47.

47. Зенков, Н.К. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова.- М.: МАЙК «Наука»/ «Интерпериодика». - 2001. - 343 с.
48. Изменение некоторых биохимических показателей у крыс при остром алкогольном отравлении и действии биофлавоноидов / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, Э.Т. Оганесян и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармац. продукции: сб. науч. тр. - Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2006.-Вып.61.-С. 347-349.
49. Изучение влияния антигипоксантов на систему глутатиона при остром отравлении циклофосфаном / В.А.Кашуро [и др.] // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты. - 2004. - С.349-350.
50. Изучение влияния биофлавоноидов на показатели энергетического обмена при курсовой алкоголизации у крыс / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, А.Ю. Терехов и др. // Гепатология сегодня: материалы 13 Рос. конф. 17-19 марта 2008 г. // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2008.- Т. 18, №1. - Приложение № 31. - С.54.
51. Изучение влияния флавоноидов на систему детоксикации ксенобиотиков в норме и при токсических поражениях печени у крыс / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, Л.А. Саджая и др. //Разработка, исследование и маркетинг новой фармац. продукции: сб. науч. тр. - Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2008. -Вып.63 - С. 412-414.
52. Изучение влияния флавоноидов на системы детоксикации ксенобиотиков при курсовой алкоголизации у крыс / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, А.Ю. Терехов и др. // Гепатология сегодня: материалы Четырнадцатой Рос. конф. 16-18 марта 2009 г.// Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2009. — Т. 19, №1. - Приложение № 3- С.74.
53. Изучение гепатозащитного действия различных субстанций из растений рода бархатцы / Е.Г. Доркина, Ю.К. Василенко, А.Ю. Терехов и др. // Человек и лекарство; тез. докл. 9 Рос. нац. конгресса 8-12 апреля 2002 г. — М., 2002. — С.609.
54. Изучение гепатозащитного действия СЭ из вики обрубленной при остром тетрахлорметановом гепатозе у крыс / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, Л.А. Саджая и др. //Разработка, исследование и маркетинг новой фармац. продукции: сб. науч. тр.- Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2008. -Вып.63.-С. 409-412.
55. Изучение гепатозащитного действия флавоноидных соединений из растений рода Вика / Е.Г. Доркина, Э.Т. Оганесян, О.А. Андреева и др. // Паллиативная медицина и реабилитация в здравоохранении: материалы конгр. с междунар. участием (4; апрель 2002 г; Средиземно-море). - М., 2002. - №2 - С.3.

56. Исакова, С.С. Влияние крапивы масла на прооксидантное действие циклофосамида / С.С. Исакова, К.У. Алдабергенова // Сб. мат-лов XVII Росс. национ. конгресса «Человек и лекарство». – М., 2010. – С. 629.
57. Исследование защитного действия гесперидина и его сочетанного применения с аминокислотами при остром токсическом поражении печени тетрахлорметаном / Е.Г. Доркина, М.Р. Хочава, Э.Т. Оганесян и др. // Регион, конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров (56; 2001; Пятигорск): материалы... - Пятигорск: ПГФА, 2001. - С. 192- 194.
58. Исследование защитного действия суммы флавоноидов из кожуры цитрусовых при остром токсическом поражении печени / Е.Г. Доркина, М.Р. Хочава, Э.Т. Оганесян и др. // Человек и лекарство: тез. докл. 8 Рос. нац. конгресса 2001 г.- М., 2001.-С. 561.
59. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство / Под ред. В.Г. Кукеса. – М.: ГЭОТАРМедиа, 2009. – 432 с.
60. Ключарева, А.А. Лекарственный гепатит / А.А. Ключарева // Медицинские новости. – 2007. - №4. – С.19-24.
61. Колб, В.Г. Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников.– Минск : Беларусь, 1982. – 336 с.
62. Компанцева, Е.В. Производные β -циклодекстрина и перспективы их использования в фармации (обзор) / Е.В. Компанцева, М.В. Гаврилин, Л.С. Ушакова // Хим.-фармац. журн. – 1996.-Т.30,№ 4.-С.43-46.
63. Коненков, В.И. Протективные функции лимфатической системы / В.И. Коненков // Бюллетень СО РАМН. - 2007. - №2(124). – С. 60-65.
64. Куркин, В.А. Расторопша пятнистая – источник лекарственных средств (обзор) / В.А. Куркин // Хим.-фармац. журнал. – 2003. - Т.37, №4.- С. 27-41.
65. Лабораторные методы исследования в клинике; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина.-1987.-123 с.
66. Лемешко, В.В. Ферменты антиоксидантной системы печени крыс при старении /В.В. Лемешко, Ю.В. Никитченко, П.А. Калиман // Укр. биохим. журн.- 1982.- Т. 55, № 5. – С. 523-528.
67. Леонова, М.В. Новые лекарственные формы и системы доставки ЛС / М.В. Леонова //Лечебное дело. - 2009.- №2.- С.21-25.
68. Лесиовская, Е.Е. Фармакотерапия с основами фитотерапии / Е.Е. Лесиовская, Л.В. Пастушенков.- М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003.-592 с.
69. Лозинский, Е.Ю. Особенности клинической фармакологии детского возраста / Е.Ю. Лозинский, Е.В. Елисева, И.И. Шмыкова // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2005. №3. С.14-18.

70. Лопаткина, Т.Н. Поражение почек при хронических заболеваниях печени / Т.Н.Лопаткина, Т.Н. Краснова // Клиническая гепатология. – 2006. -№ 3.- С. 15-21.
71. Максименков, А.Н. Хирургическая анатомия живота / А.Н. Максименков. – Л., 1972. – 684с.
72. Максимова, Т.А. Еще раз об антиоксидантной терапии / Т.А. Максимова // Наука и жизнь. - 2001. -№2. С. 52-56.
73. Маммаев, С.Н. Гепаторенальный синдром 1 и 2 типа: современное состояние проблемы / С.Н. Маммаев, А.М. Каримова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. - №6. – С. 4-14.
74. Маняхин, А.Ю. Шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis* Georgi) на юге Приморского края : интродукция, состав флавоноидов, биологическая активность: автореф...канд. биол. наук: 03.02.14 / Маняхин Артем Юрьевич- Владивосток, 2010.-27 с.
75. Матвеев, А.В. Гепатопротекторы. Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2013. – 384 с.
76. Мембраностабилизирующее действие биофлавоноидов при остром алкогольном отравлении у крыс / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, Л.А. Саджая и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармац. продукции: сб. науч. тр. / Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2006. - Вып.61,—С. 382-383.
77. Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков. - Новосибирск: АР-ТА. -2008. - 284 с.
78. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков. - М.: «Слово». - 2006 - 556с.
79. Метод определения активности каталазы /М.А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. - № 1. – С. 16 – 19.
80. Методы биохимических исследований / под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – 272 с.
81. Методы исследований в профпатологии (биохимические) / под ред. О.Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988. – 208 с.
82. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников / А.Г. Кочетов, О.В. Лянг., В.П. Масенкой др. – М.: РКНПК, 2012. – 42 с.
83. Мещинен, И.Ф. Влияние этония на состояние глутатионовой системы печени при токсическом гепатите./ И.Ф. Мещинен// Фармакология и токсикология. - 1989.- №3.- С.80-82.
84. Мирсаев, Т.Р. Изучение гепатопротекторной активносит оксиметилурацила в эксперименте / Т.Р. Мирсаев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. №5. – С. 508-510.

85. Морозов, С.Ю. Гепатопротекторы в практике врача–клинициста / С.Ю. Морозов // / Русский Медицинский журнал. – 2009. № 25.
86. Мочевой синдром при циррозе печени / О.В. Чумакова [и др.] // Медицинский научный и учебно-методический журнал. – 2002.- №8. – С. 82-90.
87. Мубаракшина, О.А. Гепатопротекторы: сравнительная характеристика и аспекты клинического использования / О.А. Мубаракшина // Медицинский вестник, 2008. – № 34.- С. 12-21.
88. Николаев, С.М. Общие закономерности в механизме действия фитопрепаратов, содержащих вещества фенольной природы / С.М. Николаев // Экол. патология и ее фармакокоррекция. – Чита, 1991. – С. 58.
89. Новиков, Д.А. Статистические методы в медико-биологическом эксперименте (типовые случаи) / Д.А. Новиков, В.В. Новочадов. - Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 84с.
90. Олейников, Д.Н. Разработка технологии получения экстракта подорожника большого сухого / Д.Н. Олейников, Л.М. Танхаева // Химия растительного сырья. – 2006. -№ 1. – С.49-54.
91. Олейников, Д.Н. Фенольные соединения шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) / Д.Н. Олейников, Н.К. Чирикова, Л.М. Танхаева // Химия растительного сырья. – 2009. - № 4. – С.89-98
92. Осипов, А.Н. Активированные формы кислорода: роль в организме /А.Н. Осипов, О.А. Азизова, Ю.А. Владимиров //Успехи биол. химии. 1990. - Т. 31. - С. 180-208.
93. Основные тенденции в создании лекарственных средств на основе соединений из растений / В.И. Литвиненко [и др.] // Фитотерапия. – 2012. - № 2. – С.59-62.
94. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г.И. Клебанов [и др.] // Лаб. дело.- 1988.- №5.- С.59-62.
95. Оценка подлинности растительных экстрактов как сырья для БАД. *Scutellaria baicalensis* Georgi - шлемник байкальский / Е.Л. Комарова, К.И. Эллер, А.М. Власов и др. // Рынок БАД.-2006.-№1(27).-С.38-39.
96. Пальцев, М. А. Патологическая анатомия: учеб. для студ. мед. вузов. М.: Медицина, 2001. - 321 с.
97. Пат. 2353620 Российская Федерация, МПК C07D 413/06. (Z)-Метил-16-(5-оксо-2-фенилоксазол - 4 -илиденметил) - 15, 16-эпокси-8 (17), 13 (16), -14-лабдатриен-18-оат, обладающий антиоксидантной, гепатопротекторной и гемостимулирующей активностью/ Харитонов Ю.В., Шульц Э.Э., Сорокина И.В. и др.; заявитель и патентообладатель Новосиб. институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН. - № 2007132037/04; заявл. 23.08.2007; опубл. 27.04.2009, Бюл. №12. – 9 с.
98. Патогенетические основы профилактики дисрегуляционных токсических поражений / А.П. Власов [и др.] // Вестник Роздравнадзора. – 2011.- №1. С.60-64.

99. Перекисное окисление липидов и гепаторенальные повреждения у крыс при воздействии стойких загрязнителей / В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев, Д.М. Галимов и др. // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 10. – С. 137–139.
100. Пиманов, С.И. Гепаторенальный синдром / С.И. Пиманов // *Гастроэнтерология*. 2005. - №1. – С. 12-20.
101. Пиманов, С.И. Новая концепция гепаторенального синдрома / С.И. Пиманов // *Гастроэнтерология*. – 2008. № 8. С. 67-72.
102. Платонов, А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. – М.: Издательство РАМН, 2000. – 52 с.
103. Полунина, Т.Е. Комплексная терапия вирусных гепатитов / Т.Е. Полунина // *Лечащий врач*. – 2005. - №9. – С. 5-10.
104. Полусинтетический флавоноид шлемника байкальского как средство повышения эффективности химиотерапии экспериментальных опухолей / В.И. Литвиненко [и др.] // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 1998. - № 2. – С. 54-56.
105. Потапович, А.И. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств и цитопротекторной активности флавоноидов / А.И. Потапович, В.А. Костюк // *Биохимия*. – 2003.-Т. 68, вып. 5. – С.632-638.
106. Природные циклические олигосахариды – циклодекстрины, в системах доставки лекарств / П.Ю. Федорова, Р.К. Андерсон, Е.К. Алехин и др. // *Медицинский Вестник Башкортостана*. -2011. № 4.- С.125-131.
107. Разработка систем трансдермальной доставки биофлавоноидов рутина и силимарина / Е.А. Друзь, Т.В. Александрова, Н.Д. Лужнов и др. // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. - 2010. №5. – С.46-51
108. Регистр лекарственных средств России. РЛС Энциклопедия лекарств. – 19-й вып./Гл. ред. Г.Л. Вышковский.-М.: «РЛС-МЕДИА», 2011. - 1368 с.
109. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под общей редакцией А.Н. Миронова. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
110. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей редакцией Р. У. Хабриева.- М.: Медицина, 2005.- 832 с.
111. Савилов, Е.Д. Эпидемиологический анализ: Методы статистической обработки материала / Е.Д. Савилов, В.А. Астафьев, С.Н. Жданова, Е.А. Заруднев. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156 с.
112. Сайфутдинов, Р.Р. Влияние экстракта шлемника байкальского на процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга крыс при гипоксии / Р.Р. Сайфутдинов // *Труды молодых ученых Института фармакологии ТНЦ РАМН*. – Томск, 1995. – С.29-31.

113. 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. 8. – С. 67 – 75.
114. Сернов, Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. — М., 2000. — 352 с.
115. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
116. Состояние системы глутатиона и перекисного окисления липидов в тканях печени и почек крыс при острых отравлениях циклоффаном / В.А. Кашуро, А.И. Карпищенко, С.И. Глушков и др. // Нефрология. -2006. -Т.10, №2. - С.81-85.
117. 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.
118. Сравнительное изучение гепатозащитного действия индивидуальных и суммарных флавоноидов из кожуры цитрусовых / Е.Г. Доркина, М.Р. Хочава, Э.Т. Оганесян и др. // Регион, конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров (56; Пятигорск): материалы...- Пятигорск; Пятигорская ГФА, 2001.- С.189-191.
119. Сравнительное изучение эффективности гепатозащитного действия флавоноидов диосмина и флавонона гесперидина при отдельном и сочетанном применении у крыс с СС14-гепатозом / Е.Г. Доркина, З.С. Агаджанян, Е.О. Паукова и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр.- Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2004. - Вып. 59.-С. 266-268.
120. Строев, Е.А. Практикум по биологической химии / Е.А. Строев, В.Г. Макарова.– М: Высш. шк., 1986. – 231 с.
121. Тареев, Е.М. Клиническая нефрология / Е.М. Тареев. – М., Медицина, 1983.- 880с.
122. Творогова, М.Г. Диагностически значимые уровни холестерина в сыворотке крови: современная точка зрения / М.Г. Творогова //Лабораторная медицина. – 2002. – №5. – С. 20–23.
123. Ткач, С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины / С.М. Ткач // Здоровье Украины.- 2009. – №6 – С. 7–10.
124. Универсальные структурные маркеры гепатотоксического воздействия лекарственных препаратов / Г.И. Непомнящих, Г.А. Дюбанова, Д.Л. Непомнящих и др. // Бюллетень СО Рамн. – 2008. - № 6(134). – С.86-93.
125. Фармакокинетика и фармакодинамика ингибиторов АПФ / Новиков И.Н.[и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2007. – Т.5, № 5. – С.43-48.

126. Фармакотерапевтическая эффективность растительных экстрактов при экспериментальном повреждении печени / Т.А. Ажунова, С.В. Лемза, А.О. Занданов и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010.-№3(73). – С.193-198.
127. Физиология почки и водно-солевого обмена / под ред. Ю.В. Наточина – СПб., 1993. – 416с.
128. Хаитов, Р.М. Особенности организации и функционирования иммунной системы желудочно-кишечного тракта и заболевания, связанные с нарушениями ее функционирования / Р.М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Анналы хирургической гепатологии.- 1998. - Т3, № 1. - С. 112-116.
129. Хирургия печени и желчевыводящих путей. А.А Шалимов, С.А. Шалимов, М.Е. Ничитайло и др. – Киев, 1993. – 232с.
130. Хобракова, В.Б. Экспериментальные вторичные иммунодефицитные состояния и их фармакотерапия растительными средствами: автореф. д-ра биол. наук / В.Б. Хобракова. – Благовещенск, 2012. – 44 с.
131. Хочава, М.Р. Антиоксидантные и гепатозащитные свойства флавоноидов цитрусовых / М.Р. Хочава, Е.Г. Доркина, Э.Т. Оганесян // Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины; материалы Рос. конф. молодых ученых России с междунар. участием (2; 24-28 апреля 2001 г; Москва). - М., 2001. - Т.2. С. 250.
132. Хроматография в медицине и биологии: учебное пособие / А.В. Буланова, Ю.Л. Полякова; Федер. агентство по образованию. – 2-е изд. - Самара: Изд-во «Самарский университет», 2006. - 116 с.
133. Чирикова, Н.К. Определение количественного содержания флавоноидов в надземной части шлемника байкальского / Н.К. Чирикова, Д.Н. Олейников, Л.М. Танхаева // Химия растительного сырья. – 2009. - № 4. – С.99-105.
134. 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.
135. Шлемник байкальский. Фитохимия и фармакологические свойства / Е.Д. Гольдберг [и др.] Томск, 1994.- 222 с.
136. Шулутко, Б.И. Болезни печени и почек / Б.И. Шулутко.— СПб. : Изд-во Санкт-Петербургского санитарно-гигиенического мединститута, 1993.- 480с.
137. Шульпекова, Ю.О. Лекарственные поражения печени /Ю.О. Шульпекова // Здоровье Украины. – 2010. - №8. – С.24-25.
138. Щекатихина, А.С. Гепатопротекторные свойства флаволигнанов // Труды Белорусского госуниверситета. — 2009. — Т. 4, № 1. — С. 27 – 48.

139. Экспериментальное исследование токсического действия циклоплатамы на почки и печень / В.М. Абаев [и др.] // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2000. – Т.11, № 3. – С.43-45.
140. A cyclodextrin formulation to improve use of the anesthetic tribromoethanol (Avertin®) / A. McDowell, J. A. Fothergill, A. Khan et al. // *Pharm. Bioallied Sci.* – 2014.-№6(1).-P.16–21.
141. A Randomized, Prospective, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Terlipressin for Type 1 Hepatorenal Syndrome / A.J. Sanyal, T. Boyer, G. Garcia-Tsao et al. // *Gastroenterology.* – 2008. - №134. - P. 1360–1368.
142. Abe, K.I. Biliary excretion of metabolites of baicalin in rats / K.I. Abe, O. Inoue, E. Yumioka// *Chemical and Pharmaceutical Bulletin.* - 1990. - №38(1).-P. 208–211.
143. Acetaminophen-induced liver damage in mice: effects of some medicinal plants on the oxidative defense system / M.T. Olaleye [et al.] // *Experimental and Toxicologic Pathology.* – 2008. - Vol. 59, № 5. - P. 319–327
144. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification / A. Pastore [et al.] // *Clinica Chimica Acta.* – 2003. - Vol. 333, №. 1-2. - P. 19–39.
145. Anti-Bladder-Tumor Effect of Baicalein from *Scutellaria baicalensis* Georgi and Its Application In Vivo / J.Y. Wu, K.W. Tsai, Y.Z. Li et al. // *Evid. Based Complement Alternat. Med.* – 2013.- №10.-P.25-31.
146. Antihyperglycemic effect of the traditional Chinese scutellaria-coptis herb couple and its main components in streptozotocin-induced diabetic rats / Liu S.Z., Deng Y.X., Chen B. et al. // *J. Ethnopharmacol.* - 2013. - №145(2).- P.490-498.
147. Anti-inflammatory activity of verminoside from *Kigelia africana* and evaluation of cutaneous irritation in cell cultures and reconstituted human epidermis / P. Picerno [et al.] // *Journal of Natural Products.* -2005. - Vol. 68, № 11 - P. 1610–1614.
148. Antioxidant activity and hepatoprotective property of leaf extracts of *Boerhaavia diffusa* Linn against acetaminophen-induced liver damage in rats / M.T. Olaleye [et al.] // *Food and Chemical Toxicology.* -2010. - Vol. 48, № 8-9. - P. 2200–2205.
149. Antioxidant Activity of Flavones from *Scutellaria baicalensis* in Lecithin Liposomes / J. Gabrielska, J. Oszmiaskib, R. Zylka et al. // *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung.* – 1997. - № 52. – P. 817-823.
150. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups / Chen Z.Y. [et al.] // *Chemistry and Physics of Lipids.* - 1996. – Vol.79, № 2. – P.157–163.

151. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase / Nagata H. [et al.] //The Tokai journal of experimental and clinical medicine. – 1999. - Vol.24, №1. - P.1-11.
152. Antioxidative activity of natural products from plants / Ng TB [et al] // Life Sci. – 2000. Vol. 14, № 66(8). - P.709-723.
153. Antioxidative and anti-inflammatory activities of polyhydroxyflavonoids of *Scutellaria baicalensis* Georgi / W.H. Huang, A.R. Lee, C.H. Yang et al. // Biosci. Biotechnol. Biochem.- 2006.- №70(10).- P.2371-2380.
154. Anti-pruritic effect of baicalin and its metabolites, baicalein and oroxylin A, in mice / H. Trinh, E. Joh, H. Kwak et al. // Acta Pharmacologica Sinica. -2010. - №31.- P.718–724.
155. Arivarasu N.A. Oral administration of potassium dichromate inhibits brush border membrane enzymes and alters anti-oxidant status of rat intestine / N.A. Arivarasu, S. Fatima, R. Mahmood // Arch. Toxicol. – 2008.- №82(12).- P. 951-958.
156. Arroyo, V. Hepatorenal Syndrome in Cirrhosis: Pathogenesis and Treatment / V. Arroyo, M. Guevara, P. Ginis // J. Gastroenterology. – 2002. –№122. – P.1658-1676.
157. Baicalein attenuates oxidant stress in cardiomyocytes / Z.H. Shao, T.L. Vanden, Y. Qin et al. // American J. Physiol. Heart Circ. Physiol.-2002.-№282.-P.999–1006.
158. Baicalein Inhibits the Invasion and Metastatic Capabilities of Hepatocellular Carcinoma Cells via Down-Regulation of the ERK Pathway / K. Chen, S. Zhang, Y. Ji et al. // Plosone.- 2013.-№9. - DOI: 10.1371/journal.pone.0072927.g004.
159. Baicalein Reduces the Invasion of Glioma Cells via Reducing the Activity of p38 Signaling Pathway / Z. Zhang, J. Lv X. Lei et al. // Plosone. - 2014. - №4. - DOI: 10.1371/ journal.pone.0090318.
160. Baicalein, a Bioflavonoid, Prevents Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury by Up-Regulating Antioxidant Defenses and Down-Regulating the MAPKs and NF- κ B Pathways / B.D. Sahu [et al.] // PLoS One. – 2015. - №10 (7). - P.200-209.
161. Barbier, O. Molecular mechanisms of fluoride toxicity / O. Barbier, L. Arreola-Mendoza, L. Del-Razo // Chem. Biol. Interact. – 2010. - №188. - P. 319–333.
162. Bartels, H. The determination of creatinine /H. Bartels //Clin. Chim. Acta.-1972.- vol.37.-P.193.
163. Baver, P. Determination of calcium / P. Baver // Anal. Biochem.- 1981.- №110.- P. 61.
164. Beal, M.F. Oxidatively modified proteins in aging and disease / M.F. Beal // Free Radical Biology & Medicine. 2002. - Vol.32, № 9 - P. 797–803.
165. Bilberry extracts induce gene expression through the electrophile element / M. Myhrstad [et al.] // Nutr. Cancer. - 2006. - Vol.54, N.1. - P.94-101.

166. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies / M.D'Archivio, C. Filesi, R. Vari et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2010. - №11. P.1321-1342.
167. Biomonitoring of the adverse effects induced by the chronic exposure to lead and cadmium on kidney function: usefulness of alpha-glutathione S-transferase / G. Garcon, B. Leleu, T. Marez et al. // *Sci. Total Environ.* - 2007. - №377. – P.165-172.
168. Bisen, P.S. *Emerging Epidemics Management and Control* / P.S. Bisen, R. Raghuvanshi. - Wiley Blackwell, 2013. - P.527-530.
169. Bors, W. Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and galate esters / W. Bors, C. Michel, K. Stettmaer // *Arch. Biochem. Biophys.* - 2000. - Vol.374, N.2. - P.347-355.
170. Brai, B.I. Hepatoprotective Properties of Aqueous Leaf Extract of *Persea Americana*, Mill (Lauraceae) 'Avocado' Against CCL4-Induced Damage in Rats / B.I. Brai, R.A. Adisa, A.A. Odetola // *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.* – 2014. - №11(2). P. 237-244.
171. Briglia, A.E. Hepatorenal syndrome Definition, pathophysiology, and intervention / A.E. Briglia, Anania F.A. // *J. Crit Care Clin.* – 2002. – Vol. 49, № 18. – P. 345– 373.
172. Characterization of Chemical Constituents in *Scutellaria baicalensis* with Antiandrogenic and Growth-Inhibitory Activities toward Prostate Carcinoma / M. Bonham [et al.] // *Cancer Therapy: Preclinical*. - 2005. - №11. - P.3905-3916.
173. Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes / R. Singh, N. Bharti, J. Madan et al. // *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. - 2010. - Vol. 2 (3). - P.171-183.
174. Cherniack, E.P. A berry thought-provoking idea: the potential role of plant polyphenols in the treatment of age-related cognitive disorders / E.P. Cherniack // *British Journal of Nutrition*. - 2012. - №108. - P.794–800.
175. Chronic hepatitis B serum promotes apoptotic damage in human renal tubular cells / C.L. Deng, X.W. Song, H.J. Liang et al. // *World Journal of Gastroenterology*. - 2006. - №12(11). – P.1752-1756.
176. Combination of Baicalein and Amphotericin B Accelerates *Candida albicans* Apoptosis / Z.J. Fu, H. Lu, Z. Zhu et al. // *Biol. Pharm. Bull.* - 2011. - №34(2). - P.214—218.
177. Comparative Pharmacokinetics of Baicalin, Wogonoside, Baicalein and Wogonin in Plasma after Oral Administration of Pure Baicalin, *Radix Scutellariae* and *Scutellariae-Paeoniae* Couple Extracts in Normal and Ulcerative Colitis Rats / Z.Q. Zhang [et al.] // *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. – 2013. - №12 (3). – P. 399-409.
178. Comparative proteomics of kidney samples from puffer fish *Takifugu rubripes* exposed to excessive fluoride: An insight into molecular response to fluorosis / J. Lu, H. Chen, Q. Xu et al. // *Toxicol. Mech. Methods*. - 2010. - №20. – P. 345–354.

179. Cooperative Binding of Cyclodextrin Dimers to Isoflavone Analogues Elucidated by Free Energy Calculations / H. Zhang, T. Tan, C. Hete et al. // *The Journal of Physical Chemistry*.- 2014.- №118.- P.7163-7173.
180. Cushnie, T. Antimicrobial activity of flavonoids / T. Cushnie, A.J. Lamb // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2005.- №26.-P.343–356.
181. Cuthbert, J. A. Hepatitis A: Old and New / J.A. Cuthbert // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2001. -№14(1). – P.38-45.
182. Cyclodextrin and Polyethylenimine Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles for Delivery of siRNA Cancer Therapeutics / J. Shen, H.C. Kim, H. Su et al. // *Theranostics*.- 2014.- Vol. 4, №5.-P.487-498.
183. Dai, Y. Cytotoxicity of acetaminophen in human cytochrome P4502E1-transfected HepG2 cells / Y. Dai, A. I. Cederbaum // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1995. - №273. – P.1497—1505.
184. Das, N. P. Studies on Flavonoid Metabolism. Metabolism of (+)-14C]catechin in the rat and guinea pig / N. P. Das, L. A. Griffiths // *Biochem. J.* -1969.- №115.- P. 831-837.
185. Degradation of flavonoid aglycones by rabbit, rat and human fecal flora / Y.T. Lin [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* - 2003. - Vol.26, N.5. - P.747 - 751.
186. Determination of activity γ -glutamyltransferase in blood serum / G. Szasz, J.P. Persijn, Z. Klin et al. // *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*- 1974.- vol.12.- P.228.
187. Dissolution Rate Enhancement of Poorly Soluble Gliclazide by Complexation with Hydroxy Propyl B Cyclodextrin / G.S. Sharma, M.V. Srikanth, S.A. Sunil et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2011.- Vol. 2, №3. - P.814-824.
188. Dumas, B.T. The determination of albumin / B.T. Dumas // *Clin.Chim.Acta.* – 1971.- vol. 31. - P.87.
189. Draft Genome Sequences of *Vibrio* sp. Strains Isolated from Tetrodotoxin-Bearing Scavenging Gastropod / T. Kudo, K. Sakamoto, M. Akinaga et al. // *Genome Announc.*- 2014.-№19(3).- P.75-83.
190. Dubey, S.K. Hepatoprotective activity from ethanol fraction of *Thuja occidentalis* Linn / S.K. Dubey, A. Batra // *Asian J. Research. Chem.* - 2008. - Vol.1, №1. - P.32-35.
191. Effect of lead and ethanol, consumed by pregnant rats, on behavior of their grown offsprings / R. Brus, R. Szkilnik, P. Nowak et al. // *J. Pharmacology Reviews and Communications*. – 1999. - №10. – P. 175–186.
192. Effect of taurine on toxicity of cadmium in rats / D.F.Hwang [et al.] // *Toxicology*. – 2001. - №167. – P.173–80.

193. Effects of lead on Na(+)-K(+)ATPase and Ca(+2) ATPase activities and lipid peroxidation in blood of workers / J. Ponce-Canchihuaman, G. Yucebilgic, R. Bilgin et al. // *Int. J. Toxicol.* - 2010. - №22. - P. 95-97.
194. Enzymatic Determination of Sodium in Serum. N.N. Berry, R.D. Mazzachl, N. Peakovic et al. // *Clin. Chem.* - 1988. - № 34/11. - P. 2294-2298.
195. Enzymatic detoxication, conformational selection, and the role of molten globule active sites / M.T. Honaker [et al.] // *J Biol Chem.* - 2013. - № 288(25). P. 18599-18611.
196. Eruca sativa seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity/A.M. Sarwar [et al.] // *Food Chem Toxicol.* - 2007. - №45. - P.910-920.
197. Evaluation of total oxidative status and total antioxidant capacity in patients with endemic fluorosis / E. Varol, A. Icli, F. Aksoy // *Toxicol. Ind. Health.* - 2013. - №29. - P. 175-180.
198. Flavonoids can replace alpha-tocopherol as an antioxidant / van Acker F.A. [et al.] // *FEBS Lett.* - 2000. - Vol.12, №473(2). - P.145-148.
199. Flavonoids Identified from Korean *Scutellaria baicalensis* Georgi Inhibit Inflammatory Signaling by Suppressing Activation of NF- κ B and MAPK in RAW 264.7 Cells / G.E. Hong, J.A. Kim, A. Nagappan et al. // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* - 2013. №11. - P.11-21.
200. Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the gamma-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter / Myhrstad M.C. [et al.] // *Free Radic Biol Med.* - 2002. - Vol.1, №32 (5). - P. 386-393.
201. Flood K.G. Prevention of cholesterol gallstone formation in the hamster by b-cyclodextrin / K. G. Flood, E. R. Reynolds, N. H. Snow // *J. Chromatogr.* - 2000. - № 903(1-2). - P. 49 - 65.
202. Fossati, P. The determination of uric acid / P. Fossati // *Clin.Chem.* - 1980. - vol.26/2. - P.227.
203. Genotoxic and antigenotoxic properties of *Baccharis trimera* in mice / C. R. F. Rodrigues [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology.* 2009. - Vol. 125, № 1. - P. 97-101.
204. Gonwa, T. A. Kidney Disease in the Setting of Liver Failure: Core Curriculum 2013 / T. A. Gonwa, H. M. Wadei // *American Journal of Kidney Diseases.* - 2013. - Vol. 62, №6. - P. 1198-1212.
205. Grant C.M. Differential protein S-thiolation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase isoenzymes influences sensitivity to oxidative stress / C.M. Grant, K.A. Quinn, I.W. Dawes // *Mol. Cell. Biol.* - 1999. - №19(4). - P.2650-2656.
206. Grover, P.L. Glutathione-S-transferases in detoxication ./ P.L. Grover // *Biochim. Soc. Trans.* - 1982. - Vol.10, №5. - P. 80 - 82.
207. Harborne, J. B. The Flavonoids: Advances in Research Since 1986 / J. B. Harborne // *J. Chem. Educ.* - 1995. - №72(3). - P.73-79.

208. Helen. A.S. Flavonoid metabolism / A.S. Helen. CRC Press., 1990. 344c. ISBN 0-8493-6085-4.
209. Henry, R.J. Clinical Chemistry, Principles and Techniques / R.J. Henry. - 2nd Edition. Harper and Row.-1974. - P.525.
210. Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway / P. He, D. Zhang, H. Li et al. // International Journal of Molecular Medicine. – 2013.- №31. – P.1017-1029.
211. Hepatitis C, HCV genotypes and hepatic siderosis in patients with chronic renal failure on haemodialysis in Brazil / K.P. Farah, R.A. Carmo, C.M. Figueiredo-Antunes et al. // Nephrol. Dial. Transplant. – 2007. - №22. – P.2027–2031.
212. Hepatoprotective effect of baicalin, a major flavone from *Scutellaria radix*, on acetaminophen-induced liver injury in mice / J.Si [et al.] // Immunopharmacol Immunotoxicol.- 2003.-№25(4).- P.85-94.
213. Hepatoprotective effect of silymarin / N. Vargas-Mendoza, E. Madrigal-Santillan, A. Morales-Gonzalez et al. // World J. Hepatol. – 2014.-№6(3).- P.144-149.
214. Hepatoprotective effects of baicalein against CCl₄-induced acute liver injury in mice / H.L. Huang, Y.J. Wang, Q.Y. Zhang et al. // World J. Gastroenterol.- 2012.- №18(45).-P.6605-6613.
215. Hepatoprotective effects of taurine against mercury induced toxicity in rats /G. Jagadeesan [et al.] // J Environ Biol. -2007. - № 28. – P.753–756.
216. Kumari, A. Lupeol prevents acetaminopheninduced in vivo hepatotoxicity by altering the Bax/Bcl-2 and oxidative stress-mediated mitochondrial signaling cascade / A. Kumari, P. Kakkar // Life Sciences. – 2012. - Vol. 90, № 15-16. P. 561–570.
217. Higushi, T. Phase-solubility techniques // T. Higushi, K. Connors // Adv. Anal. Chem. Ind. – 1965. – Vol.4, №5, - P. 117-212.
218. Hillmann, J. The determination of sodium / J. Hillmann // J. Clin.Chem. and Clin. Biochem. – 1967. - Vol.5. - P.93.
219. Human metabolic pathways of dietary flavonoids and cinnamates / G. Williamson [et al.] // Biochem. Soc. Trans. - 2000. - Vol.28, №.1. - P.16-22.
220. Hussein, R.H. The protective role of ellagitannins flavonoids pretreatment against N-nitrosodiethylamine induced-hepatocellular carcinoma / R.H. Hussein, F.K. Khalifa // Saudi J. Biol. Sci. – 2014.- №21(6).-P.589-596.
221. Immune response to HBsAg and the spectrum of liver lesions in HBsAg-positive patients with chronic renal disease /R.M. Galbraith, N.E. Sheikh, B.Portmann et al. // British Medical Journal. – 1976. - №19. P. 1495-1498.

222. In Vitro Antileukemic, Antioxidant and Prooxidant Activities of Antoksyd S (C/E/XXI): a Comparison with Baicalin and Baicalein / E. Ciesielska, M. Wolszczak, B. Gulanowski et al. // *In vivo*.- 2004.-№18.-P.497-504.
223. Influence of Aroclor 1254, phenobarbital, beta-naphthoflavone, and ethanol pretreatment on the biotransformation of cyclophosphamide in male and female rats / P.J. Sessink [et al.] // *Toxicology*.- 1996(2).- P.141–150.
224. Influence of timing of administration of liposome-encapsulated superoxide dismutase on its prevention of acetaminophen-induced liver cell necrosis in rats / D. Nakae, H. Yoshiji, K. Yamamoto et al. // *Acta Pathol. Jpn.* – 1990. - №40. – P. 568—573.
225. Intestinal Transport of Quercetin Glycosides in Rats Involves Both Deglycosylation and Interaction with the Hexose Transport Pathway / J. M. Gee, M. S. DuPont, A. J. Day et al. // *J. of Nutrition*.- 2000.- №5.-P.2765-2773.
226. Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites / J.P.E. Spencer [et al.] // *Biochem. J.* - 2003. - Vol.372, Pt.1.- P.173-181.
227. Iron overload-induced rat liver injury: Involvement of protein tyrosine nitration and the effect of baicalin / Y.Zhang, Y.Huang, X .Deng et al. // *Eur. J. Pharmacol.*- 2012.-№6.- P.95-101.
228. Isis, M. The Golden Root: Clinical Applications of *Scutellaria baicalensis* Georgi flavonoids as Modulators of the Inflammatory Response / M. Isis // *Alternative Medicine Review*.-1997.- Vol.2,№6.-P.1452-1468.
229. Isolation and characterization of a co-producer of fengycins and surfactins, endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2, from *Scutellaria baicalensis* Georgi / L. Sun, Z. Lu, X. Bie et al. // *World J. Microbiol. Biotechnol.* -2006.-№22. P.1259–1266.
230. Kiser, T. H. Hepatorenal syndrome / T. H. Kiser // *International Journal of Clinical Medicine*. – 2014. –№ 5. – P. 102-110.
231. Knedel, M.A. Kinetic method for determination of the activity of pseudocholinesterase / M.A. Knedel, R. Bottger // *Klin. Wschr.* – 1967.- №45.- P.325.
232. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol / M. M. Brzoska, J. Moniuszko-Jakoniuk, B. Pilat-Marcinkiewicz et al. // *Alcohol and Alcoholism*. – 2003. - Vol. 38, №1. – P. 2–10.
233. Loftsson, T. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications / T. Loftsson, D. Duchene // *International Journal of Pharmaceutics*.- 2007.-№329.-P.1–11.
234. Lu C.M. Determination and Pharmacokinetic Study of Gentiopicroside, Geniposide, Baicalin, and Swertiamarin in Chinese Herbal Formulae after Oral Administration in Rats by LC-MS/MS / C.M. Lu, L.C. Lin, T.H. Tsai // *Molecules*. – 2014. - № 19. – P. 21560-21578; doi:10.3390/molecules191221560.

235. Mannervik, B. Five decades with glutathione and the GSTome / B. Mannervik // *J Biol Chem.* – 2012. - № 287(9). – P. 6072-6083.
236. Measurement of kidney function / L.A. Stevens [et al.] // *Med Clin North Am.* – 2005. - № 89(3). – P.457–73.
237. Melatonin attenuates acute renal failure and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats / M. Nava [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2000 - № 279.- P.8.
238. Miller, G.L. Protein determination for barge numbers of samples / G.L. Miller // *Anal. Chem.* – 1959. – Vol. 35, №5. P. 964-966.
239. Modified b-Cyclodextrin Inclusion Complex to Improve the physicochemical Properties of Albendazole. Complete In Vitro Evaluation and Characterization / A. Garcia, D. Leonardi, M.O. Salazar et al. // *Plosone.*- 2014.-№4. DOI:10.1371/journal.pone.0088234.
240. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids / A. Arora [et al.] // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 2000. - Vol. 01. – P. 102-109.
241. Montgomery, R. Determination of glycogen / R. Montgomery // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1957. - Vol. 67, №2. – P. 378.
242. Moller, S. Kidney injury in cirrhosis: Pathophysiological and therapeutic aspects of hepatorenal syndromes / S. Moller, A. Krag, F. Bendtsen . - 2014. – P.27.
243. Nafiu, M.O. Effect of aqueous extract of *Cochlospermum planchonii* rhizome on some kidney and liver functional indices of albino rats / M.O. Nafiu, M. A. Akanji, M. T. Yakubu // *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.* – 2011. Vol. 8, №1. – P.22-26.
244. Nagayama N. Secular increase in the incidence rate of drug-induced hepatitis due to antituberculosis chemotherapy including isoniazid and rifampicin / N. Nagayama, M. Masuda, M. Baba // *Kekkaku.* – 2003. – Vol.78. – P.339-46.
245. Ncube, N. S. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends / N.S. Ncube, A.J. Afolayan, A.I. Okoh // *African Journal of Biotechnology.*- 2008.- Vol.7 (12).- P.1797-1806.
246. Nephro-protective significance of kaempferol on mercuric chloride induced toxicity in Wistar albino rats / S. Vijayaprakash [et al.] // *Biomedicine and Aging Pathology.* – 2013. - № 3. – P. 119–124.
247. Nannenbruch, W. Das hepatorenal Syndrom / W. Nannenbruch // *Verh. Dtsch. Inn. Med.* – 1939. – Vol. 51. – P. 341–358.
248. Olszewska, Z.B. Come Back to Root – Therapeutic Activities of *Scutellaria baicalensis* Root in Aspect of Innate Immunity Regulation – Part I / Z.B. Olszewska, E.L. Zarawska // *Adv. Clin. Exp. Med.*- 2008.-№17.-P.337–345.

249. Oral exposure of Kunming mice to diisononyl phthalate induces hepatic and renal tissue injury through the accumulation of ROS. Protective effect of melatonin / Ping Ma, Biao Yan, Qiang Zeng, Xudong Liu et al. // *Food and Chemical Toxicology*. – 2014. – Vol.46, №5. – P.10-20.
250. Oroxylin A induces dissociation of hexokinase II from the mitochondria and inhibits glycolysis by SIRT3-mediated deacetylation of cyclophilin D in breast carcinoma / L. Wei, Y. Zhou, Q. Dai et al. // *Citation: Cell Death and Disease*.-2013.-№ 4.-P.601-612.
251. Pierce, S. Glutathione peroxidase activities from rat liver / S. Pierce, A.L. Tappel // *Biochim. et biophys. Acta*. - 1978. - Vol. 523, № 1. – P. 27 – 36.
252. Polyphenols and glutathione synthesis regulation / J. Moskaug [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* - 2005. - Vol.81, N.1.- P.277-283.
253. Pre-exposure to a novel nutritional mixture containing a series of phytochemicals prevents acetaminophen-induced programmed and unprogrammed cell deaths by enhancing BCL-XL expression and minimizing oxidative stress in the liver / S.D. Ray [et al.] // *Molecular and Cellular Biochemistry*.- 2006.- Vol. 293, № 1-2. - P. 119–136.
254. Prescott, L.F. Paracetamol: past, present and future / L.F. Prescott // *Am. J. Ther.*- 2000.-№ 7.- P.143—147.
255. Protective Effect of *Acacia nilotica* (L.) against Acetaminophen-Induced Hepatocellular Damage in Wistar Rats/ N. Kannan [et al.] // *Advances in Pharmacological Sciences*. 2013. - Vol. 13, № 987692. - P. 1-9.
256. Protective effect of *Asteracantha longifolia* extract in mouse liver injury by carbon tetrachloride and paracetamol / R.P. Hewawasam [et al.] // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2003. - Vol. 55, № 10. - P. 1413–1418.
257. Protective Effect of *Baccharis trimera* Extract on Acute Hepatic Injury in a Model of Inflammation Induced by Acetaminophen / B.C. Padua [et al.] // *Mediators of Inflammation*. 2014. – Vol. 14, №5. - P.1-14.
258. Protective Effect of Baicalin Against Carbon Tetrachloride–Induced Acute Hepatic Injury in Mice / S.W. Park, C.H. Lee, Y.S. Kim et al. // *Journal of Pharmacological Sciences*. – 2008.-№106.- P.136 – 143.
259. Protective effect of baicalin against lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced liver injury in mice by up-regulation of heme oxygenase-1/ J.Y. Wan, X. Gong, L.Zhang et al. // *Eur. J. Pharmacol.*- 2008.-.№10.-P.587-591.
260. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats / I. Karahan [et al.] // *Toxicology*. – 2005. - №215. – P.198–204.

261. Protective effects and mechanisms of Baicalin and octreotide on renal injury of rats with severe acute pancreatitis / X.P. Zhang, H.Tian, Y.H. Lai et al. // *World Journal of Gastroenterology*. – 2007.- №13(38). – P.5079-5089.
262. Protective Effects of a By-Product of the Pecan Nut Industry (*Carya illinoensis*) on the Toxicity Induced by Cyclophosphamide in Rats *Carya illinoensis* Protects Against Cyclophosphamide- Induced Toxicity / R.C.S. Barcelos [et al.] // *J of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. – 2010. - Vol.29. - P. 185-197.
263. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes / T.H.Tseng [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. 1997. -Vol. 35, № 12. - P. 1159–1164.
264. Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney / J.C. Ponce-Canchihuaman, O. Perez-Mendez, R. Hernandez-Munoz et al. // *Lipids in Health and Disease*. – 2010. - №9.- P.35-42.
265. Protective effects of flavonoids in the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HS-SY5Y cells / Z. Gao_[et al] // *Pharmacol Res*. – 2001. - № 43(2). - P.173-178
266. Purification and antioxidant activities of baicalin isolated from the root of huangqin (*Scutellaria baicalensis*) / L. Peng-fei, H. Fu-gen, D. Bin-bin et al. // *J. Food Sci. Technol*. -2013.- Vol.50, №3. – P.615–619.
267. Radi, A.E. Electrochemistry of Cyclodextrin Inclusion Complexes of Pharmaceutical Compounds /A.E. Radi, S. Eissa // *The Open Chemical and Biomedical Methods*.- 2010.- №3.- P.74-85.
268. Reduction of urate crystal-induced inflammation by root extracts from traditional oriental medicinal plants: elevation of prostaglandin D2 levels / S. M. Jung, H. R. Schumacher, H. Kim et al.// *Arthritis Research & Therapy*. – 2007.- Vol. 9, №4. – P.9-18.
269. Renal oxidant injury and oxidant response induced by mercury / K.A. Nath [et al.] // *Kidney Int*. – 1996. - № 50. - P. 1032–1043.
270. Role of *Tribulus terrestris* (Linn.) (Zygophyllacea) against mercuric chloride induced nephrotoxicity in mice / A.V. Kavitha [et al.] // *J Environ Biol*. – 2006. - № 27. – P.397–400.
271. Ross, J. A. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, And Safety / J. A. Ross, C. M. Kasum // *Annual Reviews Nutrition*. - 2002.- №22. P.19–34.
272. Runyon, B.A. Hepatorenal syndrome / B.A. Runyon // *Hepatology*. – 2013. – Vol. 49, № 6. – P. 107-131.
273. Scavenging effects of baicalin on free radicals and its protection on erythrocyte membrane from free radical injury / H. Shi [et al] // *Biochem Mol Biol Int*. – 1995. - № 35(5). - P.981-994.

274. *Scutellaria baicalensis* enhances the anti-diabetic activity of metformin in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats / Waisundara V.Y., Hsu A., Huang D. et al. // *Am. J. Chin. Med.* – 2008.- №36(3). –P. 517-40.
275. *Scutellaria* extract decreases the proportion of side population cells in a myeloma cell line by down-regulating the expression of ABCG2 protein / M.G. Lin, L.P. Liu, C.Y. Li et al. // *Asian Pac. J. Cancer Prev.*- 2013.-№14(12).- P.7179-86.
276. Sharma, M.C. Preparation, Physicochemical Characterization, Dissolution, Formulation and Spectroscopic studies of β -Cyclodextrins Inclusion Complex / M.C. Sharma, S. Sharma // *International Journal of ChemTech Research.*- 2011.- Vol.3, №1.- P.104-111.
277. Shashi, A. Study on blood biochemical diagnostic indices for hepatic function biomarkers in endemic skeletal fluorosis / A. Shashi, M. Bhardwaj // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2011. №143. – P. 803–814
278. Silymarin and vitamin E do not attenuate and vitamin E might even enhance the antiarrhythmic activity of amiodarone in a rat reperfusion arrhythmia model / I. Gyonos [et al.] // *Cardiovasc Drugs Ther.* – 2001. – Vol. 15. – P. 233-235.
279. Singla, S. In vivo Studies on the Protective Effect of Propolis on Doxorubicin-Induced Toxicity in Liver of Male Rats / S. Singla, N.R. Kumar, J. Kaur // *Toxicol. Int.* – 2014. - №21(2). P.191-195.
280. Sivaprasad, R. Combined efficacies of lipoic acid and 2, 3-dimercaptosuccinic acid against lead-induced lipid peroxidation in rat liver / R. Sivaprasad, M. Nagaraj, P. Varalakshmi // *J. Nut . Biochem.* – 2004. - №15. – P. 18-23.
281. Skoczynska, A. The effect of combined exposure to lead and cadmium on serum lipids and lipid peroxides level in rats/ A. Skoczynska, R. Smolik // *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health.*- 1994.- №7. - P. 263–271.
282. Slack, A. Renal dysfunction in chronic liver disease /A. Slack, A. Yeoman, J. Wendon // *Critical Care.* – 2010. – Vol. 62, № 14. – P. 1-10.
283. Spencer, J.P. Metabolism of tea flavonoids in the gastrointestinal tract / J.P. Spencer // *J. Nutr.* - 2003. - Vol.133, №10. - P.3255-3261.
284. Stefanovic, V. Analgesic nephropathy, Balkan endemic nephropathy: separate tubulointerstitial kidney diseases / Stefanovic V. [et al.] // *Medicine and Biology.* – 2002. - Vol.9, № 1. P. 1-6.
285. Stimulatory Effects of Silibinin and Silicristin from the Milk Thistle *Silybum marianum* on Kidney Cells / J. Sonnenbichler, F. Scalera, I. Sonnenbichler et al. // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.*-1999.- Vol. 290, №3.- P.1375-1383.
286. Structure-activity relationship of natural flavonoids in hydroxyl radical-scavenging effects / J.Chen, Z. Zhu, T. Hu et al. // *Acta Pharmacol Sin.* – 2002. - № 7. – P.667-672.

287. Study on protecting effects of Baicalin and Octreotide on hepatic injury in rats with severe acute pancreatitis / X.P. Zhang, J. Zhang, Z. Ren et al. // *World Journal of Gastroenterology*. – 2008. – №14(42). – P.6551-6559.
288. Study on vitamin cyclodextrin inclusion complex and analytical application / Zhenming D., Liu Xiuping, Zhang Guomei et al. // *Spectrochimica Acta, Part A* 59. - 2003. -P. 2073-2079.
289. Systematic review: renal and other clinically relevant outcomes in hepatorenal syndrome trials / P. Tandon, V. G. Bain, R. T. Tsuyuki et al. // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2007. – № 25. – P.1017–1028.
290. Szejtli, J. Past, present, and future of cyclodextrin research / J. Szejtli // *Pure Appl. Chem.* - 2004. - №76. - P.1825–1845.
291. Teixeira, S. Bioflavonoids: Proanthocyanidins and Quercetin and Their Potential Roles in Treating Musculoskeletal Conditions / S. Teixeira // *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*. - 2002. - Vol.32, №7. -P.357-368.
292. The Antiinflammatory and Analgesic Effects of Baicalin in Carrageenan-Evoked Thermal Hyperalgesia / T.C. Chou, L.P. Chang, C.Y. Li et al.// *International Anesthesia Research Society*. - 2003. - №97. -P.1724–1733.
293. The effect of amiodarone and/or antioxidant treatment on splenocyte blast transformation / M. Agoston [et al.] // *Clin Chim Acta*. – 2001. – Vol. 303. – P. 87-94.
294. The effects of the cyclosporin A, a P-glycoprotein inhibitor, on the pharmacokinetics of baicalein in the rat: a microdialysis study / T.H. Tsai, S.C. Liu, P.L. Tsai et al. // *British Journal of Pharmacology*. -2002. - №137. - P.1314-1320.
295. The interactions of thiol compounds with porcine erythrocyte catalase / Takeda A., Miyahara T., Hachimori A. et al. // *J. Biochem.* -1980. - № 87(2). -P. 429-39.
296. The protective effect of baicalin against renal ischemia-reperfusion injury through inhibition of inflammation and apoptosis / M. Lin, L.Li, L.Lio et al. // *Complementary and Alternative Medicine*. – 2014. - №14. –P.19-28.
297. The protective effects of tea polyphenols and schisandrin B on nephrotoxicity of mercury / W. Liu [et al.] // *Biol Trace Elem Res*. – 2011. - № 143(3). – P.1651-65.
298. The relationship between HBV serum markers and the clinicopathological characteristics of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis (HBV-GN) in the northeastern chinese population / L. Zhang, H. Meng, X. Han // *Virology Journal*. – 2012. - №9 . – P.200-209.
299. The Synergistic Biologic Activity of Oleanolic and Ursolic Acids in Complex with Hydroxypropyl- γ -Cyclodextrin / C. Soica, C. Oprean, F. Borcan et al. // *Molecules*. - 2014. - №19. - P.4924-4940.

300. Thummel, K. E. Oxidation of acetaminophen to N-acetyl-p-aminobenzoquinone imine by human CYP3A4 / K. E. Thummel, C.A. Lee, K. L. Kunze et al. // *Biochem. Pharmacol.* – 1993. - №45.- P.1563—1569.
301. Tietz, N. W. *Clinical guide to laboratory tests*, 3rd Ed. W. B. Saunders eds. Philadelphia, USA. - 1995. – P. 76.
302. Trinder, P. *Laboratory tests* / P. Trinder // *Ann. clin. Biochem.* – 1969. - vol. 6. - P.24.
303. Turktas H. Hepatotoxicity of antituberculosis therapy (rifampicin, isoniazid and pirazinamide or viral hepatitis) / H. Turktas, M. Unsal, N. Tulek, O. Oruc // *Tub. and Lung dis.* – 1994. – Vol.75. – P.58-60.
304. Vereckei, A.S. Combined amiodarone and silymarin treatment, but not amiodarone alone, prevents sustained atrial flutter in dogs / A.S. Vereckei, H.R. Besch, D.P. Zipes // *J Cardiovasc Electrophysiol.* – 2003. – Vol. 14. – P. 861-867.
305. Wallace, C. I. Paracetamol overdose: an evidence based flowchart to guide management / C. I. Wallace, P. I. Dargan, A. L. Jones // *Emerg. Med. J.*- 2002.-№19 (3).- P.202—205.
306. Walle, T. Absorption and metabolism of flavonoids / T. Walle // *Free radical biology and medicine.* - 2004.- Vol. 36, №7. - P. 829-837.
307. Walters, M. I. Total Bilirubin / M. I. Walters, H. W. Gerarde // *Microchem. J.* - 1970. - №15. - P. 231.
308. Wan, Y.G. Contrasting Dose–Effects of Multi-glycoside of *Tripterygium wilfordii* HOOK. f. on Glomerular Inflammation and Hepatic Damage in Two Types of Anti-Thy1.1 Glomerulonephritis / Y.G. Wan, Q. Zhao, W. Sun // *Journal of Pharmacological Sciences.* - 2012. - №118. – P. 433 – 446.
309. Weichselbaum, T.E. Total protein /T.E. Weichselbaum // *Am.J.Clin.Pathol.* -1946.-vol.7.- P.40.
310. Xiao, Q. Catalyzed isomerisation between previtamin D3 and vitamin D3 via P-cyclodextrin complexation / Q. Xiao, F.H. Michael // *J. Biol. Chem.* – 1995.- V. 270, №15. - P. 8706-8711.
311. Xing, J. Absorption, excretion and enterohepatic circulation of baicalin in rats / J. Xing, X.Y. Chen, D.F. Zhong // *Asian Journal of Pharmacodynamics and Pharmacokinetics.* – 2006. - №6(1). – P.29-37.
312. Yang, X. Baicalin inhibits IL-17-mediated joint inflammation in murine adjuvant-induced arthritis / X. Yang, J. Yang, H. Zou // *Clinical and Developmental Immunology.*-2013. - №5.- P.5-13.
313. Yıldız, A. Significance of lipid peroxides, glutathione and antioxidant enzymes in ethanol and acetaminophen toxicity in the rat / A. Yıldız [et al.] // *The Turkish Journal of Gastroenterology.* – 2000. – Vol.11, № 1. P. 15-16.

314. Younes, M. Glutathione-S-transferase activities in rat liver: effect of some factors influencing the metabolism of xenobiotics / M. Younes, R. Schlichting, C.P. Siegers // *Pharmacol. Res. Commun.* – 1980. - Vol.12, № 2. – P. 115 – 128.
315. Young, D.S. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd Edition, AACC Press, Washington, D. C. -1997. – 213 p.
316. Yucebilgic, G. Effects of lead on Na(+)-K(+) ATPase and Ca(+2) ATPase activities and lipid peroxidation in blood of Workers / G.Yucebilgic, R. Bilgin, L. Tamer, S. Tukul // *Int. J. Toxicol.* – 2003. - №22.- P.95-97.
317. Zakowski, I.I. Purification and properties of rat liver mitochondrial glutathione peroxidase / I.I. Zakowski, A.L. Tappel // *Biochim. et biophys. Acta.* - 1978. - Vol.526, №1. – P. 65 – 76.
318. Zhang, L. Intestinal and hepatic glucuronidation of flavonoids / L. Zhang, Z. Zuo, G. Lin et al. // *Mol. Pharm.*- 2007.-№4. –P.833–845.

Приложение А

Таблица А.1

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на функциональное состояние почек при их поражении хлоридом ртути (II) у крыс

Показатели	Экспериментальные группы				
	Интактные, n=8	Контроль (хлорид ртути (II)+вода перорально), n=6	Хлорид ртути (II)+СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	Хлорид ртути (II) +СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	Хлорид ртути (II)+урокам, 1,25мл/кг, n=7
1	2	3	4	5	6
Креатинин мочи, мкмоль/л	2433 ±213,5	911 ±98,8 P _и <0,05 -63±2,1%	1930 ±190,8 P _к <0,05 +112±22,3% P _и >0,1	1978 ±169,3 P _к <0,05 +117±19,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	1145 ±117,7 P _к >0,1 P _и <0,05 -53±3,2% P _{сэ} <0,05 -41±3,5% P _{сэ+цд} <0,05 -42±5,1%
Креатинин сыворотки крови, мкмоль/л	95,7 ±2,11	155,2 ±15,73 P _и <0,05 +62±2,3%	97,7 ±5,61 P _к <0,05 -37±3,7% P _и >0,1	89,5 ±4,44 P _к <0,05 -42±2,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	93,2 ±4,67 P _к <0,05 -40±3,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
СКФ мкл/100г/мин	45,1 ±3,11	5,1 ±0,86 P _и <0,05 -89±3,6%	34,4 ±3,1 P _к <0,05 +569±55,9% P _и <0,05 -19%	37,5 ±4,14 P _к <0,05 +635±86,2% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	14,5 ±1,82 P _к <0,05 +184±36,2% P _и <0,05 -68±3,6% P _{сэ} <0,05 -57±3,6% P _{сэ+цд} <0,05 -61±5,2%
Мочевина мочи, ммоль/л	97,1±4,96	64,4±3,23 P _и <0,05 -34±2,6%	105,4±8,24 P _к <0,05 +64±5,6% P _и >0,1	95,9±9,09 P _к <0,05 +49±3,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	72,9±7,71 P _к >0,1 P _и <0,05 -25±2,3% P _{сэ} <0,05 -31±3,4% P _{сэ+цд} >0,1
Объем мочи мл /100 г/2часа	2,18 ±0,159	1,0 ±0,0949 P _и <0,05 -54±6,2%	2,09 ±0,109 P _к <0,05 +109±10,1% P _и >0,1	2,01 ±0,111 P _к <0,05 +101±10,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	1,64 ±0,136 P _к <0,05 +64±13,5% P _и <0,05 -25±3,1% P _{сэ} <0,05 -22±2,3% P _{сэ+цд} <0,05 -18%

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5	6
Калий сыворотки крови, ммоль/л	2,76±0,098	7,53±0,251 P _и <0,05 +173±12,3%	3,60±0,131 P _к <0,05 -52±1,7% P _и <0,05 +30%	3,92±0,106 P _к <0,05 -48±1,4% P _и <0,05 +42±2,3% P _{сэ} >0,1	4,17±0,106 P _к <0,05 -45±3,7% P _и <0,05 +51±2,5% P_{сэ}<0,05 +16±3,4% P _{сэ+цд} >0,1
Натрий сыворотки крови, ммоль/л	144 ±1,9	214 ±4,8 P _и <0,05 +49±2,3%	182 ±3,4 P _к <0,05 -15±1,6% P _и <0,05 +26±1,5%	193 ±4,3 P _к <0,05 -10±1,9% P _и <0,05 +34±3,2% P _{сэ} >0,1	202 ±7,7 P _к >0,1 P _и <0,05 +40±3,6% P_{сэ}<0,05 +11±0,9% P _{сэ+цд} >0,1
Кальций сыворотки крови, ммоль/л	2,42 ±0,044	1,18 ±0,103 P _и <0,05 -51±2,1%	2,13 ±0,087 P _к <0,05 +81±7,4% P _и <0,05 -12±0,8%	1,97 ±0,099 P _к <0,05 +67±8,5% P _и <0,05 -19±0,6% P _{сэ} >0,1	1,66 ±0,091 P _к <0,05 +41±7,7% P _и <0,05 -31±2,6% P_{сэ}<0,05 -22±1,3% P_{сэ+цд}<0,05 -16±2,1%
Фосфор сыворотки крови, ммоль/л	2,13 ±0,080	3,72 ±0,134 P _и <0,05 +75±5,3%	2,77 ±0,144 P _к <0,05 -26±3,9% P _и <0,05 +30±2,1%	3,09 ±0,129 P _к <0,05 -17±3,5% P _и <0,05 +45±3,6% P _{сэ} >0,1	3,25 ±0,075 P _к <0,05 -13±2,0% P _и <0,05 +53±2,1% P_{сэ}<0,05 +17±0,9% P _{сэ+цд} >0,1
Общий белок сыворотки крови, г/л	70,2±2,45	51,3 ±2,50 P _и <0,05 -27±4,7%	67,9 ±3,01 P _к <0,05 +32±5,9% P _и >0,1	71,7 ±2,22 P _к <0,05 +40±4,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	59,3 ±2,45 P _к <0,05 +16±4,8% P _и <0,01 -16±1,1% P_{сэ}<0,05 -13±0,8% P_{сэ+цд}<0,05 -17%
Альбумины сыворотки крови, г/л	32,1 ±1,93	18,7 ±1,99 P _и <0,05 -42±6,2%	26,1 ±1,71 P _к <0,05 +40±9,1% P _и <0,05 -19±0,2%	25,1±1,68 P _к <0,05 +34±8,9% P _и <0,05 -22±2,1% P _{сэ} >0,1	23,6 ±2,09 P _к >0,1 P _и <0,05 -26±1,2% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5	6
Глобулины сыворотки крови, г/л	39,1 ±4,79	29,6 ±1,94 P _и <0,05 -24±2,1%	41,9 ±3,20 P _к <0,05 +42±10,8% P _и >0,1	46,6 ±2,66 P _к <0,05 +57±9,1% P _и >0,1	35,8 ±4,20 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Мочевина сыворотки крови, моль/л	6,62 ±0,38	25,9 ±2,45 P _и <0,05 +291±6,0%	7,98 ±0,50 P _к <0,05 -69±2,1% P _и >0,1	8,55 ±0,715 P _к <0,05 -67±2,2% P _и <0,05 +29% P _{сэ} >0,1	11,7 ±1,31 P _к <0,05 -55±3,7% P _и <0,05 +77±6,2% P_{сэ}<0,05 +83±2,6% P _{сэ+цд} >0,1
Весовой индекс (левая почка)	0,305 ±0,0209	0,453 ±0,0253 P _и <0,05 +49±3,4%	0,356 ±0,0152 P _к <0,05 -21±3,4% P _и >0,1	0,343 ±0,0366 P _к <0,05 -24±8,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	0,357 ±0,0302 P _к <0,05 -21±6,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Весовой индекс (правая почка)	0,310 ±0,0181	0,409 ±0,0211 P _и <0,05 +32±5,1%	0,314 ±00,0117 P _к <0,05 -23±2,9% P _и >0,1	0,329 ±0,0162 P _к <0,05 -20±3,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	0,337 ±0,0234 P _к <0,05 -18±3,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1

Примечания: n- число животных в группе;

P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса) **статистически значимо по отношению:**

P_и<0,05 к интактной группе;

P_к<0,05 к контролю;

P_{сэ}<0,05 к группе, получавшей СЭ ШБ;

P_{сэ+цд}<0,05 к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Таблица А.2

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на интенсивность ПОЛ и систему антиоксидантной защиты на модели поражения почек хлоридом ртути (II) у крыс

Показатели	Экспериментальные группы				
	Интактные, n=8	Кон- троль(хлорид ртути (II) +вода перорально), n=6	Хлорид рту- ти (II)+СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	Хлорид ртути (II)+СЭ- 2ГП-β- ЦД,15мг/кг, n=8	Хлорид ртути (II)+урокам, 1,25мл/кг, n=7
ПОЛ ПЯФ, нмоль МДА/мг белка	4,81 ±0,266	10,25 ±1,021 P _и <0,05 +113±2,6%	6,11 ±0,643 P _к <0,05 -40±6,3% P _и >0,1	5,93 ±0,931 P _к <0,05 -42±9,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	7,19 ±0,426 P _к <0,05 -39±4,2% P _и <0,05 +40±2,1% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
ДК, нмоль/мг белка	0,81 ±0,102	4,92 ±0,658 P _и <0,05 +507±26,5%	1,27 ±0,177 P _к <0,05 -74±3,6% P _и >0,1	1,32 ±0,127 P _к <0,05 -73±2,6% P _и <0,05 +63±2,1% P _{сэ} >0,1	2,57 ±0,412 P _к <0,05 -48±8,4% P _и <0,05 +217±32,1% P _{сэ} <0,05 +102±25,3% P _{сэ+цд} <0,05 +95%
GSH, г/кг	2,7 ±0,27	1,27 ±0,189 P _и <0,05 -53±2,3%	2,31 ±0,365 P _к <0,05 +82±2,8% P _и >0,1	2,33 ±0,328 P _к <0,05 +83±15,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2,06 ±0,227 P _к <0,05 +62±17,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Г-S-T, нмоль/мг	38,2 ±1,94	11,4 ±1,10 P _и <0,05 -70±5,6%	44,9 ±2,78 P _к <0,05 +294±24,3% P _и >0,1	58,8 ±4,51 P _к <0,05 +416±39,5% P _и <0,05 +54±2,3% P _{сэ} <0,05 +31±3,4%	25,5 ±2,81 P _к <0,05 +124±24,7% P _и <0,05 -33±3,5% P _{сэ} <0,05 -43±3,2% P _{сэ+цд} <0,05 -57±3,2%
Г-6-ФДГ, нмоль НАДФН/ мин/мг бел- ка	21,0 ±1,67	11,2 ±1,68 P _и <0,05 -47±3,5%	33,3 ±4,63 P _к <0,05 +197±41,5% P _и <0,05 +59±3,2%	30,3 ±3,08 P _к <0,05 +171±27,6% P _и <0,05 +44±3,2% P _{сэ} >0,1	35,1 ±3,22 P _к <0,05 +213±28,9% P _и <0,05 +67±3,2% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1

Продолжение таблицы А.2

1	2	3	4	5	6
Каталаза, нмоль/мин/мг белка	0,21 ±0,018	0,16 ±0,011 $P_{и} < 0,05$ -24 ±2,3%	0,23 ±0,014 $P_{к} < 0,05$ +44 ±9,2% $P_{и} > 0,1$	0,25 ±0,011 $P_{к} < 0,05$ +56 ±7,3% $P_{и} > 0,1$ $P_{сэ} > 0,1$	0,27 ±0,025 $P_{к} < 0,05$ +69 ±15,6% $P_{и} > 0,1$ $P_{сэ} > 0,1$
ГП, нмоль НАДФН/мин /мг белка	229 ±16,7	158 ±17,4 $P_{и} < 0,05$ -31 ±3,4%	206 ±30,3 $P_{к} > 0,1$ $P_{и} > 0,1$	190 ±10,9 $P_{к} > 0,1$ $P_{и} > 0,1$ $P_{сэ} > 0,1$	184 ±28,7 $P_{к} > 0,1$ $P_{и} > 0,1$ $P_{сэ} > 0,1$ $P_{сэ+цд} > 0,1$
СОД, уд. акт./мг бел- ка	72,3 ±13,27	26,5 ±4,71 $P_{и} < 0,05$ -63 ±3,2%	86,3 ±7,06 $P_{к} < 0,05$ +226 ±21,2% $P_{и} > 0,1$	74,5 ±17,73 $P_{к} < 0,05$ +181 ±23,1% $P_{и} > 0,1$ $P_{сэ} > 0,1$	90,9 ±18,15 $P_{к} < 0,05$ +243 ±23,1% $P_{и} > 0,1$ $P_{сэ} > 0,1$ $P_{сэ+цд} > 0,1$
<p>Примечания: n- число животных в группе; $P < 0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса) статистически значимо по отношению: $P_{и} < 0,05$ к интактной группе; $P_{к} < 0,05$ к контролю; $P_{сэ} < 0,05$ к группе, получавшей СЭ ШБ; $P_{сэ+цд} < 0,05$ к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД.</p>					

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на функциональное состояние печени при применении парацетамола у крыс

Показатели	Экспериментальные группы				
	Интактные, n=8	Контроль (парацетамол+ вода перорально), n=8	Парацетамол+ СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	Парацетамол+ СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	Парацетамол+ Легалон, 100 мг/кг, n=8
1	2	3	4	5	6
ЛДГ сыворотки крови, МЕ/л	821 ±38,9	1495 ±89,7 P _и <0,01 +82±5,2%	967 ±29,9 P _к <0,01 -35±2,1% P _и <0,01 +18±1,2%	1142 ±53,8 P _к <0,01 -24±3,6% P _и <0,01 +29±1,2% P_{сэ} <0,05 +18±1,4%	1198 ±70,9 P _к <0,01 -20±4,7% P _и <0,01 +46±3,5% P_{сэ} <0,05 +24±2,1% P _{сэ+цд} >0,1
АлАт сыворотки крови, Ед/л	45,8 ±1,08	366 ±32,6 P _и <0,01 +699±23,5%	108 ±7,5 P _к <0,01 -70±2,1% P _и <0,01 +136±13,5%	118 ±11,8 P _к <0,01 -68±3,2% P _и <0,01 +158±14,2% P _{сэ} >0,1	130 ±12,8 P _к <0,01 -64±3,5% P _и <0,01 +184±15,1% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
АсАт сыворотки крови, Ед/л	195 ±14,1	587 ±28,1 P _и <0,01 +201±21,1%	299 ±15,8 P _к <0,01 -49±2,7% P _и <0,01 +53±2,6%	279 ±21,5 P _к <0,01 -52±3,7% P _и <0,01 +43±3,5% P _{сэ} >0,1	307 ±28,3 P _к <0,01 -48±4,8% P _и <0,01 +57±5,2% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Коэффициент де Ритиса	4,27±0,311	1,71±0,187 P _и <0,01 -60±9,2%	2,83±0,199 P _к <0,01 +65±11,7% P _и <0,01 -34±2,1%	2,66±0,344 P _к <0,01 +56±20,2% P _и <0,01 -38±6,7% P _{сэ} >0,1	2,52±0,321 P _к >0,1 P _и <0,01 -41±2,1% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Холестерин сыворотки крови, ммоль/л	2,1 ±0,22	4,9 ±0,32 P _и <0,01 +133±13,5%	2,8 ±0,17 P _к <0,01 -43±3,5% P _и <0,01 +33±2,3%	2,9 ±0,22 P _к <0,01 -41±4,5% P _и <0,01 +38±3,2% P _{сэ} >0,1	3,1 ±0,37 P _к <0,01 -37±7,6% P _и <0,01 +48±2,5% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1

Продолжение таблицы А.3

1	2	3	4	5	6
Общий билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	10,5 ±0,48	42,7 ±4,11 P _и <0,01 +307±31,2%	9,8 ±0,58 P _к <0,01 -77±1,6% P _и >0,1	11,3 ±0,91 P _к <0,01 -74±2,4% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	16,6 ±0,98 P _к <0,01 -61±2,6% P _и <0,01 +58±1,5% P_{сэ} <0,05 +69±3,5% P_{сэ+ид}<0,05 +47%
Прямой билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	1,2 ±0,08	25,4 ±2,78 P _и <0,01 +2017±123,3%	2,1 ±0,26 P _к <0,01 -92±1,0% P _и <0,01 +75±3,6%	2,4 ±0,36 P _к <0,01 -91±1,4% P _и <0,01 +100±2,6% P _{сэ} >0,1	4,8 ±0,59 P _к <0,01 -81±2,3% P _и <0,01 +300±6,8% P_{сэ} <0,05 +129±12,3% P_{сэ+ид}<0,05 +100±2,6%
Непрямой билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	9,3 ±0,41	10,7 ±0,77 P _и >0,1	8,29 ±0,46 P _к <0,05 -23±6,8% P _и >0,1	9,8 ±0,93 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	11,7 ±0,91 P _к >0,1 P _и <0,01 +26±2,6% P_{сэ} <0,05 +41±6,5% P _{сэ+ид} >0,1
γ-ГТ сыворотки крови, Ед/л	1,04 ±0,06	3,15 ±0,196 P _и <0,01 +203±12,3%	1,93 ±0,155 P _к <0,01 -39±4,9% P _и <0,01 +86±2,6%	2,28 ±0,274 P _к <0,01 -28±8,7% P _и <0,01 +119±12,3% P _{сэ} >0,1	2,50 ±0,198 P _к <0,01 -21±6,3% P _и <0,01 +140±12,3% P_{сэ} <0,05 +30±2,6% P _{сэ+ид} >0,1
ЩФ сыворотки крови, Ед/л	320 ±45,2	644 ±51,6 P _и <0,01 +101±12,3%	452 ±26,8 P _к <0,01 -30±4,2% P _и <0,01 +41±2,3%	479 ±30,1 P _к <0,01 -26±4,2% P _и <0,01 +50±2,5% P _{сэ} >0,1	509 ±33,7 P _к <0,01 -24±5,2% P _и <0,01 +59±3,5% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+ид} >0,1
Общий белок сыворотки крови, г/л	70,7±4,38	47,2±5,39 P _и <0,01 -33±2,3%	68,8±4,85 P _к <0,05 +46±10,3% P _и >0,1	66,9±6,88 P _к <0,05 +42±14,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	64,0±5,34 P _к <0,05 +36±11,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+ид} >0,1

Продолжение таблицы А.3

1	2	3	4	5	6
Альбумины сыворотки крови, г/л	32,8 ±0,61	14,5 ±1,27 P _и <0,01 -56±3,2%	24,3 ±1,79 P _к <0,01 +68±12,4% P _и <0,01 -26±2,1%	21,1 ±1,37 P _к <0,01 +46±9,5% P _и <0,01 -36±3,2% P _{сэ} >0,1	26,1 ±2,30 P _к <0,01 +80±15,9% P _и <0,01 -20±2,3% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Глобулины сыворотки крови, г/л	37,9 ±4,79	32,7 ±5,76 P _и >0,1	44,6 ±4,67 P _к >0,1 P _и >0,1	45,8 ±7,26 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	38,0 ±6,16 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
ХЭ сыворотки крови, Ед/л	755 ±36,2	341 ±23,3 P _и <0,01 -55±5,2%	588 ±28,1 P _к <0,01 +72±8,2% P _и <0,01 -22±1,2%	600 ±33,9 P _к <0,01 +76±9,9% P _и <0,01 -21±1,2% P _{сэ} >0,1	579 ±26,2 P _к <0,01 +70±7,7% P _и <0,01 -23±1,2% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Глюкоза сыворотки крови, моль/л	6,53±0,129	3,66 ±0,152 P _и <0,01 -44±2,3%	6,03 ±0,348 P _к <0,01 +65±9,5% P _и >0,1	5,95 ±0,441 P _к <0,01 +63±12,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	6,09 ±0,190 P _к <0,01 +66±5,2% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
ТРГ сыворотки крови, моль/л	1,25 ±0,18	3,9 ±0,50 P _и <0,01 +212±21,3%	1,97 ±0,24 P _к <0,01 -49±6,0% P _и <0,01 +58±5,3%	2,27 ±0,27 P _к <0,01 -42±6,8% P _и <0,01 +82±2,3% P _{сэ} >0,1	2,55 ±0,25 P _к <0,01 -35±6,3% P _и <0,01 +104±12,3% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
ТРГ печени, мкмоль/г	12,4 ±1,81	54,1 ±6,62 P _и <0,05 +336±23,3%	28,1 ±2,98 P _к <0,05 -48±5,5% P _и <0,05 +127±12,3%	26,8 ±2,33 P _к <0,05 -50±4,3% P _и <0,05 +116±14,2% P _{сэ} >0,1	30,3 ±4,18 P _к <0,05 -44±7,7% P _и <0,05 +144±21,5% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1

Примечания: n- число животных в группе;

P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса) статистически значимо по отношению:

P_и<0,05 к интактной группе;

P_к<0,05 к контролю;

P_{сэ}<0,05 к группе, получавшей СЭ ШБ;

P_{сэ+цд}<0,05 к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Таблица А.4

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на содержание диеновых конъюгатов и систему антиоксидантной защиты на модели поражения печени парацетамолом у крыс

Показатели	Экспериментальные группы				
	Интактные, n=8	Контроль (парацетамол+ вода перорально), n=8	Парацетамол+ СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	Парацетамол+ СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	Парацетамол+ Легалон, 100 мг/кг, n=8
ДК, нмоль/мг белка	0,83±0,078	3,52±0,423 P _и <0,001 +324±21,3%	1,46±0,167 P _к <0,01 -59±5,8% P _и <0,01 +76±6,2%	0,68±0,109 P _к <0,01 -81±3,1% P _и >0,1 P _{сэ} <0,05 -53±3,4%	1,52±0,205 P _к <0,05 -57±4,8% P _и <0,01 +83±6,2% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} <0,05 +124±13,2%
GSH, г/кг	3,53 ±0,317	1,24 ±0,232 P _и <0,05 -65±12,3%	3,85 ±0,199 P _к <0,05 +210±16,1% P _и >0,1	3,04 ±0,578 P _к <0,05 +145±46,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2,42 ±0,293 P _к <0,05 +95±23,6% P _и <0,05 -31±2,3% P _{сэ} <0,05 -37±5,3% P _{сэ+цд} >0,1
Г-S-T, нмоль/мг	122 ±16,6	43 ±7,9 P _и <0,05 -65±6,4%	142 ±8,5 P _к <0,05 +233±19,9% P _и >0,1	194 ±16,5 P _к <0,05 +355±38,7% P _и <0,05 +59±3,2% P _{сэ} <0,05 +37±5,3%	128 ±21,7 P _к <0,05 +200±51,0% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} <0,05 -34±3,5%
Каталаза, нмоль/мин/мг белка	0,33 ±0,026	0,21 ±0,012 P _и <0,05 -36±5,3%	0,32 ±0,012 P _к <0,05 +52±5,9% P _и >0,1	0,33 ±0,017 P _к <0,05 +57±8,4% P _и >0,1	0,27 ±0,012 P _к <0,05 +29±5,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
СОД, уд. акт./мг белка	102±9,2	47±6,5 P _и <0,05 -53±12,6%	70±9,1 P _к <0,05 +48±5,9% P _и <0,05 -31%	88±12,5 P _к <0,01 +85±8,4% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	96±13,0 P _к <0,01 +102±6,0% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1

Примечания: n- число животных в группе;

P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса) статистически значимо по отношению:

P_и<0,05 к интактной группе;

P_к<0,05 к контролю;

P_{сэ}<0,05 к группе, получавшей СЭ ШБ;

P_{сэ+цд}<0,05 к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД.

Таблица А.5

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на функциональное состояние печени при применении циклофосфана у крыс

Показатели	Экспериментальные группы					
	Интактные, n=8	Контроль (ЦФ+вода перорально), n=6	ЦФ+СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	ЦФ+СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	ЦФ+Урокам, 1,25мл/кг, n=7	ЦФ+Легалон, 100мг/кг, n=8
1	2	3	4	5	6	7
ЛДГ сыворотки крови, МЕ/л	845±21,3	1337±119,6 P _и <0,05 +58±2,3%	915±120,5 P _к <0,05 -32±9,0% P _и >0,1	920±57,8 P _к <0,05 -31±4,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	969±89,5 P _к <0,05 -28±6,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	823±57,6 P _к <0,05 -38±4,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
АЛат сыворотки крови, Ед/л	43,6 ±2,7	60 ±5,2 P _и <0,01 +39±4,5%	39±2,9 P _к <0,05 -35±4,9% P _и >0,1	45±4,6 P _к <0,05 -26±7,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	45±3,1 P _к <0,05 -25±5,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	37±1,4 P _к <0,05 -39±2,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
АсАт сыворотки крови, Ед/л	181,0 ±8,9	221 ±11,9 P _и <0,01 +22±4,1%	187±9,9 P _к <0,05 -15±4,5% P _и >0,1	182±8,9 P _к <0,05 -18±4,0% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	166±13,3 P _к <0,05 -25±6,0% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	186±7,7 P _к <0,05 -16±3,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Коэффициент де Ритиса	4,2±0,34	3,2±0,27 P _и <0,05 -25±3,8%	5,0±0,53 P _к <0,05 +19±8,4% P _и >0,1	4,3±0,44 P _к <0,05 +37±14,2% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	3,7±0,32 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	5,1±0,27 P _к <0,05 +21±6,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
ЩФ сыворотки крови, Ед/л	305±14,7	369±19,7 P _и <0,05 +21±6,3%	308±13,6 P _к <0,05 -16±3,7% P _и >0,1	313±6,2 P _к <0,05 -15±1,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	316±5,9 P _к <0,05 -14±5,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	312±10,5 P _к <0,05 -15±2,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Холестерин сыворотки крови, ммоль/л	1,81±0,098	2,12 ±0,069 P _и <0,05 +17±5,3%	1,67 ±0,131 P _к <0,05 -21±6,2% P _и >0,1	1,69 ±0,152 P _к <0,05 -21±7,2% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	1,71±0,144 P _к <0,05 -19±6,8% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	1,70 ±0,143 P _к <0,05 -20±6,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1

Продолжение таблицы А.5

1	2	3	4	5	6	7
Общий билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	10,1±0,49	14,6±1,57 P _и <0,05 +45±3,8%	10,3±0,49 P _к <0,05 -29±3,4% P _и >0,1	9,4±1,17 P _к <0,05 -36±8,0% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	11,1±0,98 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	10,4±0,47 P _к <0,05 -29±3,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Прямой билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	0,85 ±0,075	1,39 ±0,160 P _и <0,05 +64±5,4%	0,83 ±0,080 P _к <0,05 -40±5,8% P _и >0,1	0,79 ±0,079 P _к <0,05 -43±5,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	1,0 ±0,117 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	0,91 ±0,097 P _к <0,05 -35±6,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Непрямой билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	9,2 ±0,48	13,2 ±1,52 P _и <0,05 +43±4,1%	9,5 ±0,52 P _к <0,05 -28±3,9% P _и >0,1	8,6 ±1,1 P _к <0,05 -35±8,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	10,2 ±0,89 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	9,5 ±0,46 P _к <0,05 -28±3,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Общий белок сыворотки крови, г/л	69,2±2,61	59,2±2,34 P _и <0,05 -14±4,4%	66,9±0,77 P _к <0,05 +13±1,3% P _и >0,1	67,7±2,14 P _к <0,05 +14±3,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	65,3±0,78 P _к <0,05 +10±1,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	66,7±2,29 P _к <0,05 +13±3,8% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Альбумины сыворотки крови, г/л	32,2±0,70	26,1±1,74 P _и <0,05 -19±2,7%	31,8±0,41 P _к <0,05 +22±1,6% P _и >0,1	31,2±0,56 P _к <0,05 +20±2,2% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	30,6±0,57 P _к <0,05 +17±2,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	30,8±0,78 P _к <0,05 +18±3,0% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Глобулины сыворотки крови, г/л	36,9 ±2,46	30,2 ±0,39 P _и <0,05 -18±6,1%	35,1 ±0,48 P _к <0,05 +16±1,6% P _и >0,1	36,5 ±1,71 P _к <0,05 +21±5,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	34,7 ±1,09 P _к <0,05 +15±3,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	35,9 ±1,53 P _к <0,05 +19±5,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Глюкоза сыворотки крови, моль/л	6,2 ±0,28	7,6 ±0,32 P _и <0,05 +24±3,6%	6,3 ±0,34 P _к <0,05 -17±4,5% P _и >0,1	6,4 ±0,37 P _к <0,05 -16±4,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	6,6±0,23 P _к <0,05 -13±3,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	6,6 ±0,26 P _к <0,05 -13±3,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1

Продолжение таблицы А.5

1	2	3	4	5	6	7
ТРГ сыворотки крови, моль/л	0,86±0,06 0	1,38±0,191 P _и <0,05 +60±4,5%	0,70±0,041 P _к <0,05 -49±2,9% P _и >0,1	0,71±0,047 P _к <0,05 -49±3,4% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	0,82±0,098 P _к <0,05 -41±7,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	0,77±0,061 P _к <0,05 -44±4,4% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
ТРГ печени, мкмоль/г	12,4±1,81	46,8±7,04 P _и <0,05 +277±23,3%	17,0±2,27 P _к <0,05 -64±4,9% P _и >0,1	20,8±0,79 P _к <0,05 -56±1,7% P _и <0,05 +68±3,2% P _{сэ} >0,1	23,8±2,06 P _к <0,05 -49±4,4% P _и <0,05 +92±3,5% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	22,5±1,38 P _к <0,05 -52±2,9% P _и <0,05 +81±4,3% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Гликоген печени, г/кг	8,5±0,90	2,5±0,25 P _и <0,05 -71±3,6%	7,1±0,59 P _к <0,05 184±24,3% P _и >0,1	6,6±0,36 P _к <0,05 164±14,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	4,3±0,49 P _к <0,05 72±20,1% P _и <0,05 -49±6,8% P _{сэ} <0,05 -39±6,1% P _{сэ+цд} <0,05 -35±3,1%	3,3±0,48 P _к >0,1 P _и <0,05 -61±6,2% P _{сэ} <0,05 -54±4,3% P _{сэ+цд} <0,05 -50±3,5% P _{ур} >0,1

Примечания: **n**- число животных в группе;

P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса) статистически значимо по отношению:

P_и<0,05 к интактной группе;

P_к<0,05 к контролю;

P_{сэ}<0,05 к группе, получавшей СЭ ШБ;

P_{сэ+цд}<0,05 к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД;

P_{ур}<0,05 к группе, получавшей урокам.

Таблица А.6

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на функциональное состояние почек при применении циклофосфана у крыс

Показатели	Экспериментальные группы					
	Интактные, n=8	Контроль (ЦФ+вода перорально), n=6	ЦФ+СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	ЦФ+СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	ЦФ+Урокам, 1,25мл/кг, n=7	ЦФ+Легалон, 100мг/кг, n=8
Креатинин мочи, мкмоль/л	1830±202,1	2724±186,2 P _и <0,05 +49±7,1%	1484±120,8 P _к <0,05 -46±4,4% P _и >0,1	1902±140,2 P _к <0,05 -30±5,2% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2039±174,1 P _к <0,05 -25±6,4% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2514±187,1 P _к >0,1 P _и <0,05 +37±3,6% P _{сэ} <0,05 +69±4,6% P _{сэ+цд} <0,05 +32±2,6% P _{ур} >0,1
СКФ, мкл/100г/мин	67,6±6,73	38,8±4,39 P _и <0,05 -43±6,9%	57,4±5,84 P _к <0,05 +48±15,1% P _и >0,1	58,2±6,16 P _к <0,05 +50±15,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	56,6±4,12 P _к <0,05 +46±10,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	55,9±4,06 P _к <0,05 +44±10,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Объем мочи, мл /100 г/2часа	2,18±0,159	1,60±0,170 P _и <0,05 -27±3,8%	2,23±0,106 P _к <0,05 +39±6,6% P _и >0,1	2,09±0,101 P _к <0,05 +31±6,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2,08±0,094 P _к <0,05 +31±5,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	1,67±0,127 P _к >0,1 P _и <0,05 -23±3,8% P _{сэ} <0,05 -25±3,1% P _{сэ+цд} <0,05 -20±3,4% P _{ур} <0,05 -20±2,6%
Мочевина сыворотки крови, ммоль/л	4,80±0,251	6,77±0,582 P _и <0,05 +41±3,8%	5,14±0,361 P _к <0,05 -24±5,4% P _и >0,1	5,09±0,323 P _к <0,05 -25±4,8% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	4,99±0,321 P _к <0,05 -26±4,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	5,21±0,241 P _к <0,05 -23±3,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Креатинин сыворотки крови, мкмоль/л	57,3±2,88	75,8±1,96 P _и <0,05 +32±3,8%	59,4±1,74 P _к <0,05 -22±2,3% P _и >0,1	59,1±2,51 P _к <0,05 -22±3,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	56,8±2,71 P _к <0,05 -25±3,6% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	60,3±2,10 P _к <0,05 -20±2,8% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1

Примечания: n- число животных в группе; P<0,05 (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса) статистически значимо по отношению: P_и<0,05 к интактной группе; P_к<0,05 к контролю; P_{сэ}<0,05 к группе, получавшей СЭ ШБ; P_{сэ+цд}<0,05 к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД; P_{ур}<0,05 к группе, получавшей урокам.

Таблица А.7

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на интенсивность ПОЛ и систему антиоксидантной защиты в печени при применении циклофосфана у крыс

Показатели	Экспериментальные группы					
	Интактные, n=8	Контроль (ЦФ+вода перорально), n=6	ЦФ+СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	ЦФ+СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	ЦФ+Урокам, 1,25мл/кг n=7	ЦФ+Легалон, 100мг/кг, n=8
1	2	3	4	5	6	7
ПОЛ ПЯФ, нмоль МДА/мг белка	4,8 ±0,26	11,5±1,92 P _и <0,05 138±16,8%	3,4±0,61 P _к <0,05 -70±4,9% P _и >0,1	5,3 ±0,57 P _к <0,05 -54±5,0% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	5,2 ±0,88 P _к <0,05 -54±7,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	6,3 ±0,88 P _к <0,05 -45±7,7% P _и >0,1 P _{сэ} <0,05 +85±6,4% P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
ДК, нмоль/мг белка	0,6 ±0,12	1,9 ±0,15 P _и <0,05 +225±6,4%	0,4±0,05 P _к <0,05 -82±2,8% P _и >0,1	0,8 ±0,13 P _к <0,05 -59±6,7% P _и >0,1 P _{сэ} <0,05 +100±6,8%	1,1 ±0,14 P _к <0,05 -41±8,4% P _и <0,05 +93±6,7% P _{сэ} <0,05 175±12,8% P _{сэ+цд} >0,1	0,9±0,16 P _к <0,05 -56±7,1% P _и >0,1 P _{сэ} <0,05 125±12,6% P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
GSH, г/кг	3,5±0,32	1,3±0,19 P _и <0,05 -63±19,6%	2,7±0,45 P _к <0,05 104±34,6% P _и >0,1	3,0±0,44 P _к <0,05 130±33,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2,1±0,40 P _к >0,1 P _и <0,05 -41±2,9% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	3,3±0,69 P _к <0,05 148±53,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Г-S-T, нмоль/мг	155±21,2	88 ±13,0 P _и <0,05 -43%	186 ±27,9 P _к <0,05 111±31,2% P _и >0,1	205 ±20,6 P _к <0,05 133±23,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	117±20,1 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	154±18,3 P _к <0,05 75±20,8% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1
Г-6-ФДГ, нмоль НАДФН/мин/мг белка	21,9±1,48	13,9 ±2,12 P _и <0,05 -37±9,8%	26,3 ±3,29 P _к <0,05 89±23,7% P _и >0,1	23,4±3,49 P _к <0,05 68±25,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	19,6±3,81 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	25,8±4,01 P _к <0,05 85±28,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Каталаза, нмоль/мин/мг белка	0,33±0,026	0,15±0,011 P _и <0,05 -55±15,2%	0,23±0,012 P _к <0,05 +53±8,1% P _и <0,05 -30±6,5%	0,26±0,016 P _к <0,05 +73±10,3% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	0,23±0,024 P _к <0,05 +53±16% P _и <0,05 -30±8,1% P _{сэ, сэ+цд} >0,1	0,19±0,012 P _к <0,05 +27±7,9% P _и <0,05 -42±6,4% P _{сэ, сэ+цд} >0,1

Продолжение таблицы А.7

1	2	3	4	5	6	7
ГП, нмоль НАДФН/ми н/мг белка	275±5,1	161±18,0 $P_{и}<0,05$ -41±6,8%	263±17,3 $P_{к}<0,05$ +63±11,8% $P_{и}>0,1$	241±16,9 $P_{к}<0,05$ +49±10,5% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$	211±13,5 $P_{к}>0,1$ $P_{и}<0,05$ -23% $P_{сэ}<0,05$ -20±5,1% $P_{сэ+цд}>0,1$	233±13,2 $P_{к}<0,05$ +45±8,2% $P_{и}<0,05$ -15±3,2% $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$ $P_{ур}>0,1$
СОД, уд. акт./мг белка	63,5±7,31	32,7±2,12 $P_{и}<0,05$ -49%	55,7±4,81 $P_{к}<0,05$ 70±14,8% $P_{и}>0,1$	73,9±14,62 $P_{к}<0,05$ 126±44,9% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$	46,9±7,63 $P_{к}>0,1$ $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$	81,7±17,81 $P_{к}<0,05$ 150±54,4% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$ $P_{ур}>0,1$

Примечания: **n**- число животных в группе;

$P<0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с постробработкой тестом Ньюмана-Кейлса) статистически значимо по отношению:

$P_{и}<0,05$ к интактной группе;

$P_{к}<0,05$ к контролю;

$P_{сэ}<0,05$ к группе, получавшей СЭ ШБ;

$P_{сэ+цд}<0,05$ к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД;

$P_{ур}<0,05$ к группе, получавшей урокам.

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на интенсивность ПОЛ и систему антиоксидантной защиты в почках при применении циклофосфана у крыс

Показатели	Экспериментальные группы					
	Интактные, n=8	Контроль (ЦФ+вода перорально), n=6	ЦФ+СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	ЦФ+СЭ-2-ГПβЦД, 15мг/кг, n=8	ЦФ+Урокам, 1,25мл/кг, n=7	ЦФ+Легалон, 100мг/кг, n=8
1	2	3	4	5	6	7
ПОЛ ПЯФ, нмоль МДА/мг белка	3,8±0,78	9,6±1,35 P _и <0,05 +150±12,6%	2,0±0,21 P _к <0,05 -79±2,2% P _и >0,1	2,5±0,47 P _к <0,05 -74±4,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2,8±0,45 P _к <0,05 -71±4,7% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	5,6±0,95 P _к <0,05 -42±9,8% P _и >0,1 P _{сэ} <0,05 180±6,8% P _{сэ+цд} <0,05 124±7,9% P _{ур} <0,05 100±6,8%
ДК, нмоль/мг белка	0,5±0,12	2,0±0,17 P _и <0,05 +296±13,3%	0,3±0,06 P _к <0,05 -83±2,9% P _и >0,1	0,8±0,06 P _к <0,05 -62±2,8% P _и >0,1 P _{сэ} <0,05 +167%	0,6±0,07 P _к <0,05 -71±3,4% P _и >0,1 P _{сэ} <0,05 +100% P _{сэ+цд} >0,1	1,0±0,13 P _к <0,05 -51±6,6% P _и <0,05 +94±3,5% P _{сэ} <0,05 223±9,1% P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
GSH, г/кг	2,7±0,27	1,8±0,18 P _и <0,05 -34±5,6%	2,9±0,39 P _к <0,05 61±19,6% P _и >0,1	2,8±0,35 P _к <0,05 59±19,5% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	2,6±0,31 P _к <0,05 47±17,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	1,8±0,29 P _к >0,1 P _и <0,05 -34±5,9% P _{сэ} <0,05 -38±3,5% P _{сэ+цд} <0,05 -36±6,5% P _{ур} >0,1
Г-S-T, нмоль/мг	47,9±6,56	27,2±3,52 P _и <0,05 -56%	47,7±6,91 P _к <0,05 +75±25,4% P _и >0,1	44,6±4,39 P _к <0,05 +64±16,1% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1	49,6±3,03 P _к <0,05 +82,5±11,2 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	33,6±2,40 P _к >0,1 P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1 P _{ур} >0,1
Г-6-ФДГ, нмоль НАДФН/мин /мг белка	20,9±1,67	8,0±1,56 P _и <0,05 -62±6,9%	16,4±3,02 P _к <0,05 105±37,8% P _и >0,1	14,7±2,0 P _к <0,05 +84±25% P _и <0,05 -30±6,7% P _{сэ} >0,1	14,7±2,23 P _к <0,05 86±27,9% P _и >0,1 P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1	13,5±1,38 P _к <0,05 69±17,2% P _и <0,05 -36±9,4% P _{сэ} >0,1 P _{сэ+цд} >0,1

Продолжение таблицы А.8

1	2	3	4	5	6	7
Каталаза, нмоль/мин/мг белка	0,21±0,021	0,14±0,021 $P_{и}<0,05$ -33±6,4%	0,26±0,022 $P_{к}<0,05$ 86±11,9% $P_{и}>0,1$	0,23±0,019 $P_{к}<0,05$ 64±11,1% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$	0,19±0,018 $P_{к}<0,05$ 36±10,5% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$	0,16±0,009 $P_{к}>0,1$ $P_{и}<0,05$ -24±8,2% $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$ $P_{ур}>0,1$
ГП, нмоль НАДФН/мин /мг белка	229±16,7	169±6,5 $P_{и}<0,05$ -26±8,1%	257±16,2 $P_{к}<0,05$ +52±9,6% $P_{и}>0,1$	254±21,0 $P_{к}<0,05$ +50±12,5% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$	232±13,4 $P_{к}<0,05$ +37±7,9% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$	197±10,9 $P_{к}>0,1$ $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}<0,05$ -23±3,5% $P_{сэ+цд}<0,05$ -22±6,1% $P_{ур}>0,1$
СОД, уд. акт./мг бел- ка	68,1±8,11	30,6±1,92 $P_{и}<0,05$ -55±6,7%	59,1±2,63 $P_{к}<0,05$ 93±8,7% $P_{и}>0,1$	83,0±13,91 $P_{к}<0,05$ 171±45,5% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$	92,3±8,21 $P_{к}<0,05$ 202±26,9% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$	92,5±16,63 $P_{к}<0,05$ 202±54% $P_{и}>0,1$ $P_{сэ}>0,1$ $P_{сэ+цд}>0,1$ $P_{ур}>0,1$

Примечания: **n**- число животных в группе;

$P<0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой тестом Ньюмана-Кейлса) статистически значимо по отношению:

$P_{и}<0,05$ к интактной группе;

$P_{к}<0,05$ к контролю;

$P_{сэ}<0,05$ к группе, получавшей СЭ ШБ;

$P_{сэ+цд}<0,05$ к группе, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД;

$P_{ур}<0,05$ к группе, получавшей урокам.

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на биохимические показатели состояния печени при курсовом введении здоровым животным

Показатели	Экспериментальные группы					
	Интак- ные, n=8	Контроль 1 (вода пе- рорально), n=8	Контроль 2 (вода внутри- брюшинно), n=8	Контроль 3 (2-ГП-β-ЦД), n=8	СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	СЭ-2-ГП- β-ЦД, 15мг/кг, n=8
1	2	3	4	5	6	7
ЛДГ сыворотки крови, МЕ/л	821 ±38,9	827±32,6	818±30,3	867±22,5	837±6,5	844±9,8
АлАт сыворот- ки крови, Ед/л	45,8 ±1,08	46,6±1,07	43,3±2,10	44,6±2,58	43,7±1,54	47,5±1,23
АсАт сыворот- ки крови, Ед/л	195 ±14,1	198±11,8	205±6,7	201±3,2	200±4,9	207±8,8
γ-ГТ сыворотки крови, Ед/л	1,04±0,06	1,13±0,094	1,07±0,078	1,12±0,156	1,14±0,062	0,98±0,064
Холестерин сы- воротки крови, ммоль/л	2,1±0,22	2,1±0,18	1,8±0,23	2,1±0,13	1,9±0,10	2,3±0,14
Общий билиру- бин сыворотки крови, мкмоль/л	10,5±0,48	10,6±0,42	9,7±0,51	10,4±0,66	10,3±0,36	10,0±0,23
Прямой били- рубин сыворот- ки кро- ви, мкмоль/л	1,2±0,08	1,2±0,09	1,5±0,31	1,6±0,34	1,7±0,28	1,0±0,19
Непрямой би- лирубин сыво- ротки кро- ви, мкмоль/л	9,3±0,41	9,4±0,35	8,2±0,38	8,9±0,49	8,6±0,25	9,0±0,11
ЩФ сыворотки крови, Ед/л	320±45,2	319±36,9	327±9,9	303±19,2	315±13,5	310±17,1
ХЭ сыворотки крови, Ед/л	755±36,2	750±29,9	762±21,9	756±18,8	766±11,9	764±12,3
Общий белок сыворотки крови, г/л	70,7±4,38	69,1±2,35	65,9±2,19	69,7±1,12	68,9±1,16	71,3±1,44
Альбумины сыворотки крови, г/л	32,8±0,61	32,3±1,64	31,6±1,77	32,4±1,56	30,5±1,09	31,3±1,04
Глобулины сы- воротки крови, г/л	37,9±4,79	36,8±2,24	34,4±3,39	37,3±2,19	38,4±1,84	39,9±0,74
ТРГ сыворотки крови, ммоль/л	0,86±0,081	1,26±0,149	1,16±0,191	1,26±0,223	1,09±0,072	1,30±0,099

Продолжение таблицы А.9

1	2	3	4	5	6	7
Глюкоза сыворотки крови, г/л	5,61±0,28	5,57±0,296	5,36±0,225	5,59±0,245	4,71±0,187 -15±0,9%* ^и -16±1,1% ^и	4,42±0,254 -21±1,2% ^{#^} -18±2,4% ^{Δ&} -21±3,1% ^и
Гликоген печени, мг %	4365±423,3	4696±605,9	4277±237,6	4451,2±250,0	4167±515,1	5747±659,8
ТРГ печени, мкмоль/г	12,4±1,81	12,1±1,52	10,2±0,62	9,4±0,95	11,6±0,93	10,3±1,53

Примечания:

n- число животных в группе;

*-статистически значимо различаются по отношению к контролю1, тест Манна-Уитни (P<0,05);

Δ-статистически значимо различаются по отношению к контролю2, тест Манна-Уитни (P<0,05);

#-статистически значимо различаются по отношению к контролю3, тест Манна-Уитни (P<0,05);

"-изменения статистически значимы по отношению к контролю1, парный t-тест (P <0,05);

&- изменения статистически значимы по отношению к контролю 2, парный t-тест (P <0,05);

^ - изменения статистически значимы по отношению к контролю 3, парный t-тест (P <0,05);

^и - изменения статистически значимы по отношению к интактным животным, парный t-тест , тест Манна-Уитни (P <0,05).

Таблица А.10

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на показатели функционального состояния почек при курсовом введении здоровым животным

Показатели	Экспериментальные группы					
	Интак- ные, n=8	Контроль1 (вода перо- рально), n=8	Кон- троль2(вод а внутри- брюшинно), n=8	Контроль 3 (2-ГП-β- ЦД), n=8	СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	СЭ-2-ГП- β-ЦД, 15мг/кг, n=8
СКФ,мкл/ 100г/мин	45,1±3,11	46,3±2,81	43,5±2,60	44,6±3,61	47,4±6,40	41,9±5,56
Креатинин сыворотки крови, мкмоль/л	95,7±2,11	97,6±2,66	96,8±3,94	94,2±3,51	101,3±2,16	103,7±3,03
Креатинин мочи, мкмоль/л	2433±213	2421±174	2412±129	2736±160	2328±202	2135±250
Объем мочи 100 г/2 часа	2,18±0,159	2,22±0,135	2,30±0,206	2,05±0,184	2,45±0,263	2,43±0,235
Мочевина мочи, ммоль/л	97,1±4,96	98±4,3	87±5,2	91±7,3	85±3,9	92±6,2
Мочевина сыворотки крови, ммоль/л	6,62±0,38	6,49±0,35	6,27±0,212	6,36±0,222	6,23±0,166	5,91±0,250
Калий сыво- ротки крови, ммоль/л	2,76±0,098	2,68±0,112	2,62±0,171	2,39±0,175	2,66±0,026	2,59±0,034
Натрий сы- воротки крови, ммоль/л	144±1,9	141±3,2	145±5,7	140±4,2	139±3,1	135±3,2
Кальций сыворотки крови, ммоль/л	2,42±0,044	2,42±0,040	2,61±0,091	2,52±0,089	2,39±0,009	2,46±0,031
Фосфор сы- воротки крови, ммоль/л	2,13±0,080	2,15±0,074	2,07±0,132	2,22±0,23	2,01±0,051	2,31±0,082
Весовой индекс (левая поч- ка)	0,31±0,021	0,29±0,019	0,30±0,016	0,29±0,023	0,28±0,011	0,29±0,005
Весовой индекс (правая почка)	0,31±0,018	0,30±0,017	0,31±0,020	0,31±0,019	0,27±0,015	0,29±0,004
Примечание: Во всех случаях P>0,1						

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на интенсивность ПОЛ и систему антиоксидантной защиты печени при курсовом введении здоровым животным

Показатели	Экспериментальные группы					
	Контроль 1 (вода перорально), n=8	Контроль 2 (вода внутривенно), n=8	Контроль 3 (2-ГП-β-ЦД), n=8	СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	Кверцетин, 85 мг/кг, n=6
ПОЛ ПЯФ, нмоль МДА/мг белка	5,2±0,77	4,9±0,63	5,1±0,61	2,5±0,31 -52±3,8%* "	3,2±0,27 -37±7,2%#^ -35±6,4%Δ&	2,6±0,0,96 -50±2,4* "
ДК, нмоль/мг белка	0,82±0,102	0,93±0,107	1,11±0,123	0,57±0,06 -30±6,1%* "	0,77±0,126	0,53±0,081 -35±4,6* "
GSH, г/кг	3,56±0,260	3,24±0,384	3,41±0,609	5,0±0,452 +40±6,4% "	5,15±0,486 +51±6,4%#^ +59±7,3%Δ&	4,52±0,382 +27±2,2% "
Г-S-T, нмоль/мг	119±13,9	104±12,9	116±10,5	108±12,3	118±6,5	110±12,4
Г-6-ФДГ, нмоль НАДФН/ мин/мг белка	13,2±0,40	13,9±1,46	14,3±1,75	18,0±1,62	15,2±1,36	14,2±2,31
Каталаза, нмоль/ мин/мг белка	0,31±0,029	0,26±0,012	0,27±0,013	0,28±0,013	0,27±0,009	0,29±0,004
ГП, нмоль НАДФН/ мин/мг белка	271±19,7	258±15,1	279±19,5	232±8,7	256±20,3	264±21,3
СОД, уд. акт./мг белка	103±12,7	98±10,4	109±14,7	86±4,3	113±16,4	105±21,3

Примечания:

n- число животных в группе;

*-статистически значимо различаются по отношению к контролю1, тест Манна-Уитни(P<0,05);

Δ-статистически значимо различаются по отношению к контролю2, тест Манна-Уитни (P<0,05);

#-статистически значимо различаются по отношению к контролю3, тест Манна-Уитни(P<0,05);

"-изменения статистически значимы по отношению к контролю1, парный t-тест (P <0,05);

&- изменения статистически значимы по отношению к контролю 2, парный t-тест (P <0,05);

^ - изменения статистически значимы по отношению к контролю 3 парный t-тест (P <0,05).

Влияние СЭ ШБ и СЭ-2-ГП-β-ЦД на интенсивность ПОЛ и систему антиоксидантной защиты почек при курсовом введении здоровым животным

Показатели	Экспериментальные группы					
	Контроль 1 (вода перорально), n=8	Контроль 2 (вода внутривенно), n=8	Контроль 3 (2-ГП-β-ЦД), n=8	СЭ ШБ, 300мг/кг, n=8	СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15мг/кг, n=8	Кверцетин, 85 мг/кг, n=6
ПОЛ ПЯФ, нмоль МДА/мг белка	4,85±0,188	5,19±0,503	4,85±0,49	3,07±0,509 -37±3,5%* "	3,11±0,353 -35±2,4%#^ -36±3,4% Δ&	3,15±0,383 -35±5,6%* "
ДК, нмоль/мг белка	0,86±0,096	0,92±0,190	1,06±0,076	0,68±0,086	0,55±0,075 -48±2,1%#^ -40±3,1% Δ&	0,72±0,091
GSH, г/кг	2,61±0,23	2,42±0,361	2,13±0,195	1,90±0,258	2,06±0,239	2,31±0,241
Г-S-T, нмоль/мг	39,3±1,98	46,1±4,02	40,3±3,42	46,8±4,47	41,0±3,26	42,1±5,13
Г-6-ФДГ, нмоль НАДФН/мин /мг белка	21,2±1,38	18,2±1,83	19,3±1,44	20,6±1,67	21,2±2,31	20,4±3,14
Каталаза, нмоль/мин/ мг белка	0,24±0,017	0,26±0,017	0,22±0,009	0,23±0,008	0,27±0,019	0,25±0,021
ГП, нмоль НАДФН/мин /мг белка	227±13,8	230±7,9	243±10,4	231±15,1	220±10,1	234±14,2
СОД, уд. акт./мг белка	76,6±11,65	87,8±7,02	82,12±12,7	81,4±12,24	83,1±23,32	79,2±9,61

Примечания:

n- число животных в группе;

*-статистически значимо различаются по отношению к контролю1, тест Манна-Уитни(P<0,05);

Δ- статистически значимо различаются по отношению к контролю2, тест Манна-Уитни(P<0,05);

#-статистически значимо различаются по отношению к контролю3, тест Манна-Уитни(P<0,05);

"-изменения статистически значимы по отношению к контролю1, парный t-тест (P <0,05);

&- изменения статистически значимы по отношению к контролю 2, парный t-тест (P <0,05);

^ - изменения статистически значимы по отношению к контролю 3, парный t-тест (P <0,05).

Приложение Б

Микропрепараты почек крыс при курсовом введении испытуемых субстанций здоровым животным

(Окраска гематоксилин – эозином; увеличение x 160)

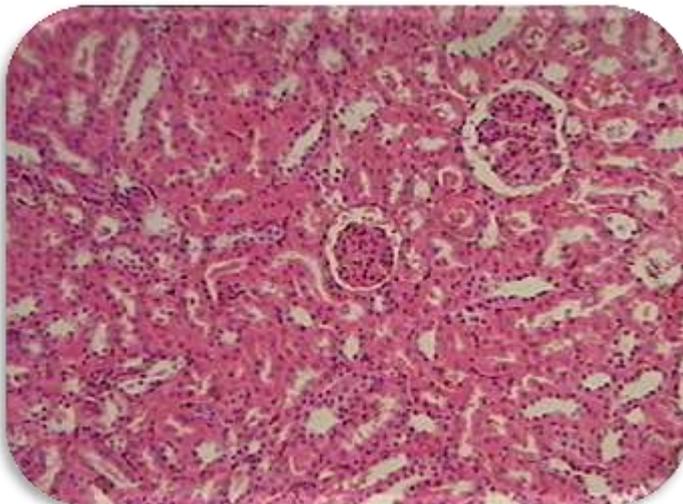


Рисунок Б.1 *Микропрепарат коркового вещества почки интактной крысы*

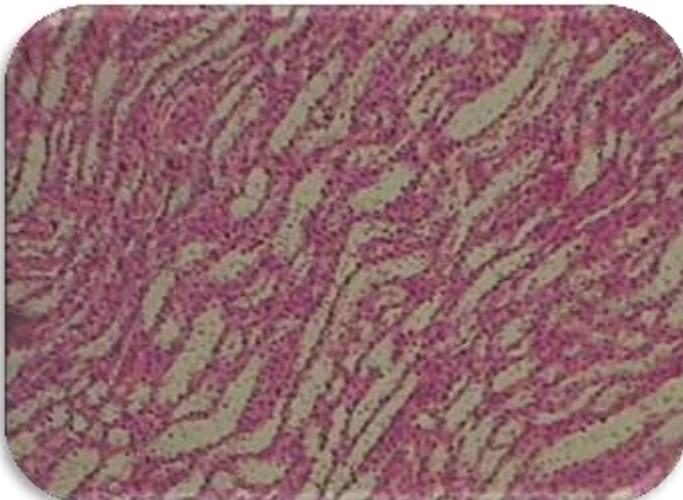


Рисунок Б.2 *Микропрепарат мозгового вещества почки интактной крысы*

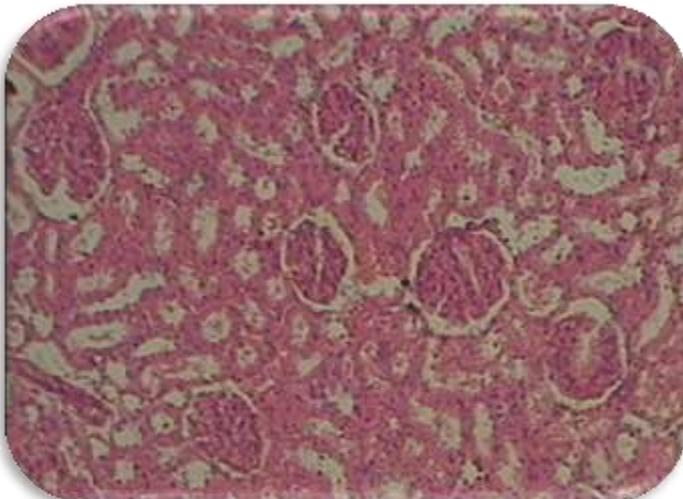


Рисунок Б.3 *Микропрепарат коркового вещества почки крысы, получавшей СЭ ШБ, 300 мг/кг*

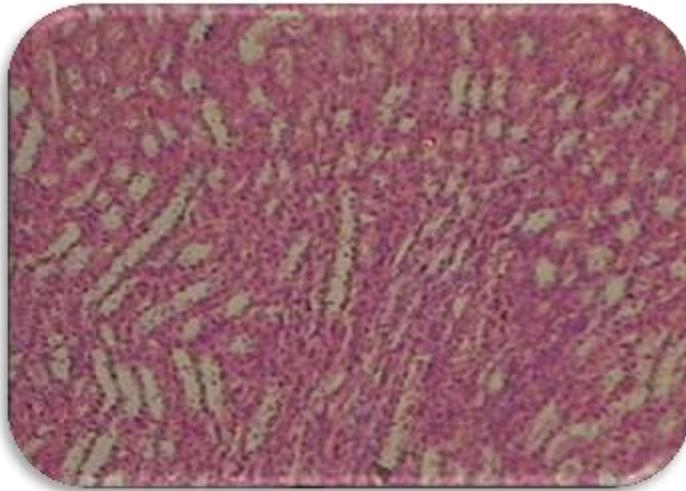


Рисунок Б.4 Микропрепарат мозгового вещества почки крысы, получавшей СЭ ШБ, 300 мг/кг

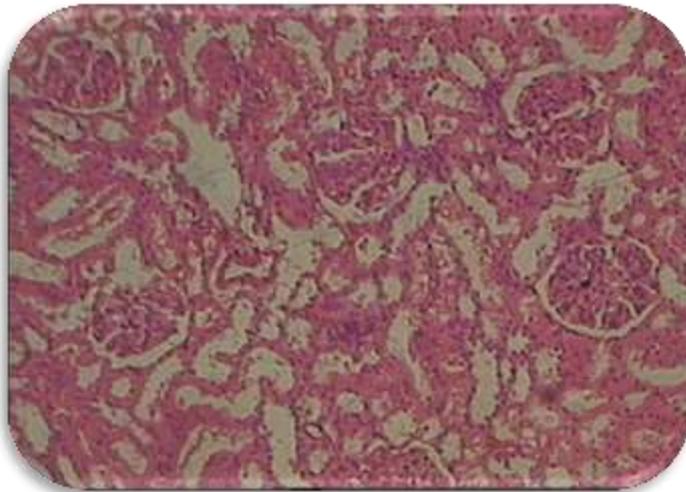


Рисунок Б.5 Микропрепарат коркового вещества почки крысы, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг

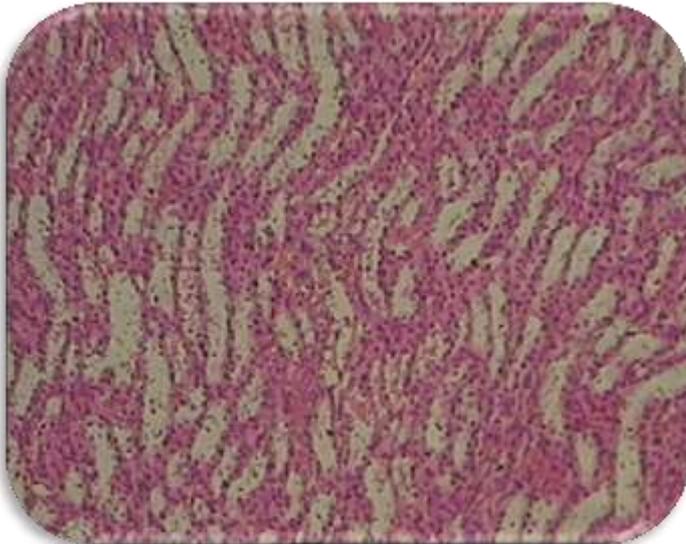
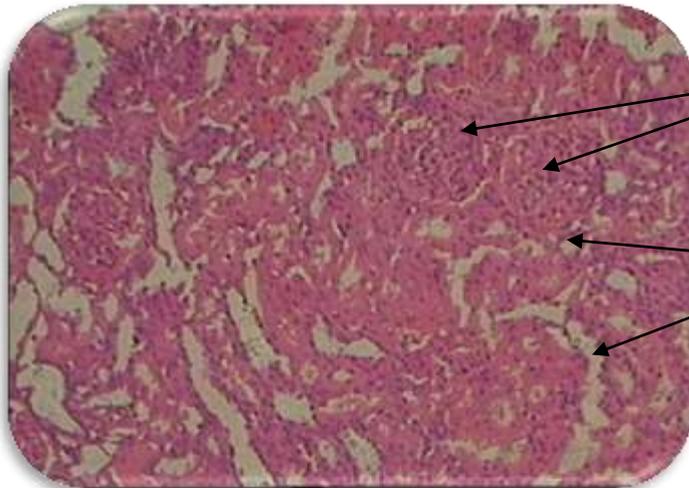


Рисунок Б.6 Микропрепарат мозгового вещества почки крысы, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг

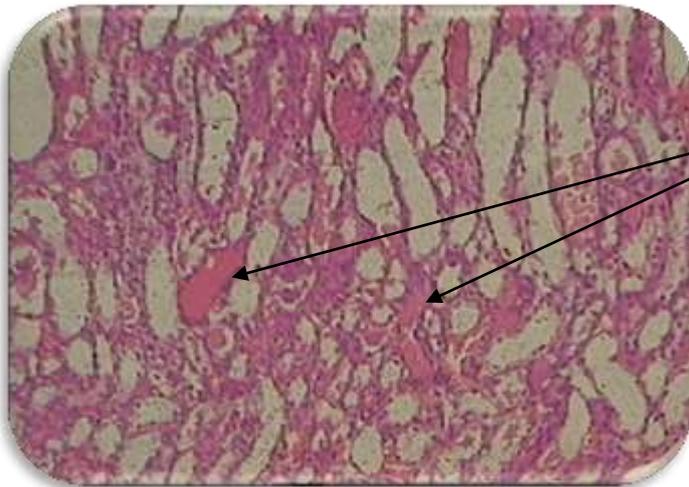
Микропрепараты почек крыс на фоне введения хлорида ртути (II)
(Окраска гематоксилин – эозином; увеличение x 160)



отек капилляров клубочков, уменьшение просвета капсулы

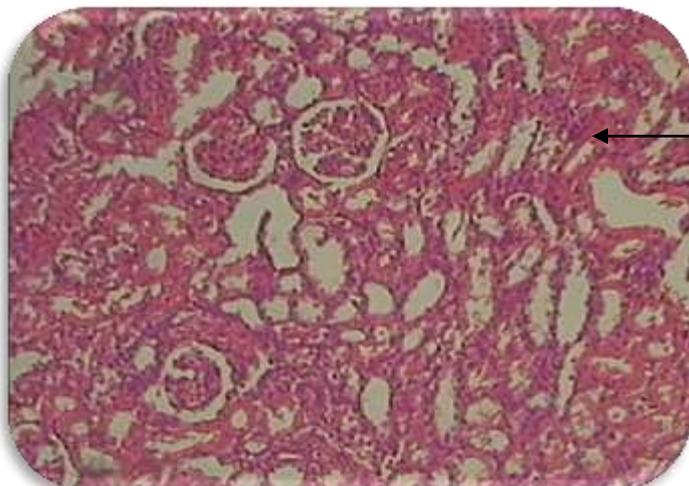
Эпителий канальцев некротизирован и слущен

Рисунок Б.7 Микропрепарат коркового вещества почки контрольной крысы (введение хлорида ртути (II))



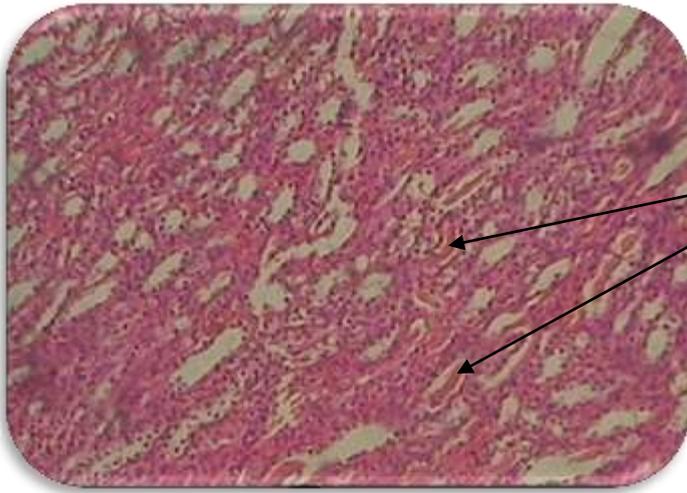
Просветы большинства канальцев заполнены аморфным эозинофильным содержимым

Рисунок Б.8 Микропрепарат мозгового вещества почки контрольной крысы (введение хлорида ртути (II))



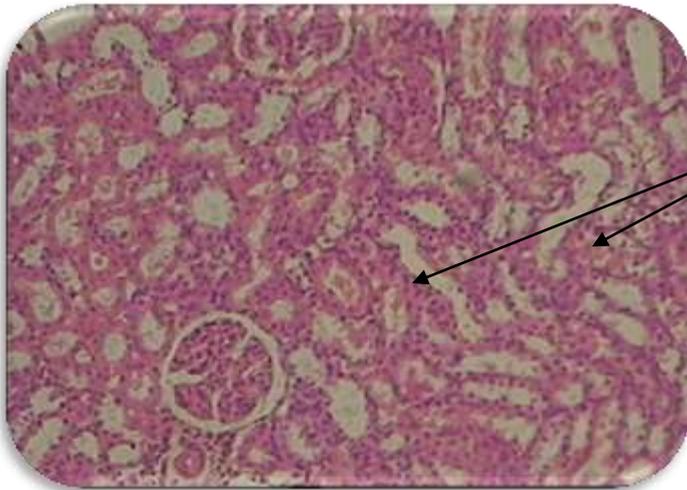
Единичные фрагменты канальцев содержат депозит

Рисунок Б.9 Микропрепарат коркового вещества почки крысы, получавшей СЭ ШБ при поражении хлоридом ртути (II), 300 мг/кг



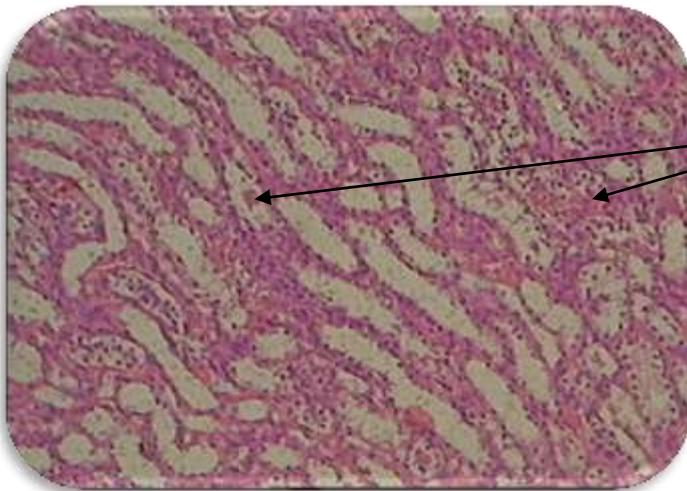
Аморфные депозиты в
просветах канальцев

Рисунок Б.10 Микропрепарат мозгового вещества почки крысы, получавшей СЭ ШБ при поражении хлоридом ртути (II), 300 мг/кг



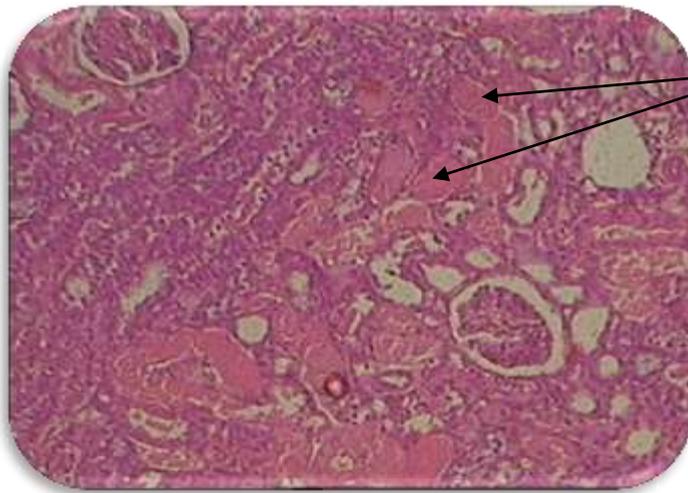
Канальцы с умеренным
количеством аморфного
вещества

Рисунок Б.11 Микропрепарат коркового вещества почки крысы, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД при поражении хлоридом ртути (II), 15 мг/кг



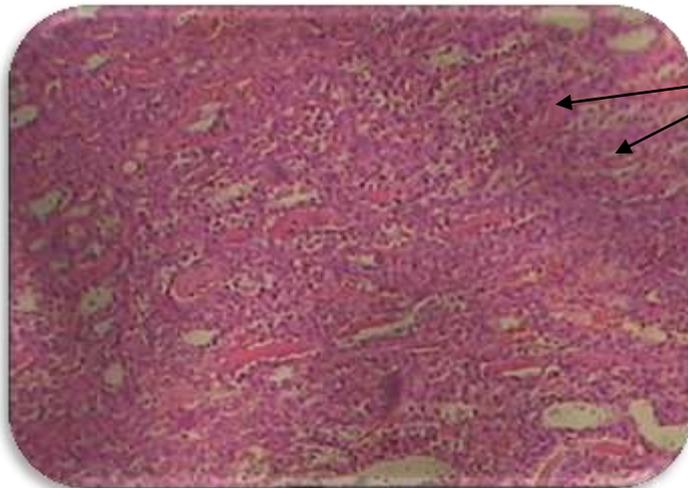
Небольшое количество
аморфных депозитов в
просветах канальцев

Рисунок Б.12. Микропрепарат мозгового вещества почки крысы, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД при поражении хлоридом ртути (II), 15 мг/кг



Просветы канальцев за-
полнены аморфными де-
позитами

Рисунок Б.13 Микропрепарат коркового вещества почки крысы, получавшей урокам при поражении хлоридом ртути (II), 1,25 мл/кг



Просветы канальцев за-
полнены аморфными де-
позитами

Рисунок Б.14 Микропрепарат мозгового вещества почки крысы, получавшей урокам при поражении хлоридом ртути (II), 1,25 мл/кг

Микропрепараты печени крыс при курсовом введении испытуемых субстанций здоровым животным
(Окраска гематоксилин – эозином; увеличение $\times 160$)

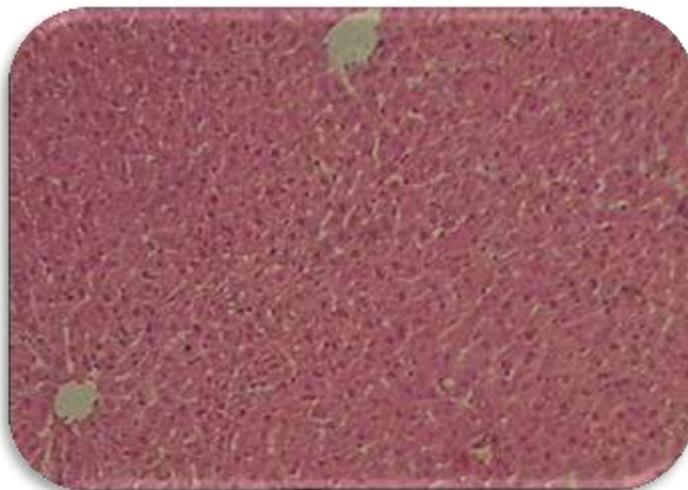


Рисунок Б.15 Микропрепарат интактной печени крысы

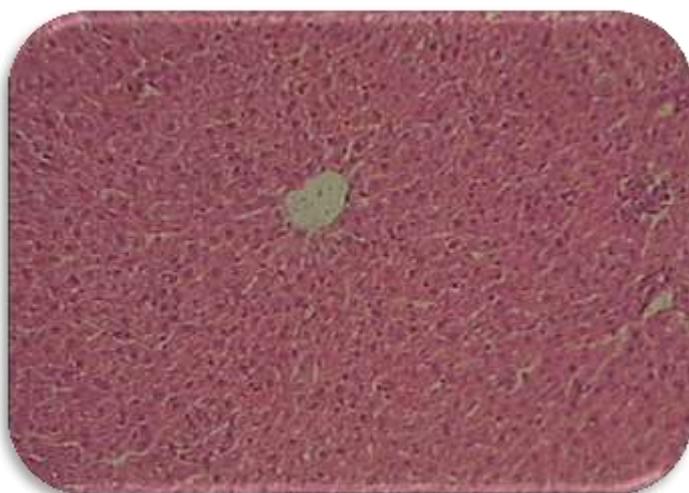


Рисунок Б.16 Микропрепарат печени крысы, получавшей СЭ ШБ, 300 мг/кг

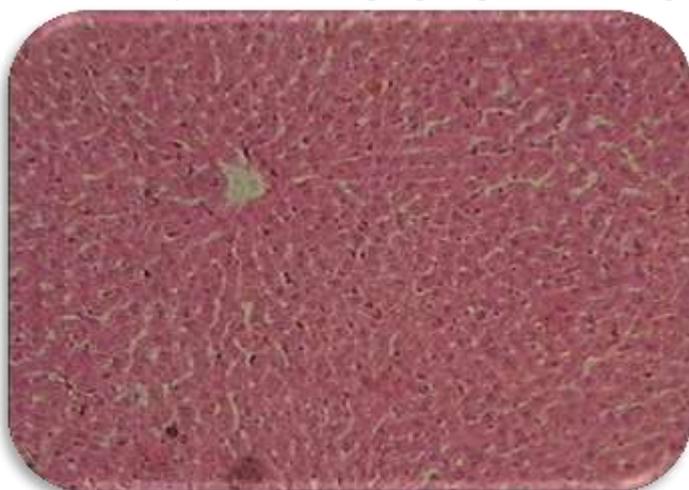
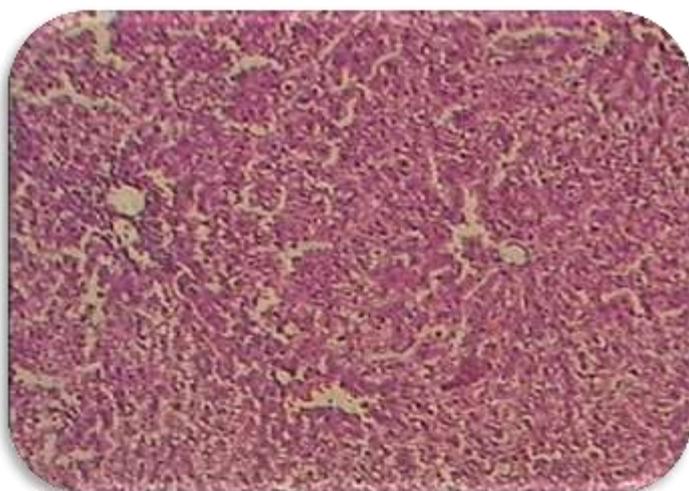


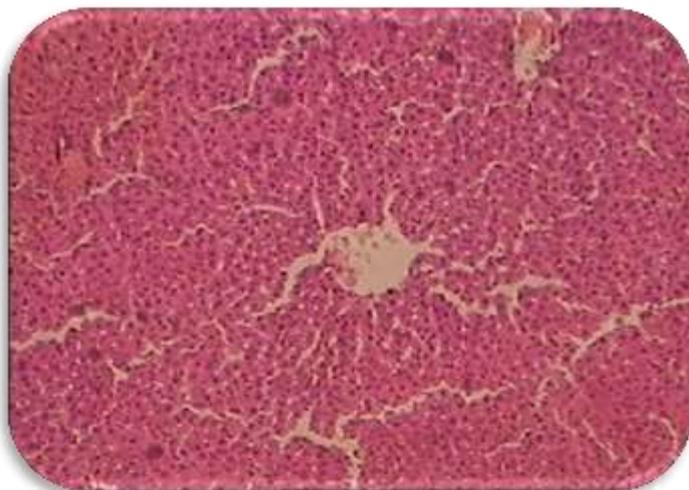
Рисунок Б.17 Микропрепарат печени крысы, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД, 15 мг/кг

**Микропрепараты печени крыс на фоне введения парацетамола
(Окраска гематоксилин – эозином; увеличение $\times 160$)**



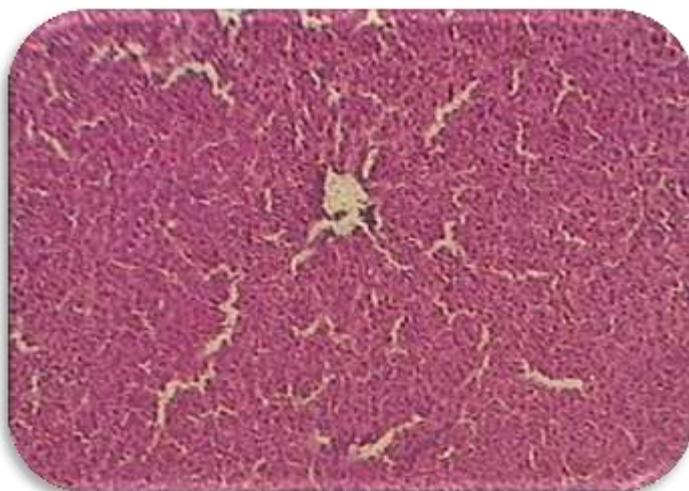
Выраженная гидропическая дистрофия, с появлением в клетке вакуолей

Рисунок Б.18 Микропрепарат печени контрольной крысы (введение парацетамола)



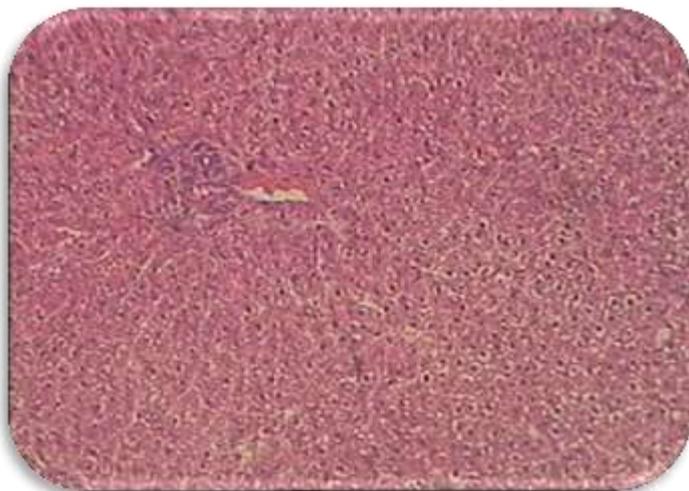
Начальные проявления гидropической дистрофии в форме просветления цитоплазмы клеток, преимущественно по их периферии

Рисунок Б.19 Микропрепарат печени крысы, получавшей СЭ ШБ на фоне введение парацетамола, 300 мг/кг



Цитоплазма клеток по периферии просветлена

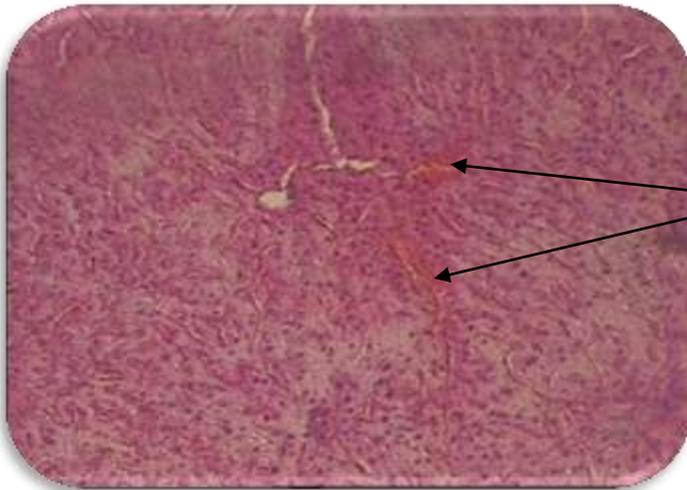
Рисунок Б.20 Микропрепарат печени крысы, получавшей СЭ- 2-ГП-β-ЦД на фоне введение парацетамола, 15 мг/кг



Гидropическая дистрофия имеет диффузный характер

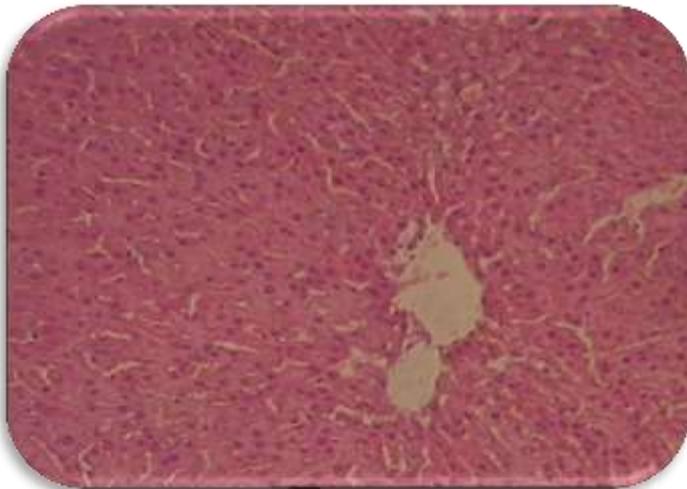
Рисунок Б.21 Микропрепарат печени крысы, получавшей легалон на фоне введение парацетамола, 100 мг/кг

Микропрепараты печени и почек крыс на фоне введения циклофосфана
(Окраска гематоксилин – эозином; увеличение $\times 320$)



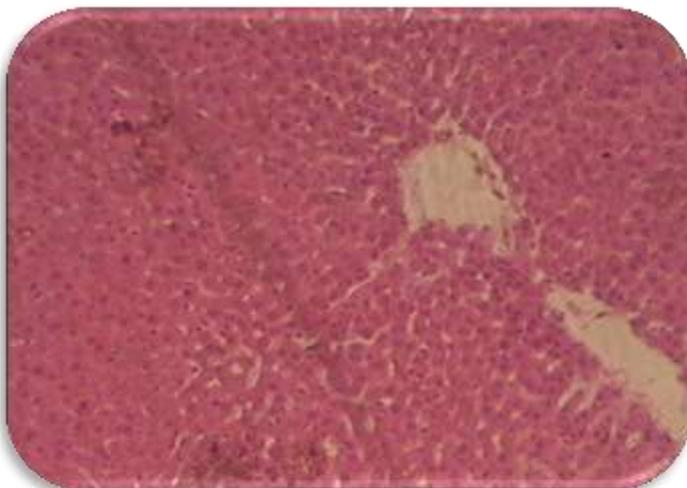
Очаги некроза в 3-х (перивенулярных) зонах печеночных долек

Рисунок Б.22 Микропрепарат печени контрольной крысы (введение циклофосфана)



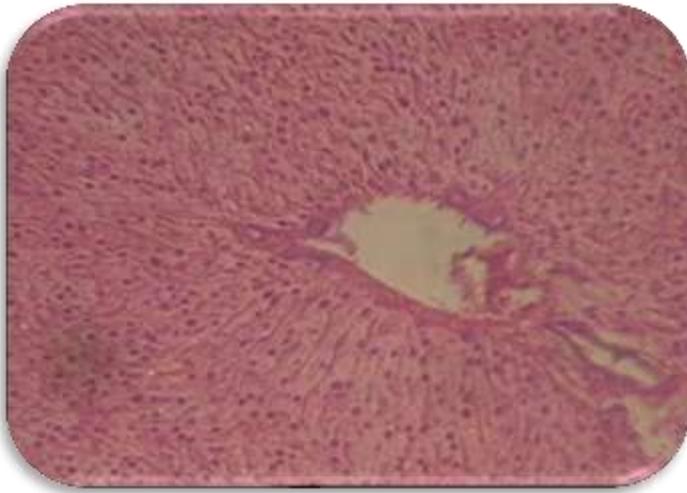
Ядра клеток имеют правильную округлую форму, гладкую поверхность, признаки кариорексиса и кариолизиса обнаруживаются в единичных клетках

Рисунок Б.23 Микропрепарат печени крысы, получавшей СЭ ШБ на фоне введения циклофосфана



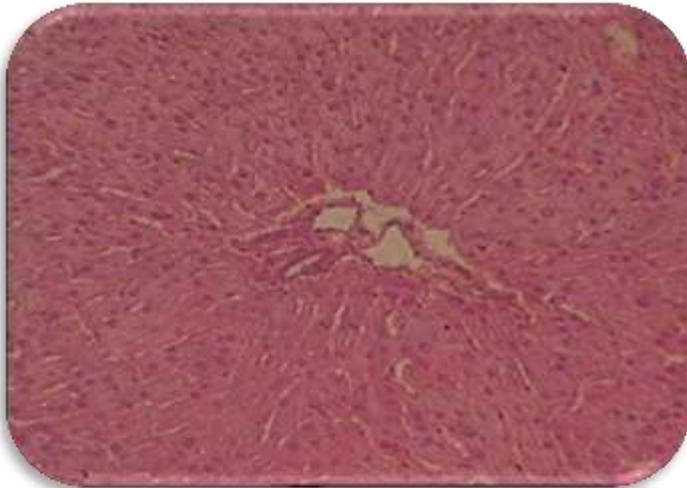
Дольковое и балочное строение долек изменено незначительно, границы между клетками четкие, цитоплазма равномерно эозинофильная

Рисунок Б.24 Микропрепарат печени крысы, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД на фоне введения циклофосфана



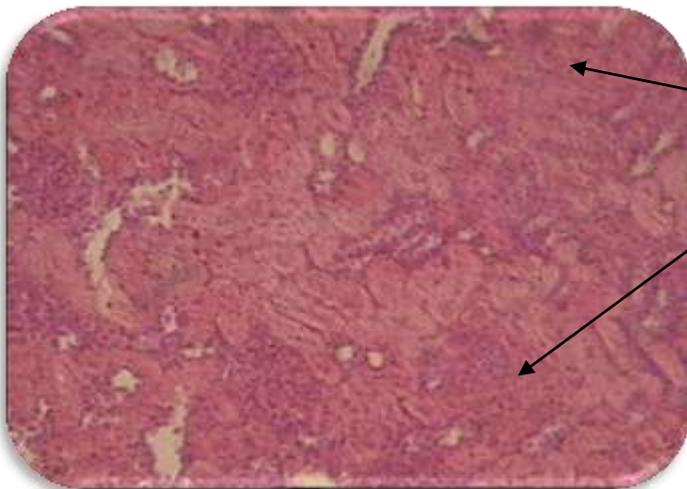
Балочная структура сохранена частично, наблюдается грубая извитость хода печеночных балок. Цитоплазма гепатоцитов утратила сродство к красителям

Рисунок Б.25. Микропрепарат печени крысы, получавшей урокам на фоне введения циклофосфана



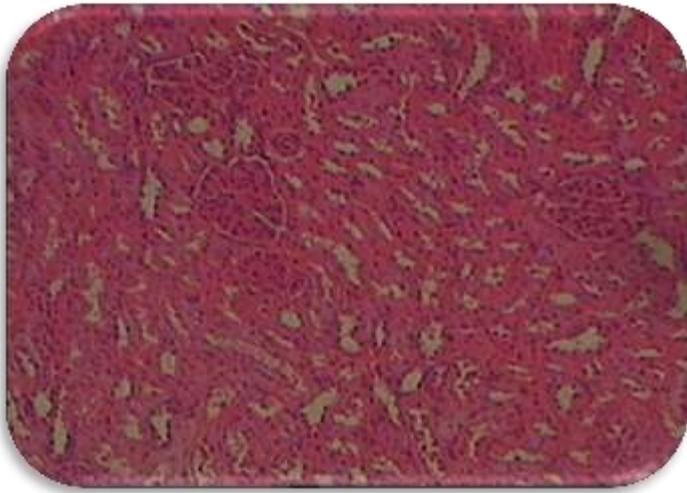
Нарушение структурной организации печеночных балок, утрата гепатоцитами естественной зернистости

Рисунок Б.26. Микропрепарат печени крысы, получавшей легалон на фоне введения циклофосфана



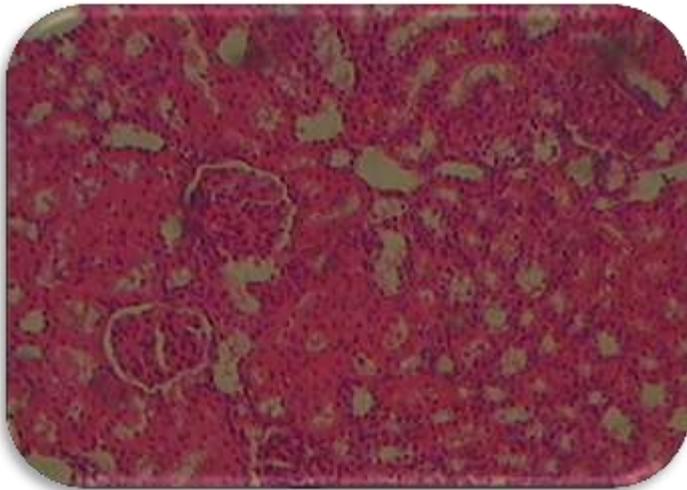
Участки фокального некроза канальцевого аппарата

Рисунок Б.27 Микропрепарат почки контрольной крысы (введение циклофосфана)



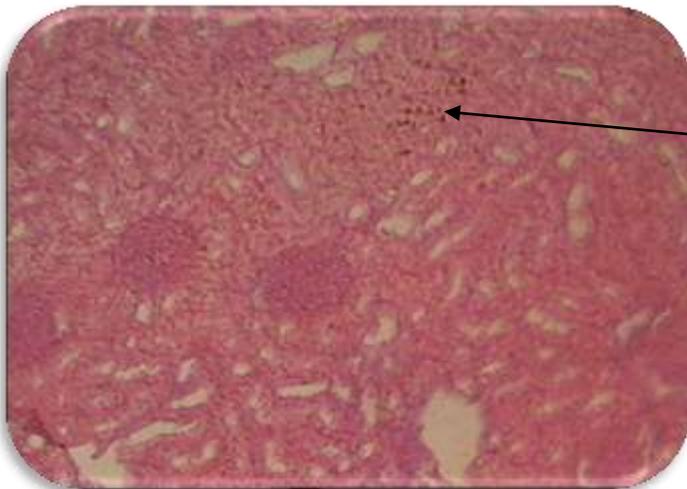
Эпителий всех отделов канальцевого аппарата нефрона сохранен

Рисунок Б.28 Микропрепарат почки крысы, получавшей СЭ ШБ на фоне введения циклофосфана



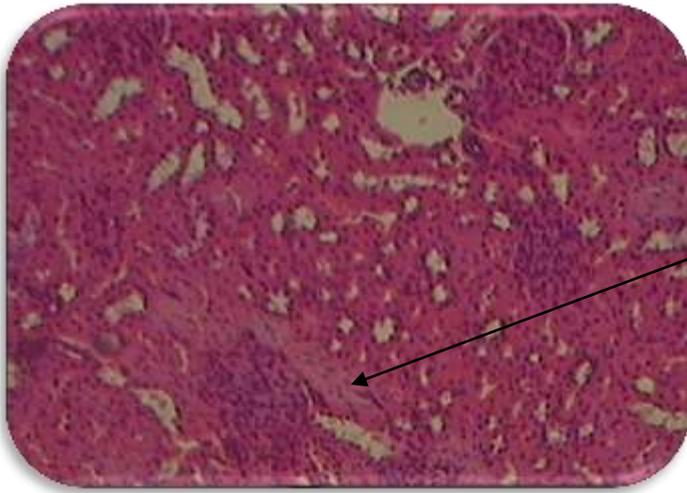
Эпителий почечных канальцев в большей части сохранен, просветы канальцев свободны от содержимого

Рисунок Б.29 Микропрепарат почки крысы, получавшей СЭ-2-ГП-β-ЦД на фоне введения циклофосфана



Очаги фокального некроза канальцев

Рисунок Б.30. Микропрепарат почки крысы, получавшей урокам на фоне введения циклофосфана



Ограниченные очаги
некроза

Рисунок Б.31 Микропрепарат почки крысы, получавшей легалон на фоне введения циклофосфана