МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ОРГАНИЗАЦИИ ФАРМАЦИИ

О. В. Мушкина

НЕКЛИНИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Минск БГМУ 2024

УДК 615.332.015.4

Мушкина, О. В. Неклинические методы оценки фармакологической активности растительного сырья / О. В. Мушкина. – Минск : БГМУ, 2024. – 206 с. ISBN 978-985-21-1492-9.

В монографии приведены результаты собственных исследований в области изучения фармакологической активности лекарственных препаратов растительного происхождения с учетом имеющегося опыта фармакогнозии и фитотерапии.

В работе представлены модели in vivo и in vitro наиболее распространенных патологических процессов, а также способы оценки их развития и эффективности применения фитопрепаратов.

Монография предназначена для студентов медицинских и биологических специальностей, слушателей курсов повышения квалификации, специалистов в области доклинических исследований и регистрации лекарственных средств, а также широкого круга читателей, интересующихся вопросами фитотерапии.

Табл. 83. Ил. 30. Библиогр. 147 назв.

Рекомендовано Советом Бел. гос. мед. универ.

Р е ц е н з е н т ы:
д-р фарм. наук, проф., ректор Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета И. А. Наркевич; д-р мед. наук, проректор по научно-исследовательской работе Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета Е. Г. Асирян; канд. фарм. наук, зам. директора по развитию и промышленной поддержке общества с ограниченной ответственностью «Рубикон» А. Н. Мастыков; канд. мед. наук, доц., зав. каф. клинической фармакологии Белорусского государственного медицинского университета И. С. Романова

ISBN 978-985-21-1492-9

© Мушкина О. В., 2024
© УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2024

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АлАТ — аланинаминотрансфераза
АОС — антиоксидантная система
АсАТ — аспартатаминотрансфераза
АФК — активные формы кислорода
в/ж — внутрижелудочно
ВГ — восстановленный глутатион
ГГТ — гамма-глутаматтрансфераза
ГТФ — глутатионтрансфераза
ИП — индекс Паулса
ИР — инсулинорезистентность
КОЕ — колониеобразующая единица
МДА — малоновый диальдегид
МКП — массовый коэффициент печени
ММП — матриксная металлопротеиназа
МПК — минимальная подавляющая концентрация
ПА — противоязвенная активность
ПАФ — полный адъювант Фрейнда
ПОЛ — перекисное окисление липидов
СД — сахарный диабет
СОД — супероксиддисмутаза
СОЖ — слизистая оболочка желудка
СПСО — собственная пластинка слизистой оболочки
СТЗ — стрептозотоцин
ТБК — тиобарбитуровая кислота
ТК — тритерпеноиды клюквы
ТО — тритерпеноиды облепихи
ЩФ — щелочная фосфатаза
HbA1c — гликированный гемоглобин

ВВЕДЕНИЕ

Разнообразие биологически активных веществ растительного происхождения обеспечивает широкий спектр фармакологического действия, комплексный органопротекторный эффект, гармонизирующее воздействие на все органы и системы организма, минимум побочных эффектов. Фитопрепараты, назначенные своевременно, позволяют снизить тяжесть заболевания, улучшить качество жизни, смягчить отрицательное воздействие на организм человека стрессовых и неблагоприятных экологических и производственных факторов. Относительная дешевизна по сравнению с синтетическими лекарственными средствами и возможность приготовления в домашних условиях обеспечивают высокую степень доступности препаратов на основе лекарственного растительного сырья.

Качество современных препаратов из лекарственных растений постоянно улучшается благодаря широкому применению в их производстве инновационных технологий, начиная с выделения биологически активных веществ и заканчивая методами производства и стандартизации.

Выбор растительного сырья в качестве фармацевтической субстанции подразумевает прежде всего доказательство фармакологической активности. В этой связи первым этапом разработки новых лекарственных средств растительного происхождения является комплекс научных исследований по изучению специфической фармакологической активности лекарственного растительного сырья. При этом выбор методики и модели изучения фармакологической активности определяет дальнейшую судьбу растительного препарата в части его применения, цены и продвижения на фармацевтическом рынке.

Перечень методов установления фармакологической активности in vitro и in vivo достаточно велик, но их выбор зависит от особенностей растения, наличия оборудования и реактивов, продолжительности, стоимости и доказательной значимости эксперимента. Поэтому в настоящей монографии мы приводим результаты собственных экспериментальных исследований и обзор литературных данных по оценке различных видов фармакологической активности лекарственных растений и фитопрепаратов: антиоксидантной, антимикробной, ранозаживляющей, противоязвенной, противовоспалительной и гипогликемической.

1. ТРЕБОВАНИЯ К ЛАБОРАТОРНЫМ ЖИВОТНЫМ И УСЛОВИЯМ ИХ СОДЕРЖАНИЯ

К лабораторным животным (тест-системам) относят специально разводимые виды в лабораториях, вивариях и питомниках с целью дальнейшего их использования в экспериментах. Вид, размер и характеристики тест-систем должны соответствовать видам доклинических исследований.

Для корректного выбора и этичного использования лабораторного животного, обеспечения правильности и достоверности эксперимента и системы контроля качества исследования необходимо соблюдать требования к виду и условиям содержания биологических тест-систем.

Основными условиями для правильного выбора релевантного вида лабораторного животного для исследования являются:

1) размер животных, который определяет возможность:

– введения и оптимизации расхода тестируемых объектов в исследовании;

– проведения инструментальных исследований;

– забора биологических образцов в объеме, достаточном для получения всех необходимых показателей;

2) сходство строения и функционирования органов и систем на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях у человека и релевантного вида животных, которое определяет схожесть метаболических путей;

3) при исследовании фармакодинамики — подобие клинической картины моделируемой патологии у животного с таковой при заболевании у человека.

В зависимости от генетического статуса лабораторных животных подразделяют на следующие виды:

1) рандомбредные (беспородные);

2) аутбредные (нелинейные, гетерозиготные) — генетически не охарактеризованные животные с широкой генетической вариацией между индивидами; большинство их генов находится в гетерозиготном состоянии;

3) инбредные (линейные, гомозиготные) — широко используются в биомедицинских исследованиях; это линия, которая поддерживается вязками между братьями и сестрами (также разрешено

спаривание потомства с родителем) на протяжении как минимум 20 или более последовательных поколений;

4) трансгенные.

Одним из наиболее распространенных видов лабораторных животных-мышей является домовая мышь — *Mus musculus L*. Первоначально в исследованиях применяли исключительно белых мышей — аутбредных животных. В настоящее время основными линиями мышей, используемых в лабораторной практике, являются C57BL/6 (с использованием данной линии проведено до 43,25 % исследований) и BALB/c (до 19,93 % исследований).

Кроме того, в лабораторной практике чаще всего используют серых крыс, лабораторных аутбредных крыс линии Wistar и Sprague-Dawley — линии беспородных крыс-альбиносов вида *Rattus norvegicus*. Линию Wistar создали в институте Вистара (г. Филадельфия, США) в 1906 году. От нее произошло большинство современных линий лабораторных крыс. Для них характерны широкая голова, длинные уши, длина хвоста всегда короче длины тела. Наиболее часто крысы используются при многоцелевых исследованиях, а также при изучении инфекционных заболеваний, оценке безопасности и эффективности препаратов, в гериатрических и хирургических исследованиях. Линия Sprague-Dawley создана из альбиносов Wistar в 1925 году на фермах Sprague Dawley в г. Мэдисон (США). Крысы Sprague-Dawley представляют собой гибридную альбиносную линию с длинными узкими головами, хвост равен телу или длиннее его. Они имеют высокую скорость размножения и низкий уровень заболеваемости спонтанными опухолями. Спокойный темперамент этой линии крыс и удобство в обращении привлекают исследователей. Они применяются для создания контролируемой по времени беременности, оценки безопасности, эффективности исследуемых средств, в гериатрических, онкологических и хирургических исследованиях.

Исследования проводятся на здоровых животных, свободных от патогенной микрофлоры и паразитов. В случае ухудшения состояния здоровья и (или) гибели, не связанных с проведением исследования, указанных животных необходимо изолировать от основной группы и подвергнуть, при необходимости, лечению или гуманному умерщвлению.

Эксперименты проводят на животных обоего пола, учитывая полученные данные отдельно для самок и самцов. В одном экспе-

рименте рекомендуется использовать животных одного возраста, так как в зависимости от него может изменяться фармакокинетика. Разброс исходной массы тела животных в одном эксперименте не должен превышать ±10 %.

Условия проведения исследований на тест-системах должны исключать воздействие внешних факторов, способных повлиять на качество получаемых данных. Условия содержания лабораторных животных должны быть стандартными, обеспечивающими надлежащее состояние здоровья животных и учитывать современные требования к параметрам микроклимата, режиму освещения, площади размещения и конструкции клеток и боксов (табл. 1).

Таблица 1

Основные требования к условиям содержания животных

Виды	Условия содержания			
	Температура, °С	Влажность, %	Потребление пищи в день	Потребление воды в день
Мыши	19–23	50 (45–70)	3–6 г	4–7 мл
Крысы	19–23	50 (60–80)	12–15 г	15–25 мл
Хомяки	19–23	50 (40–60)	8–12 г	8–10 мл
Морские свинки	18–23	50 (50–70)	35 г	50–100 мл
Кролики	15–19	50	40 г/кг	60–140 мл
Кошки	18–22	50	80–100 г	200 мл
Собаки	15–21	50 (45–65)	2–3 % массы тела	30 мл/кг

Необходимо, чтобы корма и вода для животных обеспечивали их пищевые потребности, были свободными от патогенных микроорганизмов, вредных примесей и не влияли на результаты доклинического исследования. Должна проводиться их периодическая проверка на загрязнение.

В пищевом рационе лабораторных животных обычно используются 2 вида корма:

1) на основе натуральных ингредиентов;

2) на основе очищенных ингредиентов.

Корм на основе натуральных ингредиентов. В его состав часто входят кукурузный глютен, пшеница, сало/жир, кукурузное масло и соевый шрот. Форма — гранулированная. Натуральный корм намного дешевле корма с очищенными ингредиентами. Однако в зависимости от происхождения натуральных ингредиентов, используемых в рационе питания (состав почвы, использование пестицидов),

и погодных условий, которым они подвергались, состав корма с натуральными ингредиентами заметно варьирует, что может быть причиной расхождения в экспериментальных результатах.

Корм на основе очищенных ингредиентов представляет собой комбинацию очищенных ингредиентов в нормированной концентрации. Данный корм стандартизирован и может быть воспроизведен в любой лаборатории. Так, в частности, требования по содержанию белка выполняют за счет внесения молочного белка казеина с добавлением метионина; углеводы вносят в виде кукурузного крахмала и сахарозы; кукурузное масло обеспечивает потребность в жирах, а целлюлоза является источником пищевых волокон; витамины и минеральные компоненты добавляют в определенных пропорциях с учетом физиологических норм. Использование стандартизированного корма на основе очищенных ингредиентов приводит к более воспроизводимым результатам внутри и между институтами и/или лабораториями.

Поилки в клетках должны гарантировать постоянное снабжение животных водой. Для обеспечения приемлемого качества воды рекомендовано проводить периодический мониторинг pH, жесткости, микробного и химического загрязнения, в случае использования иммунодефицитных мышей регламентирована стерилизация.

Клетки для содержания животных должны быть комфортабельными, обеспечивать необходимое пространство для свободного передвижения, простыми в раздаче корма и воды, обеспечивать сухое и чистое содержание животных, легко очищаться, быть устойчивыми к стерилизации. Клетки и другой инвентарь подлежат стерилизации до размещения животных. Клетки с их принадлежностями меняют 1–2 раза в неделю, стеллаж — 1 раз в 2 недели.

Подстилка в клетках должна обладать хорошей гигроскопичностью, не содержать вредных веществ и микроорганизмов, использоваться только после стерилизации. Для грызунов подстилка должна меняться 1–3 раза в неделю, для крупных животных — ежедневно. Все манипуляции с лабораторными животными должны быть рассмотрены и утверждены комиссией по биоэтике.

Вновь прибывших животных изолируют для оценки состояния их здоровья. Длительность карантина зависит от особенностей планируемого эксперимента. Во время карантина проводится контроль здоровья лабораторных животных в установленном порядке (наблю-

дение общего состояния, взвешивание, бактериологические, иммунологические, биохимические исследования).

Места содержания животных и помещения подвергаются периодической санитарной обработке, не оказывающей влияния на результаты исследования. В помещениях для содержания животных запрещается проведение каких-либо манипуляций с животными, использование моющих средств, инсектицидов и других химических веществ, способных вызвать стресс или повлиять на здоровье лабораторных животных.

Для предотвращения загрязнения окружающей среды трупы животных и биологические отходы до вывоза или сжигания должны храниться в морозильных камерах, закрытых контейнерах.

Для обеспечения индивидуального наблюдения в процессе выполнения исследования животные должны быть идентифицированы. Все клетки, вольеры, контейнеры для содержания животных также подлежат маркировке. Животные одного вида, предназначенные для исследования различных объектов, пространственно изолируются друг от друга с соответствующей идентификацией.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Гомзикова, М. О.* Основы проведения биомедицинских исследований на лабораторных животных : учеб. пособие / М. О. Гомзикова, А. Г. Маланьева, З. Ю. Сираева. Казань : МеДДоК, 2021. 124 с.

2. *Коробейникова, Е. П.* Лабораторные животные — биомодели и тест-системы в фундаментальных и доклинических экспериментах в соответствии со стандартами надлежащей лабораторной практики (НЛП/GLP) / Е. П. Коробейникова, Е. Ф. Комарова // Журн. фундам. медицины и биологии. 2016. № 1. С. 30–36.

3. *Методология* доклинических исследований [Электронный ресурс] / М. М. Галагудза [и др.] // Консультант GLP-PLANET. Мнение фармацевтической отрасли : моногр. / науч. ред. В. Г. Макаров, В. Н. Шестаков. Москва, 2021. С. 56–73. Режим доступа: https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/11/monografiya_consultant_glp-planet_2021_final.pdf. Дата доступа: 14.04.2023.

4. *Об утверждении* Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств [Электронный ресурс] : решение Совета Евраз. экон. комис. от 3 ноября 2016 г., № 81 // Таможенные документы : онлайн-справ. Режим доступа: https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0081/. Дата доступа: 12.04.2023.

5. *Руководство* по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В. П. Фисенко [и др.]. Москва : ИИА Ремедиум, 2000. 398 с.

6. *Надлежащая* лабораторная практика = Належная лабараторная практыка : ТКП 125-2008 (02040) / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. Минск, 2008. 34 с.

2. МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ IN VIVO

2.1. ВОСПАЛЕНИЕ КАК ПАТОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС

Воспаление (*греч.* phlogosis; *лат.* inflammatio) — это патологический процесс, развивающийся в ответ на повреждение ткани флогогенным агентом — патогенным фактором, вызывающим воспаление. Воспаление характеризуется местными стадийными изменениями состояния терминального сосудистого русла — системы микроциркуляции, соединительной ткани и нервной системы. Выделяют следующие стадии воспаления:

1. Стадия альтерации (повреждения).

– первичная альтерация;

– вторичная альтерация.

2. Стадия экссудации и эмиграции.

3. Стадия пролиферации и репарации.

– пролиферация;

– завершение воспаления.

Патофизиологическая роль процесса воспаления состоит в отграничении, уничтожении и/или удалении флогогена из органов и тканей, а также в восстановлении их структуры и функции. Если воспаление затрагивает значительную массу ткани или вызвано действием сильного флогогена, то оно сопровождается общей реакцией организма как единого целого — системной или генерализованной воспалительной реакцией или системным воспалительным ответом на действие флогогена.

Флогогенные факторы могут быть экзогенного и эндогенного происхождения.

К экзогенным флогогенным факторам относятся:

– биологические — бактерии, вирусы, патогенные грибы, простейшие, насекомые, клещи, черви;

– физические — различные виды механической травмы, внедрение в ткани инородных тел или частиц, термические факторы (ожог, обморожение), ионизирующая радиация, ультрафиолетовое облучение;

– химические — кислоты, щелочи, яды, органические растворители.

Эндогенные флогогенные факторы включают:

– образование иммунных комплексов;

– реакцию ткани на опухолевый процесс;

– местные нарушения кровообращения (гиперемия, ишемия, тромбоз, эмболия);

– нарушение обмена веществ.

Различают острое и хроническое воспаление. Острое воспаление имеет короткую продолжительность (от нескольких дней до нескольких недель) и начинается после повреждения ткани флогогенным фактором. Это приводит к изменению локального кровотока, увеличению сосудистой проницаемости, образованию воспалительного экссудата и выходу лейкоцитов из микрососудов (экстравазации). Все эти процессы имеют ступенчатый характер и приводят к образованию гиперемии, отека или гнойного экссудата. В большинстве случаев на начальных стадиях воспаления (6–24 часа) в его очаге накапливаются преимущественно нейтрофилы, а на более поздних стадиях (24–48 часов) — моноциты. Лейкоциты повреждают и фагоцитируют микроорганизмы, разрушают некротическую ткань и чужеродные антигены. Однако они могут усиливать воспалительное повреждение и собственной ткани за счет освобождения ферментов, активных форм кислорода и медиаторов воспаления. Экстравазация лейкоцитов включает такие этапы, как адгезия их к эндотелию сосудов и трансмиграция, которые зависят от взаимодействия особых молекул адгезии, находящихся на мембране как лейкоцитов, так и эндотелиальных клеток. К ним относятся селектины, некоторые иммуноглобулины, интегрины и муциноподобные гликопротеиды. Появление молекул адгезии, увеличение их количества и изменение свойств зависят от действия медиаторов адгезии лейкоцитов. Такими медиаторами являются: гистамин, эндотоксин, фактор активации тромбоцитов, интерлейкин-1, ФНО — фактор некроза опухоли; пептид C5a и комплекс C5b-9, образующиеся при активации системы комплемента; а также лейкотриен B.

Местные признаки воспаления:

1. Покраснение (rubor) — обусловлено расширением артериол, развитием артериальной гиперемии и «артериализацией» венозной крови в очаге воспаления.

2. Припухлость (tumor) — обусловлена увеличением кровенаполнения ткани, образованием инфильтрата вследствие развития экссудации и отека, набухания тканевых элементов.

3. Жар (calor) — повышение температуры воспаленного участка, которое развивается вследствие усиленного притока теплой артериальной крови, а также в результате активации метаболизма, повышения теплопродукции и теплоотдачи в очаге воспаления.

4. Боль (dolor) — возникает в результате раздражения окончаний чувствительных нервов различными биологически активными веществами (гистамин, серотонин, брадикинин, некоторые простагландины и др.), сдвига pH внутренней среды в кислую сторону, механического сдавления рецепторов нервных волокон воспалительным отеком.

Общие признаки воспаления:

1. Изменение количества лейкоцитов в периферической крови.

2. Лихорадка, которая развивается под влиянием поступающих из очага воспаления пирогенных факторов.

3. Изменение количества и качественного состава белков плазмы крови (диспротеинемия). При остром воспалительном процессе в крови накапливаются синтезируемые гепатоцитами, макрофагами и другими клетками так называемые «белки острой фазы». Для хронического течения воспаления характерно увеличение в крови содержания α- и особенно γ-глобулинов, дисбаланс альбуминов и глобулинов.

4. Увеличение скорости оседания эритроцитов (СОЭ), что особенно имеет место при хронических воспалительных процессах, обусловлено повышением вязкости крови, снижением отрицательного заряда и агломерацией эритроцитов, изменениями физико-химических констант, состава белков (диспротеинемии) крови, подъемом температуры.

5. Изменения содержания гормонов в крови, которые заключаются, как правило, в увеличении концентрации катехоламинов и кортикостероидов.

2.1.1. Генерализованное воспаление, индуцированное каррагенаном

Воспаление индуцируют внутрибрюшинным введением крысам 1 мл 1%-ного раствора λ-каррагенана на изотоническом растворе хлорида натрия. Через 2 часа внутрижелудочно (в/ж) вводят исследуемые препараты. Введение осуществляют ежедневно, длительность зависит от показаний к применению и предполагаемого периода лечения.

О противовоспалительной активности судят по уровню С-реактивного белка (СРБ) и активности индикаторных ферментов аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрасферазы (АсАТ), γ-глутаматтрансферазы (ГГТ), малонового диальдегида (МДА), диеновых кетонов (ДК), наличию антиовариальных антител (АОА).

Объекты — *ольха черная, ольха серая.* На модели генерализованного каррагенанового воспаления изучали противовоспалительную активность водных настоев листьев ольхи черной (*Alnus glutinosa L.*) и листьев ольхи серой (*Alnus incana Moench.*), которые вводили крысам 7 дней ежедневно в дозе 200 мг/кг. На 4-е и 7-е сутки животных выводили из эксперимента методом дислокации шейных позвонков. Установлено, что к концу эксперимента под действием водных извлечений из листьев ольхи черной и серой происходит достоверное снижение специфических показателей воспаления СРБ и ГГТ по сравнению с контрольной группой.

Кроме того, под действием настоев листьев ольхи черной на 4-е сутки, по сравнению с контрольной группой, достоверно изменяется ряд биохимических показателей: АлАТ, АсАТ, перекисное окисление липидов (ПОЛ) крови и печени, АОА крови и печени, ДК крови и МДА крови. К 7-м суткам достоверно отличаются от контрольной группы АсАТ, ПОЛ печени, МДА крови и печени (табл. 2).

Таблица 2

Показатели воспаления при лечении настоями листьев ольхи черной, n = 8

Показатель	Интактная группа	Контроль (воспаление), 4-е сутки	Ольха черная, 4-е сутки	Контроль (воспаление), 7-е сутки	Ольха черная, 7-е сутки
СРБ, мг/мл	1,19 ± 0,11*/**	21,57 ± 5,45	9,89 ± 1,94*	36,11 ± 3,16	11,28 ± 2,44**
ГГТ, Ед/л	1,22 ± 0,08*/**	7,3 ± 2,09	3,56 ± 1,44*	2,79 ± 0,73	1,05 ± 0,04**
АлАТ, Ед/л	44,98 ± 0,88*	79,26 ± 10,34	56,58 ± 8,09*	55,06 ± 6,67	50,06 ± 6,06
АсАТ, Ед/л	136,07 ± 4,48*/**	168,5 ± 18,96	140,09 ±16,7	180,66 ± 19,83	157,46 ± 16,27**
ПОЛ крови	6,69 ± 0,43*/**	10,48 ± 0,37	9,38 ± 0,53*	8,6 ± 0,4	8,73 ± 1,07
АОА крови	0,16 ± 0,01*	0,22 ± 0,01	0,19 ± 0,01*	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01

Окончание табл. 2

Показатель	Интактная группа	Контроль (воспаление), 4-е сутки	Ольха черная, 4-е сутки	Контроль (воспаление), 7-е сутки	Ольха черная, 7-е сутки
ПОЛ печени	5,09 ± 0,17*/**	6,49 ± 0,63	5,87 ± 0,34*	4,53 ± 0,26	5,34 ± 0,33**
АОА печени	0,16 ± 0,02*/**	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,02*	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,02
МДА крови, нМ/г белка	63,09 ± 2,05*/**	81,64 ± 10,30	72,58 ± 10,34	112,46 ± 15,74	147,96 ± 8,74**
ДК крови, нМ/г липидов	366,61 ± 28,0*	128,35 ± 7,35	192,1 ± 18,97*	448,61 ± 59,68	398,31 ± 48,7
МДА печени, нМ/г белка	1174,8 ± 62,3*/**	636,2 ± 55,3	730,0 ± 72,5*	906,3 ± 103,6*	1272,1 ± 142,1**
ДК печени, нМ/г липидов	130,50 ± 24,22	111,87 ± 12,6	96,94 ± 14,25	120,91 ± 23,61	132,33 ± 18,21

Примечания. * $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольным воспалением на 4-е сутки. ** $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольным воспалением на 7-е сутки.

Под действием настоев листьев ольхи серой происходило снижение специфических показателей воспаления СРБ и ГГТ. Также на 4-е сутки, по сравнению с контрольной группой, достоверно изменялся ряд биохимических показателей: АлАТ, ПОЛ крови и печени, АОА крови и печени и МДА печени. К 7-м суткам достоверно отличаются от контрольной группы ПОЛ печени, МДА и ДК крови (табл. 3).

Таблица 3

Показатели воспаления при лечении настоями листьев ольхи серой, n = 8

Показатель	Интактная группа	Контроль (воспаление), 4-е сутки	Ольха серая, 4-е сутки	Контроль (воспаление), 7-е сутки	Ольха серая, 7-е сутки
СРБ, мг/мл	1,19 ± 0,11*/**	21,57 ± 5,45	13,70 ± 1,89*	36,11 ± 3,16	10,98 ± 1,70**
ГГТ, Ед/л	1,22 ± 0,08*/**	7,3 ± 2,09	3,45 ± 1,01*	2,79 ± 0,73	1,3 ± 0,69**
АлАТ, Ед/л	44,98± 0,88*	79,26 ± 7,17	44,53 ± 7,45*	54,6 ± 6,83	53,94 ± 9,71
АсАТ, Ед/л	136,07 ± 4,48*	168,50 ± 18,96	152,19 ± 12,47	180,66 ± 19,83	168,6 ± 11,47

Окончание табл. 3

Показатель	Интактная группа	Контроль (воспаление), 4-е сутки	Ольха серая, 4-е сутки	Контроль (воспаление), 7-е сутки	Ольха серая, 7-е сутки
ПОЛ крови	6,69 ± 0,43*/**	10,48 ± 0,27	9,58 ± 0,29*	8,6 ± 0,4	10,6 ± 0,69**
АОА крови	0,16 ± 0,01*	0,22 ± 0,01	0,18 ± 0,02*	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,02
ПОЛ печени	5,09 ± 0,17*/**	6,43 ± 0,63	5,63 ± 0,32*	4,53 ± 0,26	5,43 ± 0,44**
АОА печени	0,16 ± 0,003*	0,13 ± 0,002	0,16 ± 0,02*	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,02
МДА крови, нМ/г белка	63,09 ± 2,05*/**	81,64 ± 10,30	83,83 ± 10	112,46 ± 8,98	155,16 ± 11,74**
ДК крови, нМ/г липидов	366,61 ± 28,0*/**	128,35 ± 7,35	122,05 ± 14,05	448,61 ± 59,68	286,29 ± 71,06**
МДА печени, нМ/г белка	1174,8 ± 62,3*/**	636,2 ± 55,3	705,53 ± 91,4*	906,94 ± 103,17	1101,9 ± 13
ДК печени, нМ/г липидов	130,50 ± 24,22	111,87 ± 12,59	97,44 ± 15,21	120,91 ± 23,61	125,14 ± 12,55

Примечания. * $p < 0,05$ по сравнению с контрольным воспалением на 4-е сутки. ** $p < 0,05$ по сравнению с контрольным воспалением на 7-е сутки.

Таким образом, из представленных результатов видно, что настои листьев ольхи черной и ольхи серой обладают противовоспалительной активностью.

2.1.2. Локальное воспаление, индуцированное каррагенаном

Острую локальную воспалительную реакцию воспроизводят путем субплантарного введения в подошвенный апоневроз задней лапы крысы флогогена — 0,1 мл 1%-ного раствора λ-каррагенана, приготовленного на физиологическом растворе натрия хлорида. Воспалительная реакция развивается через 2–4 часа. Выраженность воспалительной реакции оценивается по изменению объема (онкометрически) или массы лапы (путем взвешивания ампутированных лап) здоровой и воспаленной лап. Антиэкссудативную активность определяют по степени уменьшения экспериментального отека у опытных животных по сравнению с контрольными и выражают в процентах.

Исследуемые растворы вводят, как правило, в/ж, до и (или) после инъекции каррагенана. Режим дозирования, частота и длительность введения препаратов определяются исследователем.

Объект — *первоцвет весенний.* На модели острого экссудативного воспаления изучали действие экстракта травы первоцвета весеннего (*Prímula véris L.*) в дозе 85,7 мг/кг на мышах. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак в дозе 8 мг/кг. Лекарственные средства вводили зондом в желудок 3 раза (1-й раз до введения каррагенана, затем дважды: через час и через 2 часа после введения каррагенана).

Выраженность воспалительной реакции оценивали через 3 часа на пике развития воспалительной реакции (установленной предварительно) после индукции воспаления по изменению массы лапы путем взвешивания отрезанных контрольных и опытных лап. Антиэкссудативную активность определяли по степени уменьшения экспериментального отека у опытных животных по сравнению с контрольными и выражали в процентах. Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

Антиэкссудативная активность экстракта травы первоцвета весеннего на модели острого воспаления, n = 8

Группа животных	Выраженность отека, %	Угнетение воспаления, %
1-я — экстракт первоцвета, 85,7 мг/кг	44,6 ± 2,7 ($p_2 < 0,01$)	32,6
2-я — диклофенак, 8 мг/кг	38,4 ± 2,7 ($p_2 < 0,01$)	44,2
3-я — контроль с воспалением без лечения	62,4 ± 2,38 ($p_1 < 10,001$)	–

Примечание. Статистически значимые различия p_1 — к исходному размеру лапы; p_2 — к контрольной группе патологии.

Объект — *ольха черная.* Исследовано противовоспалительное действие настойки листьев ольхи черной на модели каррагенанового отека лапы крыс. Настойку листьев ольхи черной получали путем настаивания и мацерации 60%-ным водно-спиртовым раствором в соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 5. Процесс настаивания осуществлялся в течение 10 суток при температуре 18 °С. Перед введением лабораторным животным настойку упаривали, взвешивали и растворяли в воде. Затем им в течение 5 дней в/ж вводили

настойку из расчета 250 мг/кг и препарат сравнения — ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг/кг. Контрольная группа животных получала воду очищенную. На 5-й день через час после введения препаратов вызывали локальное воспаление путем введения каррагенана. Через 3 часа после инъекции каррагенана животных выводили из эксперимента. Результаты измерения массы лап животных представлены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние настойки листьев ольхи черной на угнетение отека лапы крысы при моделировании локального каррагенанового воспаления, n = 7

Группа животных	Масса левой (здоровой) лапы, г	Масса правой (больной) лапы, г	Прирост массы, %
1-я — контроль (вода дист.)	1,31 ± 0,056	2,69 ± 0,14	105,1 ± 8,22
2-я — настойка листьев ольхи черной	1,39 ± 0,04	1,61 ± 0,06	18,00 ± 5,54*
3-я — ацетилсалициловая кислота	1,37 ± 0,08	1,86 ± 0,21	35,76 ± 8,4*

Примечание. * Достоверная разница по отношению к контролю.

Как видно из табл. 5, под действием настойки из листьев ольхи черной в дозе 250 мг/кг отек лапы на 87,1 % ниже, чем в контрольной группе животных и в 2 раза меньше, чем в группе животных, получавших ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг/кг.

Объекты — *облепиха крушиновидная, клюква болотная.* Выполнено исследование по оценке противовоспалительного действия на модели каррагенанового отека лапы крыс суммы тритерпеновых кислот, полученных из шрота облепихи крушиновидной (*Hippóphaë rhamnóides L.*) и клюквы болотной (*Oxycoccus palustris Pers.*) (производства ООО «СиНаМ»).

В табл. 6 представлены результаты оценки противовоспалительного действия на модели каррагенанового отека лапы тритерпеноидов из плодов облепихи (ТО) в дозе 100 мг/кг и тритерпеноидов плодов клюквы (ТК) в дозе 100 мг/кг. Сравнение проводили с диклофенаком, который вводили в дозе 8 мг/кг.

Как видно из табл. 6, при использовании ТО отмечается тенденция к уменьшению степени отека, но эти изменения статистически значимо не отличаются от значений контрольной группы. Курсовое введение ТК в дозе 100 мг/кг приводит к значительному сдержива-

нию развития отека лапы у крыс. Увеличение объема лапы было на 62 % ниже, чем у животных контрольной группы (отличия статистически значимы). Таким образом, показано, что ТК обладают противовоспалительным действием, подавляя экссудативную реакцию, вызванную субплантарным введением каррагенана.

Таблица 6

Влияние курсового применения тритерпеноидов облепихи и тритерпеноидов клюквы на развитие каррагенанового отека лапы у крыс

Группа животных, n = 6	Прирост объема лапы, см^3	
	M ± SD	Δ %
1-я — контроль	0,6 ± 0,187	–
2-я — ТО, 100 мг/кг	0,45 ± 0,138	–25
3-я — ТК, 100 мг/кг	0,23 ± 0,072	–62*
4-я — диклофенак, 8 мг/кг	0,18 ± 0,052	–70*

Примечание. * Достоверная разница по отношению к контролю.

Объект — *очанки различные виды.* Изучение противовоспалительной активности водных извлечений, полученных в режиме «настой» из 7 перспективных видов очанки, показало достоверное снижение отека лапы крысы, что свидетельствует о торможении экссудативной фазы воспаления. Угнетение отека варьировало от 16 до 26 %. Результаты статистически значимо отличались от значений контрольной группы животных. В качестве препарата сравнения использовали таблетки Ортофен. Установлено, что противовоспалительная активность наиболее выражена у настоев *Euphrasia brevipila, Euphrasia × murbeckii и Euphrasia tatarica*. Гибридный вид *Euphrasia × reuteri*, а также *Euphrasia officinalis* проявляют менее выраженную противовоспалительную активность (табл. 7).

Таблица 7

Противовоспалительная активность перспективных видов рода *Euphrasia*

Группа животных	Доза, мл/кг	Прирост отека через 4 часа, %	Угнетение отека, %
1-я — контроль (2%-ная крахмальная слизь)	–	76,48 ± 7,11	–
2-я — *Euphrasia brevipila*, настой 1 : 5	15	54,14 ± 8,24 ($p < 0,05$)	26,42
3-я — *Euphrasia parviflora*, настой 1 : 5	15	59,41 ± 11,51 ($p < 0,05$)	18,87
4-я — *Euphrasia x reuteri*, настой 1 : 5	15	65,32 ± 10,69 ($p < 0,05$)	16,67

Окончание табл. 7

Группа животных	Доза, мл/кг	Прирост отека через 4 часа, %	Угнетение отека, %
5-я — *Euphrasia officinalis*, настой 1 : 5	15	63,32 ± 9,79 ($p < 0,05$)	17,59
6-я — *Euphrasia tatarica*, настой 1 : 5	15	56,41 ± 11,51 ($p < 0,05$)	24,25
7-я — *Euphrasia* × *murbeckii*, настой 1 : 5	15	55,47 ± 12,34 ($p < 0,05$)	25,84
8-я — *Euphrasia stricta*, настой 1 : 5	15	57,31 ± 3,44	20,07
9-я — Ортофен, таб. п/о	10	27,88 ± 5,22 ($p < 0,001$)	60,61

Объект — *кипрей узколистный.* Изучение противовоспалительной активности водного извлечения травы кипрея узколистного (*Epilobium angustifolium L.*) (500 мг/кг), полученного при экстракции с обратным холодильником в течение 50 минут (соотношение «сырье : экстрагент» 1 : 10), показало достоверное снижение отека лапы крысы. В качестве препарата сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту (200 мг/кг) Результаты исследований по выявлению противовоспалительной активности травы кипрея узколистного представлены на рис. 1 и в табл. 8.

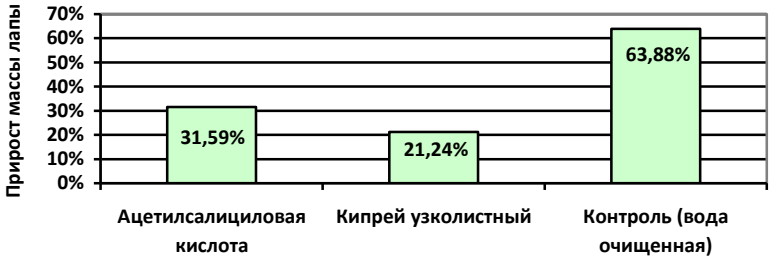


Рис. 1. Прирост массы лап у групп крыс при моделировании каррагенанового воспаления

Как видно из графика, у контрольной группы крыс, получавшей воду очищенную, прирост массы лап составил в среднем 63,88 ± 1,27 %, у группы крыс, получавших ацетилсалициловую кислоту в дозе 200 мг/кг, — 31,59 ± 1,54 %. Для группы крыс, получавших отвар из травы кипрея узколистного в дозе 500 мг/кг, увеличение массы лап в среднем составило 21,24 ± 1,68 %.

Таблица 8

Индекс ингибирования воспаления у крыс при моделировании каррагенанового воспаления

Группа животных	Индекс ингибирования воспаления лапы, %
1-я — ацетилсалициловая кислота	50,55
2-я — трава кипрея узколистного	66,75

2.1.3. Модель декстранового отека

Модель декстранового отека изучается по методу А. Ф. Лещинского. В качестве флогогенного агента используется водный 6%-ный раствор декстрана, который вводится опытным животным в объеме 0,1 мл субплантарно. Оценку антиэкссудативной активности осуществляют методом онкометрии (определение объема лап по количеству вытесненной из капсулы онкометра воды при погружении в нее лапки) через 3 часа после инъекции декстрана. Определяют разность в объеме между практически здоровой и отечной лапкой.

Объект — *сабельник болотный.* Исследование проводили на крысах-самцах массой 140–160 г. Изучали действие экстракта сабельника болотного в дозе 100 мг/кг, который в объеме 10 мл/кг вводили крысам в/ж за 30 минут и через 1 час после инъекции декстрана. Препаратом сравнения служили таблетки Канефрон. Результаты исследования приведены в табл. 9.

Таблица 9

Влияние экстракта сабельника болотного на процессы экссудации при декстрановом отеке у белых крыс

Группа животных	Разность объема лапок, мл	Угнетение отека, %
1-я — контроль	0,622 ± 0,064	–
2-я — экстракт сабельника болотного, 100 мг/кг	0,346 ± 0,0034*	44,0
3-я — Канефрон, 100 мг/кг	0,473 ± 0,035*	34,0

Примечание. * Изменения достоверны относительно контроля, $p < 0,05$.

Как видно из табл. 9 при введении экстракта сабельника болотного в указанной дозе наблюдается значительное снижение отечности в среднем на 44 % по сравнению с контролем. Препарат сравнения Канефрон оказывал менее выраженное действие.

2.1.4. Воспалительный отек лапы, индуцированный формалином

Воспалительный отек вызывают путем субплантарного введения в заднюю лапу крысам 0,05 (0,1) мл 1%-ного раствора формалина. Лекарственные средства для внутреннего применения вводят животным в/ж, при этом дозы, кратность и длительность введения выбираются исследователем самостоятельно (зависит от предполагаемого способа применения). В последний день эксперимента через час после применения лекарственного средства моделируют воспалительный отек путем введения 1%-ного раствора формалина. Разницу масс воспаленной и интактной лап животных оценивают через 5 часов после введения формалина путем взвешивания после ампутации. Процент воспалительного отека определяли по следующей формуле:

$$ВО = Мв – Мк / Мк \cdot 100, \qquad (2.1)$$

где ВО — воспалительный отек; Мв — масса воспаленной лапы; Мк — масса интактной (контрольной) лапы.

На модели формалинового отека лапы можно изучать местное противовоспалительное действие наружных лекарственных форм. Для этого лекарственные формы препаратов наносятся на 1 заднюю лапу крыс за 2 часа до индукции формалиновой боли. Контрольным животным наносят гель (мазь)-плацебо, не содержащий в своем составе активное вещество. Фиксируют изменение поведения животных, по времени соответствующее 2 фазам боли — острой и тонической, которые регистрируют соответственно на протяжении первых 5 минут и с 20-й по 60-ю минуты после введения раствора формалина. Каждые 5 минут в течение обеих фаз боли в баллах регистрируют 4 типа поведенческих реакций:

– 0 — отсутствие реакции;

– 1 — лапа остается на горизонтальной поверхности, но животное на нее не опирается;

– 2 — лапа поднята;

– 3 — лапа облизывается, грызется или встряхивается.

Подсчитывают сумму баллов в острую и тоническую фазы боли. Критерием анальгетического эффекта считается уменьшение болевых реакций в группах крыс, получавших препараты, относительно контрольной группы.

На фоне субплантарного введения раствора формалина у животных развивается отек лапы, выраженность которого максимальна через 4–5 часов после инъекции, поэтому степень отечности лап крыс оценивают через 4 или 5 часов после индукции воспаления в экспериментах. Отек лапы определяют по разнице диаметра лапы (миллиметры), измеренного штангенциркулем, через 4–5 часов после индукции воспаления относительно диаметра лапы до индукции воспаления. Противовоспалительный эффект оценивают по уменьшению отека лапы у крыс на фоне изучаемых лекарственных форм препаратов относительно показателя контрольной группы.

Объект — *сабельник болотный.* Исследование противовоспалительного действия экстракта сабельника болотного проводили на мышах обоего пола массой 18–19 г с использованием в качестве флогогена 1 мл 1%-ного раствора формалина, который вводили субплантарно в область задней лапы мыши. Экстракт сабельника вводили внутрь в дозе 100 мг/кг *за час до и через час* после введения формалина. Препаратом сравнения служил сабельник «Эвалар». Выраженность воспалительной реакции оценивали на пике воспаления через 3 часа путем взвешивания ампутированных лап мышей. Результаты представлены в табл. 10.

Таблица 10

Влияние экстракта сабельника болотного на течение острого экссудативного воспаления у мышей, вызванного формалином

Группа животных	Прирост отека, мг	Противовоспалительный эффект, %
1-я — контрольная	65,6 ± 6,13	–
2-я — экстракт сабельника болотного, 100 мг/кг	44,0 ± 4,09*	32,98
3-я — сабельник «Эвалар», 100 мг/кг	51,16 ± 3,73*	22,08

Примечание. * $p \leq 0,5$ по сравнению с контролем.

Исследования показали, что экстракт сабельника болотного на фоне формалинового отека обладает антиэкссудативной активностью, о чем свидетельствует уменьшение на 39 % отека лап у мышей опытной группы по сравнению с контрольной группой животных. Эффект препарата сравнения выражен меньше.

Объект — *шалфей горминовый.* Оценка противовоспалительного действия водорастворимого полисахаридного комплекса шалфея горминового (*Salvia horminum L.*) была выполнена с использованием раствора формалина. Для выделения полисахаридного комплекса воздушно-сухое измельченное сырье предварительно обрабатывали спиртом этиловым 70%-ным для удаления полифенольных соединений. Из шрота, оставшегося после получения полифенольных соединений, выделяли водорастворимый полисахаридный комплекс. Для этого воздушно-сухой шрот экстрагировали водой в соотношении 1 : 20 к массе сырья при нагревании до 95 °С в течение 1 часа при постоянном перемешивании. Повторное извлечение полисахаридов проводили дважды водой в соотношении 1 : 10. Растительный материал отделяли центрифугированием, и объединенные экстракты упаривали до $^1/_5$ первоначального объема. Полисахариды осаждали тройным объемом спирта этилового 96%-ного при комнатной температуре. Выпавший плотный осадок полисахаридов отделяли, промывали спиртом этиловым 70%-ным, ацетоном. Полученные водорастворимые полисахариды лиофильно высушивали.

Экспериментальной группе мышей в течение недели, а затем за 2 часа до введения формалина, через 5 и 18 часов после него вводили в/ж водорастворимый полисахаридный комплекс в дозе 100 мг/кг массы животного. Мыши контрольной группы в те же сроки получали воду очищенную. В качестве препарата сравнения использовали настой шалфея лекарственного (*Salvia officinalis L.*), который готовили по методике Государственной фармакопеи XI издания и вводили в той же дозе, что и у исследуемого препарата. Через 24 часа после введения формалина мышей усыпляли и у них отрезали воспаленные и невоспаленные задние лапки на уровне тазобедренного сустава. Результаты их измерений представлены в табл. 11.

Под действием водорастворимых полисахаридов происходило снижение величины оттека (32,49 ± 2,22 мг) лапы мыши. При введении настоя шалфея лекарственного величина отека составила 38,07 ± 2,18 мг. Противовоспалительный эффект данных фитопрепаратов составил 44,24 % (водорастворимый полисахаридный комплекс шалфея горминового) и 34,67 % (шалфей лекарственный).

Таблица 11

Влияние шалфея лекарственного и шалфея горминового на отек лапы, вызванный у мышей формалином, n = 6

Группа животных	Масса лапок, мг		Величина отека		Противовоспалительный эффект, %
	правой	левой	M ± m, мг	%	
1-я — контроль	126,51	184,78	58,27 ± 2,65	100,00	–
2-я — настой шалфея лекарственного	134,53	172,60	38,07 ± 2,18*	65,33	34,67
3-я — водорастворимый полисахаридный комплекс шалфея горминового	122,86	155,35	32,49 ± 2,22*	55,76	44,24

Примечание. * Различия по сравнению с контролем статистически достоверны при $p < 0,05$.

2.1.5. Воспалительный отек лапы, индуцированный гистамином

Противовоспалительное действие на модели гистаминового воспалительного отека определяют при предварительном введении исследуемых объектов, а затем (не ранее чем через час после последнего введения препарата) в подошвенный апоневроз задней лапы крысы вводят 0,05 мл (0,1 мл) 0,1%-ного раствора гистамина дигидрохлорида. Через 2 и 5 часов после введения флогогена оценивают разницу масс воспаленной и интактной задних лап животных и рассчитывают процент воспалительного отека по формуле (2.1).

Объект — *сбор Наркофит.* Изучено противовоспалительное действие сухого экстракта из семикомпонентного сбора, условно названного «Наркофит», состоящего из плодов шиповника иглистого (Rosa) — 200 г, плодов боярышника кроваво-красного (Crataegus) — 200 г, корневищ с корнями девясила высокого (*Inula helenium L.*) — 250 г, листьев мяты перечной (*Mentha piperita L.*) — 100 г, травы сушеницы топяной (*Gnaphalium uliginosum L.*) — 50 г, листьев брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea L.*) — 100 г, корневищ с корнями элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus L.*) — 100 г. Предварительно разведенный сухой экстракт Наркофит в дозе 200 мг/кг и 100 мг/кг препарата сравнения Калефлон (экстракт календулы цветков) вводили животным в/ж за 1 час до инъекции гистамина, а затем через 5 и 18 часов. Оценку антиэкссудативного

действия вычисляли, рассчитывая процент угнетения отека по отношению к контролю. Результаты представлены в табл. 12.

Таблица 12

Влияние экстракта сухого Наркофит на экссудативную фазу воспаления у белых крыс

Группа животных	Разность между объемами воспаленной и невоспаленной лап, мл	Угнетение отека, %
Декстрановый отек		
1-я — контроль (декстран + дист. вода), n = 10	1,15 ± 0,1	–
2-я — декстран + Наркофит, n = 10	0,90 ± 0,1	21,8
3-я — декстран + Калефлон, n = 10	1,10 ± 0,1	4,4
Формалиновый отек		
1-я — контроль (формалин + дист. вода), n = 12	1,15 ± 0,05	–
2-я — формалин + Наркофит, n = 10	0,80 ± 0,05	30,5
3-я — формалин + Калефлон, n = 10	0,82 ± 0,05	28,7
Гистаминовый отек		
1-я — контроль (гистамин + дист. вода), n = 10	0,50 ± 0,01	–
2-я — гистамин + Наркофит, n = 10	0,40 ± 0,01	20
3-я — гистамин + Калефлон, n = 10	0,45 ± 0,01	10

2.1.6. Воспалительный отек лапы, индуцированный каолином

Для оценки местного и системного противовоспалительного действия лекарственных средств в качестве флогогена используют суспензию 10%-ной взвеси каолина, которую вводят в дозе 0,1 мл под апоневроз подошвенной поверхности лапки крысы. При изучении местного действия обработку суставов животным проводят до введения флогогена (сроки и кратность обработки определяется исследователем). Системное противовоспалительное действие препаратов изучают путем их в/ж введения до и (или) после инъекции каолина. Режим дозирования исследуемого объекта определяется исследователем.

Выраженность воспалительной реакции определяют по разнице диаметра лапы (мм), измеренного штангенциркулем, или по разнице объемов лап (мл), измеренных онкометрически (по количеству вытесненной из капсулы онкометра воды при погружении в нее лапки).

Измерение диаметра (объема) лап проводят через определенные промежутки времени (через 1, 2, 3, 4, 24 и 48 часов) после индукции воспаления относительно диаметра лапы до индукции воспаления. Противовоспалительный эффект оценивают по уменьшению отека лапы у крыс на фоне изучаемых лекарственных форм препаратов относительно показателя контрольной группы.

Объект — *астрагал эспарацетный.* Противовоспалительное действие 5%-ного геля Астрагал, содержащего экстракт астрагала эспарцетного (*Astragalus onobrychis L.*) на гидрофильной основе, изучали на модели отека лапки крысы, вызванного каолином. Гель наносили на лапу животному дважды в день, предшествующий опыту, и за 30 минут до введения каолина.

Динамику нарастания отека измеряли методом онкометрии. Регистрировали объем лапки через 1, 2, 3 и 24 часа после введения каолина. В качестве препарата сравнения использовали 5%-ную мазь Бутадион. Результаты представлены в табл. 13.

Таблица 13

Изучение противовоспалительной активности геля Астрагал

Группа животных	Исходный объем лапки, мл	Объем лапки после введения каолина, мл			
		через 1 ч	через 2 ч	через 3 ч	через 24 ч
1-я — контроль	1,08 ± 0,047	1,52 ± 0,041	1,66 ± 0,072	1,90 ± 0,083	2,01 ± 0,066
2-я — мазь Бутадион 5 %	1,00 ± 0,069	1,23 ± 0,09*	1,49 ± 0,064**	1,69 ± 0,068**	1,91 ± 0,071**
3-я — гель Астрагал 5 %	1,06 ± 0,052	1,11 ± 0,064*	1,29 ± 0,072**	1,41 ± 0,068**	1,67 ± 0,07**1

Примечания. * $p \geq 0,05$ по сравнению с контрольной группой. ** $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Из табл. 13 видно, что гель Астрагал достоверно снижает степень отека лапки крыс относительно контроля во все сроки измерения (т. е. через 1, 2, 3 и 24 часа после введения каолина). Относительно группы животных, получивших 5%-ную мазь Бутадион, недостоверное отличие наблюдалось лишь через час после введения каолина. Через 2, 3 и 24 часа различия были достоверными. Таким образом, гель, содержащий сухой экстракт астрагала, проявил выраженный противовоспалительный эффект на модели каолинового отека лапки крыс, превосходящий таковой у 5%-ной мази Бутадион.

Объект — *пиретрум девичий.* Способность извлечения травы пиретрума девичьего (*Tanacétum parthénium*) влиять на фазу экссудации изучали на модели каолинового отека. Извлечение из травы пиретрума девичьего получали путем экстракции 70%-ным спиртом этиловым в соотношении 1 : 10. Полученное извлечение сгущали и сушили в сушильном шкафу при температуре не выше 60 °С до сухого остатка. Из сухого остатка готовили эмульсию (в дальнейшем именуемую «извлечение») в воде очищенной с добавлением эмульгатора твин-80, которую вводили перорально в дозе 1,0 г/кг за 30 минут до создания модели отека каолином и через 24 часа после моделирования. Величину отека регистрировали через 4, 24 и 48 часов. В качестве препарата сравнения использовали гель Троксевазин, который в дозе 80,0 мг/кг вводили аналогично исследуемому препарату.

В опыте с каолиновым отеком установлено, что двукратное введение извлечения травы пиретрума девичьего приводит к снижению величины экссудации в острый период (через 24 часа) на 47,2 % и через 48 часов — на 38,0 % в сравнении с контролем. Относительно препарата сравнения геля Троксевазин извлечение травы пиретрума девичьего статистически значимо снижает отек к 24-му часу — на 32,0 %, к 48-му часу наблюдений — на 13,0 % (статистически незначимо) (табл. 14).

Таблица 14

Изучение противоотечного действия извлечения травы пиретрума девичьего, M ± m, Δ%

Группа животных	Исходный объём, мл	Время наблюдений		
		4 часа	24 часа	48 часов
1-я — контроль	0,95 ± 0,08	91,46 ± 10,45	83,39 ± 5,40	57,17 ± 4,95
2-я — гель Троксевазин, 80 мг/кг	1,20 ± 0,04	86,67 ± 5,48	65,00 ± 3,14*	40,80 ± 3,02*
3-я — извлечение травы пиретрума девичьего, 1 г/кг	1,09 ± 0,03	88,63 ± 8,59	44,04 ± 6,30**	35,44 ± 2,27*

Примечания. * Изменения достоверны относительно контроля, $p < 0,05$; ** Изменения достоверны относительно Троксевазина, $p < 0,05$; Δ% — прирост отека в %.

На модели асептического каолинового отека выявлено, что извлечение травы пиретрума девичьего оказывает выраженное противоотечное действие, не уступающее аналогичному эффекту препарата Троксевазин.

Объект — *ива белая.* При изучении противовоспалительного действия экстракта ивы белой (*Sálix álba*) фитопрепарат вводили опытным животным в течение 7 дней до моделирования воспаления каолином в дозах 10, 50, 100 и 200 мг на 1 кг массы тела. Воспалительную реакцию оценивали по динамике нарастания отека лапки (в процентах от исходных показателей) через 1, 2, 3, 4, 5, 24 и 48 часов. Объем лапок измеряли онкометром до начала опыта и в динамике отека.

Контрольным животным вводили эквивалентный объем физиологического раствора. В группах было по 6 животных, у каждого животного регистрировали по 2 показателя — объем левой и правой лапы. Таким образом, объем выборки в каждой группе животных составил 12 показателей (табл. 15).

Таблица 15

Динамика нарастания отека лапки в контрольных опытах и в опытах с экстрактом ивы, % от исходных показателей

Условие опыта	Исходный объем лапок		Изменение объема лапок после введения каолина, M ± m													
			1 ч		2 ч		3 ч		4 ч		5 ч		24 ч		48 ч	
Контроль	1,32	0,03	+15,9	1,3	+22,0	1,7	+30,9	4,4	+45,2	3,0	+45,6	2,8	+23,0	5,3	+15,1	3,2
10	1,36	0,02	+25,0	6,3	+24,4	2,3	+30,1	3,6	+35,6	3,6	+28,9	1,8*	+16,3	2,0	+6,7	1,6*
50	1,38	0,03	+16,7	3,6	+13,0	3,6*	+25,0	2,5	+26,5	3,3*	+24,1	1,9*	+2,0	1,7*	+4,3	1,7*
100	1,31	0,02	+12,3	2,7	+5,0	1,7*	+15,3	1,4*	+18,4	2,9*	+13,9	2,1*	+7,6	2,1*	+2,7	1,1*
200	1,34	0,02	+13,7	1,6	+6,6	2,0*	+18,1	2,2*	+16,7	1,5*	+10,1	1,7*	+2,3	0,8*	0+1,1	0,8*

Примечания. + — усиление воспалительной реакции. * Статистически значимые изменения ($p < 0,05$) относительно контрольной группы животных.

Применение экстракта ивы во всех исследуемых дозах приводило к статистически значимому подавлению экссудативной фазы воспаления, но наиболее выраженное противовоспалительное действие было выявлено при использовании экстракта ивы в дозах 100 и 200 мг на 1 кг массы тела (табл. 15). При этом эффективность противовоспалительной терапии экстрактом ивы в указанных дозах сопоставима.

2.1.7. Модель пролиферативного воспаления

Модель пролиферативного воспаления (модель «ватной гранулемы») создают имплантацией инородного тела. Животным (крысам) под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг) в области спины выстригают шерсть, в условиях асептики скальпелем наносят разрез всех слоев кожи и формируют с помощью зажима «Москит» полость, в которую помещают предварительно простерилизованный ватный шарик весом 15 мг (иногда используют стерильные фетровые диски массой 10 мг). Края раны сшивают. В течение 7 дней животным вводят исследуемые лекарственные средства. На 8-е сутки эксперимента имплантированный шарик, покрытый грануляционной тканью, извлекают, взвешивают в сыром виде (сразу после извлечения) и высушивают в сушильном шкафу до постоянного веса при температуре 60–65 °С в течение не менее суток.

Объект — *пиретрум девичий.* На модели пролиферативного воспаления оценивали противовоспалительное действие извлечений травы пиретрума девичьего, полученного путем экстракции 70%-ным спиртом этиловым. Полученное извлечение сгущали и сушили в сушильном шкафу при температуре не выше 60 °С до сухого остатка. Последний в дозе 1,0 г/кг в виде эмульсии с твином-80 вводили животным в течение 7 дней. Группа сравнения получала взвесь препарата Троксевазин (капсулы) в дозе 80,0 мг/кг. Препарат Троксевазин, так же как и извлечение, вводился животным перорально в виде эмульсии с твином-80. Контрольная группа животных получала соответствующий объем физиологического раствора. В ходе эксперимента было установлено, что извлечение травы пиретрума девичьего достоверно снижает величину отека относительно контроля на 14,0 % ($p < 0,05$). В сравнении с действием препарата Троксевазин выраженность фазы экссудации при применении извлечения травы пиретрума девичьего меньше на 5 %. На фоне Троксевазина интенсивность пролиферативного процесса достоверно уменьшалась на 17,5 % ($p < 0,05$). Введение извлечения травы пиретрума девичьего привело к достоверному снижению синтеза грануляций на 31,0 % (табл. 16).

Таким образом, на модели пролиферативного воспаления установлено антипролиферативное действие извлечения травы пиретрума девичьего.

Таблица 16

Влияние извлечения травы пиретрума девичьего на фазы воспалительного процесса, M ± m, n = 8

Группа животных	Масса мокрых гранулем, мг	Масса сухих гранулем, мг	Экссудация, мг	Пролиферация, мг
1-я — контроль	376,33 ± 45,12	76,90 ± 9,18	299,63 ± 13,96	61,70 ± 4,12
2-я — Троксевазин, 80 мг/кг	337,17 ± 36,80	66,00 ± 3,84	271,17 ± 12,40	51,00 ± 2,14*
3-я — извлечение травы пиретрума девичьего, 1 г/кг	315,50 ± 38,56	57,50 ± 5,28	258,00 ± 8,02*	42,50 ± 3,08*

Примечание. * Изменения достоверны относительно контроля, $p < 0,05$.

Объект — *рутин.* На модели «ватной гранулемы» было изучено противовоспалительное действие рутина и препарата сравнения Биорутина (супрамолекулярный комплекс глицерризиновой кислоты с рутином, молярное соотношение комплекса 4 : 1).

Исследуемые препараты вводили в виде водных растворов перорально с помощью зонда в дозах 20 и 40 мг/кг ежедневно в течение 7 дней с 1-го дня эксперимента. Контрольная группа крыс получала дистиллированную воду в эквивалентном объеме раствору рутина.

Полученные данные показали (табл. 17), что рутин уменьшает уровень экссудации с 346,0 ± 29,4 мг в контроле до 243,3 ± 23,3 мг ($p < 0,05$) при введении 20 мг/кг и до 250,0 ± 35,4 мг — при 40 мг/кг, при этом угнетение экссудации составило 29,7 и 27,7 % соответственно. Подобная степень угнетения пролиферации (28,1–30,0 %) обнаруживается и при измерении массы грануляционно-фиброзной ткани на ватных шариках: она уменьшается с 86,5 ± 9,70 мг в контроле до 62,2 ± 6,98 и 60,0 ± 5,96 мг ($p < 0,05$) при введении рутина в дозах 20 и 40 мг/кг соответственно.

Таблица 17

Изучение противовоспалительной активности рутина и Биорутина на модели «ватной гранулемы» у крыс, M ± m, n = 6

Группа животных	МЭ, кг	УЭ, %	МГ, мг	УП, %
1-я — контроль	346,0 ± 29,4	–	86,5 ± 9,70	–
2-я — рутин, 20 мг/кг	243,3 ± 23,3*	29,7	62,2 ± 6,98	28,1
3-я — рутин, 40 мг/кг	250,0 ± 35,4	27,7	60,0 ± 5,96*	30,0
4-я — Биорутин, 20 мг/кг	228,0 ± 22,4*	34,1	55,8 ± 7,4*	35,5
5-я — Биорутин, 40 мг/кг	207,0 ± 4,62**	40,2	53,8 ± 8,8*	37,8

Примечания. * $p < 0,05$. ** $p < 0,001$.

Объект — *сбор «Наркофит».* Изучено влияние семикомпонентного сбора Наркофит на образование фиброзно-грануляционной ткани. Сбор состоял из плодов шиповника иглистого, плодов боярышника кроваво-красного, корневищ с корнями девясила высокого, листьев мяты перечной, травы сушеницы топяной, листьев брусники обыкновенной, корневищ с корнями элеутерококка колючего. В качестве препарата сравнения использовали таблетки Калефлон.

При определении влияния исследуемого средства установлено, что масса соединительнотканной капсулы в очаге воспаления возрастает на 12,7 % по сравнению с показателями у животных контрольной группы, т. е. сбор Наркофит обладает умеренным пролиферативным действием (табл. 18).

Таблица 18

Результаты оценки влияния сбора Наркофит на пролиферативную стадию воспаления

Группа животных	Масса влажной гранулемы, мг	Масса сухой гранулемы, мг
1-я — контроль (дист. вода), n = 8	178,0 ± 2,42	28,8 ± 1,12
2-я — сбор Наркофит	144,2 ± 0,62*	30,8 ± 0,7
3-я — Калефлон	147,4 ± 36*	21,4 ± 1,45

Примечание. * $p < 0,05$.

Объект — *татарник колючий.* Оценку противовоспалительного действия извлечений татарника колючего (*Onopordum acanthium L.*) проводили в условиях хронической воспалительной реакции, которую вызывали у анестезированных хлоралгидратом (350 мг/кг внутрибрюшинно) крыс путем имплантации под кожу живота 4 стерильных фетровых дисков массой 10 мг каждый. Предварительно из надземной части татарника колючего получали 4 извлечения с использованием различных экстрагентов: спирта этилового 96-, 70-, 40%-ного и воды. Экстракцию проводили на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 часов при соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 50. Охлажденные до комнатной температуры извлечения фильтровали через бумажный фильтр, концентрировали при пониженном давлении на ротационном испарителе до получения сухого остатка. Далее эти остатки обозначены как ЭТ96, ЭТ70, ЭТ40 и ЭТВ соответственно. Кроме того, был получен свежий сок татарника — обозначение СТ. Полученные лекарственные формы в дозе 20 мг/ кг вводились животным per os на протяжении 7 дней после

воспроизведения воспаления. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак в дозе 6,8 мг/кг. В эксперимент была введена группа животных негативного контроля (НК) с воспроизведенным патологическим процессом, но лишенная фармакологической поддержки (вводили бидистиллированную воду в эквиобъемном количестве).

Было установлено, что у группы крыс, получавших диклофенак, снижение экссудативной и пролиферативной фаз воспалительной реакции по отношению к НК-группе животных происходило на 67,5 и 58,7 % соответственно.

При этом введение крысам ЭТ96 и ЭТ70 значимого влияния на течение хронического воспалительного процесса не оказало (статистически значимых отличий между группами животных, получавших данные извлечения, и НК-группой крыс не установлено). На фоне применения ЭТ40 и ЭТВ у животных отмечено снижение экссудации по отношению к группе крыс, лишенных фармакологической поддержки, на 57,3 и 54,3 %, при этом пролиферативная фаза воспаления у данных групп животных уменьшилась на 52,7 и 38,7 % соответственно. Применение сока татарника приводило к снижению (относительно НК-группы крыс) интенсивности экссудативной и пролиферативной фаз воспаления на 48,9 и 43,8 % соответственно. Результаты измерений представлены в табл. 19.

Таблица 19

Влияние извлечений татарника колючего и диклофенака на течение экссудативной и пролиферативной фаз в условиях хронического воспаления

Группа животных	Экссудация, мг ± SEM	Пролиферация, мг ± SEM
1-я — интактные животные	–	–
2-я — НК	668 ± 0,026	58,4 ± 7,781
3-я — диклофенак, 6,8 мг/кг	217,21 ± 8,955*	24,12 ± 2,063*
4-я — ЭТ96, 20 мг/кг	551,37 ± 9,765	50,17 ± 1,432
5-я — ЭТ70, 20 мг/кг	512,25 ± 7,939	59,54 ± 1,704
6-я — ЭТ40, 20 мг/кг	285,28 ± 9,828*	27,61 ± 2,311*
7-я — ЭТВ, 20 мг/кг	305,23 ± 9,261*	35,78 ± 2,217*
8-я — СТ, 20 мг/кг	341,12 ± 8,467*	32,83 ± 1,283*

Примечание. * Статистически значимо относительно НК-группы крыс ($p < 0,05$, критерий Ньюмена–Кейсла).

2.1.8. Хроническое иммунное воспаление

Модель хронического иммунного воспаления, вызванного введением полного адъюванта Фрейнда (ПАФ) в заднюю лапу крыс, рассматривают в качестве модели ревматоидного артрита, при которой развивается повреждение суставов других конечностей помимо той, в которую вводят ПАФ. ПАФ содержит убитые туберкулезные микобактерии, суспензированные в масляной фазе водной эмульсии и является мощным стимулятором неспецифических иммунных реакций.

Воспаление моделируют введением 0,1 мл ПАФ в левую заднюю лапу аутбредных крыс. Отечность задних лап в области плюсны и голеностопного сустава, температуру кожи лап и массу животных регистрируют на 7, 14, 21, 28-е сутки опыта. Порог болевой чувствительности оценивают на 15-е сутки, гематологические показатели — на 14-е и 28-е сутки. На 7, 14, 21 и 28-е сутки после введения ПАФ регистрируют температуру кожи задних конечностей крыс. Ее измеряют инфракрасным электронным термометром (модель DT-633, A&D medical, Япония). Болевую чувствительность крыс с экспериментальной моделью воспаления оценивают на 15-е сутки в подошвенном тесте на приборе Hargreaves Apparatus (Ugo Basile, Италия), регистрируя латентный период отдергивания лап (секунды) после подачи инфракрасного теплового воздействия на подошву животных при интенсивности излучения, равной 66, что соответствует повышению температуры воздействия от 45 до 55 °С в течение 10 секунд.

О нарушении функции суставов крыс с моделью воспаления судят, оценивая координацию движений животных на 21-й день эксперимента в тесте «Вращающийся стержень» — Rota Rod (Ugo Basile, Италия). Установка представляет собой барабан 3 см в диаметре, разделенный 6 дисками (25 см в диаметре) на 5 одинаковых частей. Барабан может вращаться в разных скоростных режимах, задаваемых в зависимости от задач исследования и тяжести состояния животных. За 15 минут до тестирования животных адаптируют к условиям методики, осуществляя по 3 последовательных посадки на барабан «Вращающегося стержня» со скоростью 5 об/мин.

Тестирование моторного навыка осуществляют при режиме вращения барабана со скоростью от 10 до 30 об/мин (ускорение со-

ставляло 1 оборот за 10 секунд), регистрируя латентное время первого падения и скорость вращения стержня до первого падения.

На 14-е и 28-е сутки после введения ПАФ регистрируют следующие гематологические показатели: абсолютное содержание лейкоцитов (WBC); абсолютное содержание лимфоцитов (LYM); абсолютное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов (MID); абсолютное содержание гранулоцитов (GRA); относительное (%) содержание лимфоцитов (LY%); содержание средних клеток на долю лейкоцитов (MI%); относительное (%) содержание гранулоцитов (GR%); абсолютное содержание эритроцитов (RBC); концентрацию гемоглобина в периферической крови (HGB); гематокрит (HCT); средний объем эритроцита (MCV); среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците в абсолютных единицах (MCH); среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC); ширину распределения эритроцитов (RDWc); абсолютное содержание тромбоцитов (PLT); тромбокрит (PCT); средний объем тромбоцитов (MPV); ширину распределения тромбоцитов (PDWc).

При исследовании противовоспалительной активности на модели хронического воспаления исследуемые объекты могут вводиться по лечебно-профилактической схеме (7 дней до введения адъюванта и 14 дней после) или по лечебной схеме (в течение 12 дней, начиная с 14-го дня после введения адъюванта).

Объекты — *облепиха крушиновидная, клюква болотная.* Было изучено противовоспалительное действие ТО и ТК в дозах 100 мг/кг с использованием в качестве флогогена ПАФ. ТО и ТК — концентраты тритерпеновых кислот, полученные из шрота плодов облепихи и из шрота плодов клюквы соответственно; они содержат сумму урсоловой и олеаноловой кислот в количестве не менее 75 %.

Эксперимент проводили на 48 крысах-самцах. При лечебно-профилактическом ведении (7 дней до введения адъюванта и 14 дней после) животные были распределены в следующие группы (по 6 в каждой): контрольные животные, животные с лечебно-профилактическим введением ТО, животные с лечебно-профилактическим введением ТК, животные с лечебно-профилактическим введением препарата сравнения (диклофенак, 8 мг/кг). Интенсивность воспалительной реакции регистрировали онкометрически. Измерение объема правой задней конечности производили перед введением адъюванта и далее раз в 2 дня, левой — перед введением, на 3-и и на 14-е сутки.

При использовании лечебной схемы введения (в течение 12 дней, начиная с 14-го дня после введения адъюванта) животные были распределены в следующие группы (по 6 в каждой): контрольные животные, животные с лечебной схемой введения ТО, животные с лечебной схемой введения ТК, животные с лечебной схемой введения препарата сравнения (диклофенак, 8 мг/кг). Интенсивность воспалительной реакции регистрировали онкометрически. Измерение объема правой и левой лапки производили перед инъекцией адъюванта и на 25-е сутки.

По окончании наблюдения определяли количество лейкоцитов в крови и лейкоцитарную формулу.

После введения ПАФ наблюдалось развитие гиперемии и отека задней правой конечности, изменение походки, эффект «оберегания» при движении. При исследовании влияния ТО и ТК на интенсивность воспалительного процесса при использовании лечебной схемы введения на 25-е сутки в группе контрольных животных отмечали увеличение объема правой лапки на 114 % и левой — на 60 % по сравнению с исходными объемами (табл. 20). Введение ТК по лечебной схеме привело на 25-е сутки к статистически значимому снижению прироста объема правой лапки, в результате чего средний объем правой лапки в данной группе животных был ниже значений контрольной группы на 24 %. Оценка степени влияния исследуемых препаратов на вторичное воспаление показала, что отмечалась тенденция к снижению отека, но данные изменения не носили достоверный характер.

Использование диклофенака сопровождалось достоверным уменьшением объема правой и левой лапки по сравнению с контролем (на 25 и 12 % соответственно). При введении ТО достоверных изменений снижения объемов правой и левой лапки выявлено не было. Результаты исследования представлены в табл. 20.

Исследования показали, что на 25-е сутки адъювантный артрит сопровождался гематологическими сдвигами — увеличением содержания лейкоцитов, которое было наиболее выраженным в контрольной группе и группе, получавшей ТО. Достоверное снижение данного показателя отмечали при введении ТК и диклофенака. Сдвига лейкоцитарной формулы отмечено не было.

Анализ данных показал, что при использовании лечебной схемы введения диклофенак уменьшал интенсивность первичной и вторичной воспалительной реакции, ТК уменьшал первичную реакцию

и оказывал влияние на формирование вторичного воспаления. Применение ТО в данных условиях не оказало значимого влияния на воспалительный процесс.

Таблица 20

Влияние суммы тритерпеноидов из плодов облепихи и клюквы на степень адъювантного отека лапы крыс при лечебном применении, n = 6

Группа животных	Лапа	Объем лапы, см^3		
		Исходное значение	25-е сутки	
		M ± SD	M ± SD	Δ%
1-я — контроль	Правая	1,95 ± 0,079	4,18 ± 0,095	+114**
	Левая	1,90 ± 0,060	3,04 ± 0,276	+60**
2-я — ТО, 100 мг/кг	Правая	1,85 ± 0,068	3,76 ± 0,218	+103**
	Левая	1,92 ± 0,068	2,95 ± 0,341	+54**
3-я — ТК, 100 мг/кг	Правая	1,96 ± 0,086	3,18 ± 0,214	+62** –24*
	Левая	1,98 ± 0,070	2,93 ± 0,151	+48**
4-я — диклофенак, 8 мг/кг	Правая	1,82 ± 0,068	3,12 ± 0,286	+71** –25*
	Левая	1,90 ± 0,100	2,69 ± 0,193	+42** –12*

Примечания. * $p < 0,05$ — достоверная разница по отношению к контролю. ** $p < 0,05$ — достоверная разница по отношению к исходным значениям.

При лечебно-профилактическом введении субстанций тритерпеноидов отмечали снижение объема правой лапы по отношению к контрольным значениям при введении ТК, ТО и диклофенака на 24, 12 и 24 % соответственно. Изменения в объеме левой лапы на 3-и сутки не выявлены во всех группах животных. На 14-е сутки после введения адъюванта онкометрическая оценка состояния правой лапки показала аналогичную 3-м суткам картину. Оценка интенсивности вторичной воспалительной реакции, регистрируемая по изменению объема контрлатеральной (левой) лапки, показала прирост объема в контрольной группе на 27 % по сравнению с исходным. Введение исследуемых соединений и диклофенака сопровождалось предупреждением вторичного иммунного воспаления, так как объем левой лапки в данных группах остался на уровне исходных значений. Результаты исследования приведены в табл. 21.

Таблица 21

Влияние суммы тритерпеноидов из плодов облепихи и клюквы на степень адъювантного отека лапы крыс при лечебно-профилактическом применении, n = 6

Группа животных	Лапа	Объем лапы, см^3				
		Исходное значение	3-и сутки		14-е сутки	
		M ± SD	M ± SD	Δ%	M ± SD	Δ%
1-я — контроль	Правая	1,93 ± 0,054	3,91 ± 0,149	+103**	4,15 ± 0,167	+115**
	Левая	1,91 ± 0,039	1,94 ± 0,058	–	2,43 ± 0,121	+27**
2-я — ТО, 100 мг/кг	Правая	1,94 ± 0,090	3,41 ± 0,120	+76** –12*	3,66 ± 0,193	+89** –11*
	Левая	1,95 ± 0,080	1,98 ± 0,086	+2	2,13 ± 0,116	–12
3-я — ТК, 100 мг/кг	Правая	1,82 ± 0,033	2,96 ± 0,153	+63** –24*	3,12 ± 0,176	+71** –24*
	Левая	1,85 ± 0,048	1,88 ± 0,068	–3	1,96 ± 0,146	–19*
4-я — диклофенак, 8 мг/кг	Правая	1,95 ± 0,079	2,98 ± 0,108	+53** –24*	3,16 ± 0,159	+62** –23*
	Левая	1,96 ± 0,057	2,00 ± 0,055	+3	2,12 ± 0,075	–13*

Примечания. * $p < 0,05$ — достоверная разница по отношению к контролю. ** $p < 0,05$ — достоверная разница по отношению к исходным значениям.

2.1.9. Модель вирусного воспаления конъюнктивы

Для моделирования офтальмогерпеса используют вирус простого герпеса (ВПГ) 1-го антигенного типа, штамм ЕС. Моделирование инфекции проводят по стандартной методике на самцах серых кроликов массой 2,5–3,0 кг, которых содержат в стандартных условиях вивария. В эксперимент включают оба глаза кролика. Перед заражением глаза кроликов промывают физиологическим раствором и проводят их местную анестезию с использованием 1%-ного раствора дикаина, который закапывают в конъюнктивальный мешок. Затем животных заражают вируссодержащей жидкостью в дозе 10 ТЦИД$_{50}$ (тканевая цитопатическая инфекционная доза), которую наносят с помощью пипетки на предварительно скарифицированную роговицу. Через 2 суток у кроликов развивается типичная картина эпителиального кератита (специфичность которого подтверждается результатами выделения вируса из смывов с глаз).

Объект — *Панавир.* На модели офтальмогерпеса изучали эффективности глазных капель Панавир-ГЛК и раствора для инъекций

Панавир, содержащих экстракт побегов паслена клубненосного (*Solanum tuberosum*).

Все инфицированные ВПГ кролики через 2 суток после развития типичной картины эпителиального кератита (специфичность которого была подтверждена результатами выделения вируса из смывов с глаз) были рандомизированы на 4 группы по 3 особи в каждой.

Инстилляции плацебо получала 1-я (контрольная) группа животных, Офтальмоферона — 2-я группа, Панавира — 3-я, Панавира-ГЛК — 4-я. Лечение с использованием Панавира (0,004%-ный раствор внутривенно) и Панавира-ГЛК проводили через 48 часов после инфицирования в виде инстилляций по 2 капли 6 раз в сутки в течение 8 дней в сравнении с референс-препаратом Офтальмоферон (глазные капли, «ФИРН М», Россия) и плацебо (раствор для инфузий натрия хлорида 9 мг/мл). Доза вводимых в конъюнктивальный мешок препаратов соответствовала суточной дозе для взрослого человека.

Оценку состояния глаз у животных проводили ежедневно до начала введения лекарственных препаратов с помощью щелевой лампы после проведения флюоресцеиновой пробы (инстилляция 1 капли 0,5%-ного раствора флюоресцеина в конъюнктивальный мешок) в течение 25 дней. Дефекты эпителиального покрова (эпителиопатия) и участки поврежденной стромы (язва роговицы) прокрашивались зеленым цветом. При поражении поверхностных слоев роговицы наблюдалась характерная картина (древовидная, звездчатая, точечная), при распространении воспалительного процесса вглубь роговицы развивалась картообразная (или некротическая) язва, захватывающая внутренние оболочки (кератоувеит), на дне передней камеры появлялся гипопион. Интенсивность прокрашивания роговицы обозначали по четырехбалльной шкале: 0 — отсутствие прокрашивания; 1 — едва заметное нестойкое прокрашивание; 2 — выраженное поверхностное прокрашивание инфильтрата; 3 — выраженное прокрашивание воспалительного инфильтрата во всю толщу. Также в баллах (4 — максимальный) оценивали интенсивность инфекционного процесса по выраженности каждого из параметров: конъюнктивита, блефарита (отек век и наличие гнойного отделяемого), склерита, кератита (табл. 22). Индекс выраженности симптоматики высчитывали для каждого глаза по каждому дню наблюдения путем суммирования баллов по каждому параметру (табл. 22).

Таблица 22

Параметры оценки инфекционного процесса у кроликов

Оценка, баллы	Инфекционный процесс
Конъюнктивальная гиперемия	
0	Норма, видимых повреждений нет
1	Конъюнктива бледно-розовая
2	Конъюнктива темно-розовая
3	Конъюнктива красная
4	Сплошные геморрагии
Отек конъюнктивы	
0	Норма
1	Отечность конъюнктивы заметна только после поднятия век или частичного пролапса глаза
2	Конъюнктива видна (менее 25 % роговицы) без поднятия век или частичного пролапса глаза
3	Конъюнктива открывает 25–75 % роговицы
4	Конъюнктива открывает более 75 % роговицы
Конъюнктивит	
Суммирование балов по конъюнктивальной гиперемии и отечности конъюнктивы	
Блефарит	
0	Норма, видимых повреждений нет
1	Одутловатость век заметна
2	Одутловатость век с умеренно покрытой коркой
3	Отек с тяжелой коркой наполовину закрывает веки
4	Веки полностью закрыты
Кератит	
0	Норма, повреждений нет
1	Слабое помутнение, детали радужки различимы
2	Детали радужки видны тускло
3	Роговица полностью не прозрачна
4	Роговица перфорирована
Склерит	
0	Норма, видимых изменений нет
1	Васкуляризировано менее 25 % склеры
2	Васкуляризировано 25–50 % склеры
3	Васкуляризировано 50–75 % склеры
4	Васкуляризировано более 75 % склеры

Основными критериями эффективности препарата были: индекс лечебного действия, степень выраженности клинической симптоматики, продолжительность заболевания.

Индекс лечебного действия препарата вычисляли в процентах по формуле

$$ИЛД = \frac{СИВС\ в\ группе\ контроля — СИВС\ в\ опытной\ группе}{СИВС\ в\ группе\ контроля} \times 100\ \%,$$

где ИЛД — индекс лечебного действия; СИВС — средний индекс выраженности симптоматики, баллы.

Результаты исследования течения офтальмогерпеса у кроликов на фоне терапии препаратами Панавир, Панавир-ГЛК и в группах сравнения приведены в табл. 23.

Таблица 23

Эффективность терапии препаратами Панавир-ГЛК, Панавир, Офтальмоферон при экспериментальном офтальмогерпесе у кроликов

Группа животных, n = 3	Длительность заболевания, сут*	Значения *U*-критерия Манна–Уитни**/уровень значимости, α	СИВС, баллы	Значения *U*-критерия Манна–Уитни/уровень значимости, α	Индекс лечебного действия, %	Значения *U*-критерия Манна–Уитни /уровень значимости, α
1-я — контроль (плацебо)	21,5 ± 3,5	–	14,0 ± 1,2	–	–	–
2-я — Офталь-моферон	12,4 ± 2,6	0*** 0,009	7,8 ± 2,1	0 0,009	44,3 ± 2,7	0 0,009
3-я — Панавир	14,7 ± 2,8	1 0,016	9,25 ± 2,0	0 0,009	33,9 ± 3,5	0 0,009
4-я — Панавир-ГЛК	11,5 ± 3,1	0 0,009	7,2 ± 2,5	0 0,009	48,5 ± 0,9	0 0,009

Примечания. * Средние величины: среднее значение ± стандартная ошибка; ** p между соответствующими показателями в опытных группах и группе контроля (плацебо) по U-критерию Манна–Уитни при выбранном уровне значимости α = 0,05.

Через сутки после начала лечения препаратом Панавир-ГЛК отмечали снижение выраженности воспалительного процесса, приводящее к ускорению процесса эпителизации роговицы и снижению СИВС. На 5-е сутки после заражения СИВС препарата Панавир-ГЛК по непараметрическому U-критерию Манна–Уитни был достоверно ниже аналогичного показателя у животных, получавших плацебо, и составил 7,2 ± 2,5 балла.

К 12-м суткам после инфицирования наблюдалось затихание клинических проявлений, в то время как в контрольной группе животных симптомы офтальмогерпеса регистрировали до 21,5 ± 3,5 суток. Разница между показателями средней продолжительности заболевания в группах статистически достоверна.

Панавир-ГЛК и Панавир проявляли активность наиболее быстро в случае лечения эпителиальных кератитов и умеренно — при лечении стромальных кератитов. Инстилляции препаратов Панавир-ГЛК и Панавир предотвращали развитие грубых помутнений роговицы, в то время как в контрольной группе животных, получавших плацебо, и у животных, леченных препаратом Офтальмоферон (2-я группа), образование грубых помутнений типа макула было отмечено в 16,7 % случаев. У животных на фоне применения препаратов Панавир-ГЛК или Панавир образование выраженных помутнений роговицы, свидетельствующих о тяжести воспалительного процесса, наблюдали в 2 раза реже по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе (16,7 % случаев против 33,3 % случаев соответственно). Легкая степень помутнения роговицы была выявлена в 50 % случаев на фоне лечения препаратом Панавир и в 33,3 % случаев — на фоне лечения препаратом Панавир-ГЛК или референс-препаратом. В контрольной группе животных образование помутнений легкой степени выраженности наблюдали только в 16,7 % случаев. Таким образом, применение исследуемых препаратов, так же как и препарата Офтальмоферон, предотвращало развитие выраженных и грубых посткератитных проявлений в 83,3 % случаев.

2.1.10. Модель экспериментального перитонита

Вариант 1. Экспериментальный перитонит (воспаление брюшины) вызывают введением в брюшную полость белых крыс 2%-ной настойки йода в глицерине. Через 1,5 часа после введения йода в глицерине и затем ежедневно в течение 6 дней животные получают изучаемый препарат. Контрольным крысам вводят воду. Через месяц животных выводят из эксперимента, вскрывают брюшную полость и оценивают наличие и количество спаек, а также наличие экссудата.

Вариант 2. Перитонит вызывают внутрибрюшинным введением 1%-ного раствора уксусной кислоты (1 мл на 100 г массы тела). Через 3 часа животных забивают, вскрывают брюшную полость и собирают экссудат. Исследуемые вещества вводят зондом в желу-

док за 1 час до уксусной кислоты. Антиэкссудативный эффект оценивают по уменьшению объема экссудата в процентах к контролю.

Объект — *чага.* Изучение влияния отвара чаги на экспериментальный перитонит показало, что в группе животных, получавших чагу, все животные выжили, в отличие от контрольной группы, в которой погибло 14 животных из 15 (9 — в первые 3–5–6 дней). Количество спаек у животных экспериментальной группы значительно ниже (в 15 раз), чем у группы контроля. Чага предотвращала образование экссудата, сокращала выраженность реакции мезентериальных желез и предупреждала летальность (табл. 24).

Таблица 24

Эффективность чаги в предотвращении развития у белых крыс экспериментального перитонита, индуцированного 2%-ной настойкой йода в глицерине

Симптомы перитонита	Опыт (чага)	Контроль (вода)
Среднее количество спаек у каждого животного	2	30
Фиброзный налет	9*	13
Увеличение количества мезентериальных желез	4*	58
Экссудат в брюшной полости	–	4
Среднее количество петехий	28*	Более 150
Летальность животных (на 30-е сутки)	0	14

Примечание. * $p < 0,05$ — достоверная разница по отношению к контролю.

На основании опытов автор делает вывод, что отвар чаги обладает несомненным противовоспалительным действием. Однако в случае уже развившегося воспалительного процесса чага была неэффективна.

2.1.11. Модель экспериментального гингивита

Экспериментальный гингивит у крыс воспроизводят несколькими способами.

Вариант 1. Гингивит вызывают путем аппликации на десну геля на 2,5%-ной карбоксиметилцеллюлозе (КМЦ), который содержит 10 мг/мл пчелиного яда. Гель наносят на десну крыс в объеме 0,25 мл в течение 2 дней по одному разу.

Вариант 2. Для моделирования экспериментального гингивита животному однократно инъекционно в области центральных резцов

в подслизистый слой десны вводили препарат Випраксин (водный раствор яда гадюки) в объеме 0,2 мл.

Моделирование воспалительного процесса в обоих случаях основано на действии фосфолипазы А2 (ФЛА2), которая играет пусковую роль в развитии патологических процессов, а также меллитина, усиливающего провоспалительный эффект. При этом КМЦ-гель пролонгирует действие ФЛА2. Установлено, что максимально выраженные воспалительно-дистрофические и дисбиотические процессы в десне крыс наблюдаются на 7−8-й день после аппликации пчелиного яда или инъекции яда гадюки.

Объект — *календула лекарственная.* Изучено действие мази календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*) с бентонитовой глиной и композиции эфирных масел мяты, фенхеля, сосны, эвкалипта (в равных соотношениях) с бентонитовой глиной на течение экспериментального гингивита, вызванного пчелиным ядом.

Было выделено 4 группы эксперимента (по 5 крыс в каждой группе):

– 1-я — модель экспериментального гингивита (без лечения);

– 2-я — модель экспериментального гингивита + мазь календулы с бентонитовой глиной;

– 3-я — модель экспериментального гингивита + композиция эфирных масел мяты, фенхеля, сосны, эвкалипта (в равных соотношениях) с бентонитовой глиной;

– 4-я (контроль) — интактные животные.

Аппликации испытуемых лечебных средств на десну проводили ежедневно, в количестве 0,5 мл после еды на протяжении 5 дней. Животных 1-й группы выводили из эксперимента на 10-й день, 2-й и 3-й группы — на 15-й день от его начала под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Иссекали десну. Тканевые комплексы фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Материал заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 4–5 мкм, гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование осуществляли в соответствие со стандартной методикой.

Данные морфологического исследования выявили при экспериментальном гингивите в эпителиальном слое десны набухание клеток, инфильтрацию его лимфоцитами, явления гидропической

дистрофии, характеризующейся появлением вакуолей. Вокруг везикул наблюдалась дискомплексация клеток шиповатого слоя, нарушение состояния межклеточных контактов. Собственная пластинка слизистой оболочки была отечна, инфильтрирована лимфоцитами, лейкоцитами с примесью различного количества тучных и плазматических клеток. Кровеносные сосуды были умеренно расширены. В воспалительном инфильтрате присутствовали в большом количестве макрофаги, а также имеющие макрофагальное происхождение гигантские многоядерные клетки с извитыми фестончатыми ядрами, богатыми хроматином, что свидетельствовало об их высокой морфофункциональной активности.

В норме в эпителии десны у экспериментальных животных отмечалась ареактивность по отношению к набору изучаемых лектинов.

При экспериментальном гингивите наблюдалось увеличение сиалоконъюгатов как проявление компенсаторной реакции (рис. 2).

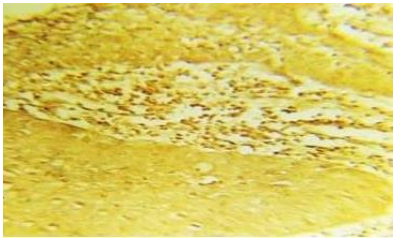


Рис. 2. Рецепторы лектинов в тканях десны при экспериментальном гингивите (ув. 10 × 16)

Отмечалось большое разнообразие рецепторов изучаемых лектинов, приводящих к нарушению механической связи между клетками и расстройству клеточной кооперации. В цитолемме базального слоя освобождались субтерминальные остатки D-галактозы, что, возможно, являлось сигналом для лектин-рецепторной активности макрофагов и лимфоцитов в реализации их защитной функции. В собственной пластинке слизистой оболочки (СПСО) также выявлялся весь спектр исследуемых гликоконъюгатов, указывающих на деполимеризацию полисахаридов и нарушение проницаемости веществ.

Во 2-й экспериментальной группе под терапевтическим воздействием отмечалось снижение воспалительных явлений. Однако в части десмосомальных контактов наблюдались признаки их расширения, так как местами явления интрацеллюлярного отека сохра-

нялись и препятствовали восстановлению межклеточных контактов, за счет чего и сохранялась очаговая рыхлость многослойного плоского эпителия.

В 3-й экспериментальной группе под влиянием комбинации эфирных масел с бентонитовой глиной наблюдались активно протекающие процессы внутриклеточной регенерации в эпителиоцитах. Отмечалось уменьшение клеток воспалительного ряда, полное исчезновение многоядерных гигантских клеток, что говорило о завершении их функции и рассасывании воспалительного экссудата. Цитоплазма клеток была без очаговых просветлений, ядра клеток — с умеренным количеством хроматина, увеличивалось число митохондрий и рибосом. На большем протяжении эпителиального пласта происходило восстановление межклеточных контактов и формирование 14 новых десмосом. Явления периваскулярного отека отсутствовали, клетки сосудистого эндотелия нормализовали свою структуру, что сопровождалось уплотнением межклеточных контактов и, следовательно, снижением проницаемости сосудистой стенки. Анализ с помощью лектиногистохимического метода свидетельствовал о стихании воспалительного процесса у крыс 3-й группы и значительном изменении в экспрессии рецепторов лектинов (рис. 3). Наблюдалась общая тенденция к снижению содержания рецепторов всех использованных лектинов, тогда как у крыс 2-й группы отмечались синтез и накопление аномальных гликополимеров, что, по-видимому, являлось проявлением остаточных дистрофических изменений.

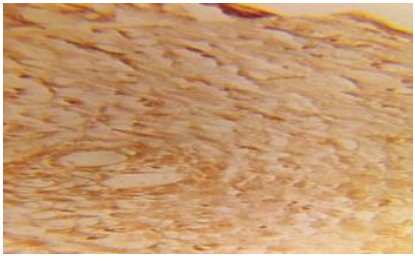


Рис. 3. Рецепторы лектинов в тканях десны у крыс 3-й группы (ув. 10 × 16)

Таким образом, использование комбинации эфирных масел с бентонитовой глиной при экспериментальном гингивите способствовало выраженному снижению уровня воспалительного компо-

нента, восстановлению гемодинамики, активизировало процессы внутриклеточной регенерации в эпителиоцитах десны, о чем свидетельствовала нормализация ультраструктурной организации клетки (уменьшение явлений отека цитоплазмы, увеличение количества рибосом, митохондрий) и структур межклеточных контактов. Применение смеси эфирных масел с бентонитовой глиной при экспериментальном гингивите сопровождалось значительным снижением экспрессии специфически связывающихся с лектинами гликоконъюгатов в тканях десны, нормализацией гистотопографии рецепторов лектинов в эпителиоцитах, волокнах и клетках соединительной ткани, эндотелии капилляров.

Объект — *ольха черная.* На модели экспериментального гингивита, вызванного введением препарата Випраксин (водный раствор яда гадюки), изучали действие геля, содержащего спиртовое извлечение из листьев ольхи черной. В качестве препарата сравнения использовали гель Метрогил Дента. Гели наносили тонким слоем на область воспаления после появления клинических признаков гингивита (6-е сутки от начала эксперимента).

Для изготовления фитогеля предварительно была получена настойка листьев ольхи черной. Экстракцию из порошка листьев *Alnus glutinosa* проводили при комнатной температуре 30%-ным спиртом этиловым в соотношении 1 : 5 (с учетом коэффициента поглощения экстрагента) в течение 7 дней, ежедневно перемешивая в течение 15 минут. Затем фильтровали через фильтровальную бумагу.

Для изготовления геля, содержащего настойку, в качестве гелеобразователя использовали тилопур (гидроксипропилметилцеллюлоза). В широкогорлую посуду вносили 97,0 г настойки и прибавляли 3,0 г тилопура. Его просеивали через двойной слой марли и медленно наслаивали, при постоянном и интенсивном перемешивании, для обеспечения равномерного гелеобразования.

Для проведения эксперимента были отобраны 70 самцов белой крысы линии Wistar в возрасте 3 месяцев, находящихся на стандартном рационе питания. Они были случайным образом разделены на 10 групп (табл. 25).

Животным всех групп в 1-й день эксперимента моделировали гингивит путем введения в подслизистый слой десны в область центральных резцов 0,2 мл препарата Випраксин. Появление клинических признаков экспериментального гингивита наблюдалось на 5-е сутки

от начала эксперимента. Начиная с 6-х суток всем животным (кроме контрольных групп 3А и 3В) начинали обработку десен лекарственными средствами в соответствии с планом эксперимента (табл. 25). Гели наносили тонким слоем на область воспаления.

Таблица 25

Группы экспериментальных животных и условия эксперимента

Группа животных, n = 7	**Препарат и частота его нанесения на десну в сутки**	**Длительность применения препаратов (в днях)**
1А	1 раз фитогель с настойкой	2 дня
2А	1 раз Метрогил Дента	2 дня
3А (контроль) — экспериментальный гингивит	–	–
4А	2 раза фитогель с настойкой (9.00 и 17.00)	2 дня
5А	2 раза Метрогил Дента (9.00 и 17.00)	2 дня
1В	1 раз фитогель с настойкой	4 дня
2В	1 раз Метрогил Дента	4 дня
3В (контроль) — экспериментальный гингивит	–	–
4В	2 раза фитогель с настойкой (8.00 и 15.00)	4 дня
5В	2 раза Метрогил Дента (8.00 и 15.00)	4 дня

Животные 1А–5А-групп выводились из эксперимента на 8-е сутки, животные 1В–5В групп — на 10-е сутки.

В ходе исследования установлено, что при использовании лекарственных препаратов (фитогеля и Метрогил Дента) в течение 2 дней и при однократном нанесении на десну в сутки (группа 1А и 2А) клинические признаки воспаления уменьшались в обеих группах, сохранялась лишь незначительная гиперемия десневого края центральных резцов без признаков кровоточивости.

В гистологических препаратах десны в группах 1А (рис. 4) и 2А (рис. 5) наблюдалось восстановление соединительнотканного слоя, сохранялись структурные изменения эпителиоцитов базального слоя, при этом в группе 2А количество таких клеток было больше. Также в этой группе отмечалась дезинтеграция клеток шиповатого и зернистого слоев. В обеих группах определялось уменьшение сглаженности сосочков поверхностного слоя СПСО, которая оста-

валась отечной, инфильтрированой единичными лимфоцитами, тучными и плазматическими клетками. В группе 1А наблюдались единичные участки разволокнения и фрагментации волокнистых структур, в то время как в группе 2А количество таких изменений было выше. В обеих группах сохранялось полнокровие сосудов соединительной ткани.

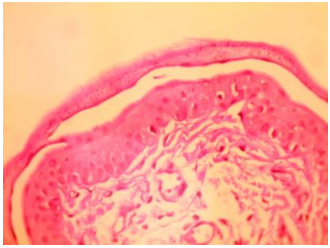


Рис. 4. Слизистая оболочка десны крысы (группа 1А) на 8-е сутки после начала эксперимента. Везикуляция цитоплазмы базальных эпителиоцитов. Дезинтеграция клеток шиповатого и зернистого слоев эпителия. Внутриклеточный очаговый отек шиповатого слоя эпителия. Венозное полнокровие (микрофотография гистологического препарата; окраска — гематоксилин и эозин; ув. ×400)

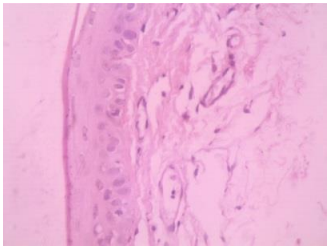


Рис. 5. Слизистая оболочка десны крысы (группа 2А) на 8-е сутки после начала эксперимента. Везикуляция цитоплазмы базальных эпителиоцитов. Дезинтеграция клеток шиповатого и зернистого слоев эпителия. Отек и инфильтрация клетками лимфоцитарного ряда. Полнокровие сосудов (микрофотография гистологического препарата; окраска — гематоксилин и эозин; ув. ×400)

В контрольной группе 3А, где лечение не проводилось, сохранялись как клинические, так и гистологические признаки воспаления. Визуально определялось покраснение и отечность десневого края, десневого сосочка, незначительная сглаженность контура, при касании наблюдалась кровоточивость. В гистологических препаратах десны определялся внутриклеточный отек шиповатого слоя, ядра клеток были сдвинуты на периферию, наблюдалась выраженная сглаженность сосочков поверхностного слоя СПСО, отек, значительная инфильтрация клетками лимфоцитарного ряда. Отмечались участки разволокнения и фрагментации волокнистых структур, многочисленное полнокровие кровеносных сосудов.

Применение 2 раза в сутки в течение 2 дней фитогеля (группа 4А) и геля Метрогил Дента (группа 5А) приводило к исчезновению клинических признаков воспаления, однако в гистологических препаратах они сохранялись.

В группе 4А отмечалось восстановление базального слоя, но наблюдалась дезинтеграция клеток. Определялось восстановление соединительнотканной структуры, организация волокнистых структур с сохранением инфильтрации и полнокровием сосудов. В группе 5А восстановление базального слоя не отличалось от группы 4А, однако в соединительнотканном слое отмечалась значительная дезинтеграция волокон с клеточной инфильтрацией и полнокровием сосудов.

В группах животных (1В–2В и 4В–5В), которым давали лекарственные препараты на протяжении 4 дней, наблюдалось отсутствие клинических признаков воспаления: десна имела нежно-розовое окрашивание, без нарушения формы и контура, кровоточивость отсутствовала.

На гистологических препаратах группы 1В (рис. 6) наблюдалось восстановление всех слоев тканей. Клетки базального слоя имели правильную форму, однако встречалась их единичная вакуолизация. В СПСО также отмечалась регенерация структуры ткани, но при этом сохранялись отек и инфильтрация тканей с незначительным полнокровием сосудов (рис. 6). В группе 2В также определялось восстановление тканей, однако сохранялось легкое воспаление и незначительная дезинтеграция и вакуолизация клеток базального слоя, а также небольшой отек соединительнотканного слоя с множественной инфильтрацией и полнокровием сосудов (рис. 7).

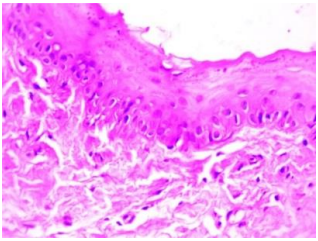


Рис. 6. Слизистая оболочка десны крысы (группа 1В) на 10-е сутки после начала эксперимента. Базальный слой представлен клетками в виде частокола. Везикуляция цитоплазмы базальных эпителиоцитов. Отек и инфильтрация клетками лимфоцитарного ряда (микрофотография гистологического препарата; окраска — гематоксилин и эозин; ув. ×400)

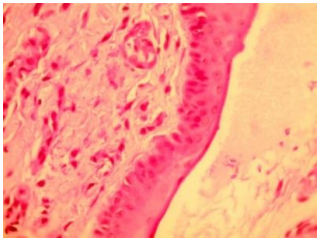


Рис. 7. Слизистая оболочка десны крысы (группа 2В) на 10-е сутки после начала эксперимента. Везикуляция цитоплазмы базальных эпителиоцитов. Отек и инфильтрация клетками лимфоцитарного ряда. Полнокровие сосудов. Незначительное разволокнение волокнистых структур (микрофотография гистологического препарата; окраска — гематоксилин и эозин; ув. ×400)

При визуальном осмотре десны крыс группы 3В отмечалось незначительное покраснение десневого края и сглаженность его контура, кровоточивость отсутствовала. В гистологических препаратах сохранялись все признаки воспалительного процесса: изменения эпителиоцитов базального слоя, дезинтеграция клеток шиповатого и зернистого слоев. Определялась сглаженность сосочков поверхностного слоя СПСО, отек и инфильтрация клетками лимфоцитарного ряда. Встречались разволокнения и фрагментации волокнистых структур с полнокровием многочисленных сосудов соединительной ткани (рис. 8).

В гистологических препаратах десны животных группы 4В наблюдалось полное восстановление структуры десны. Базальный слой представлял собой ряды низких клеток, местами расположенных в виде частокола. Клетки шиповатого слоя были расположены неравномерно, отек эпителия отсутствовал. СПСО полностью восстановилась и представляла собой волокнистую соединительную ткань с большим количеством коллагеновых и эластических волокон. Сохранялось полнокровие единичных сосудов и незначительная инфильтрация тканей (рис. 9). Таким образом, отличия гистологических препаратов данной группы и контрольной группы 3В подтверждают эффективность фитогеля с настойкой листьев ольхи черной при нанесении на десну 2 раза в сутки в течение 4 дней.

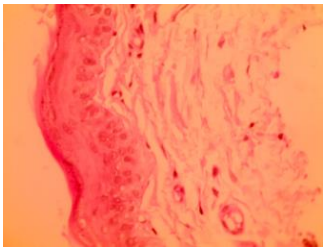


Рис. 8. Слизистая оболочка десны крысы (группа 3В) на 10-е сутки после начала эксперимента. Дезинтеграция клеток шиповатого слоя. Сглаженность сосочков СПСО. Отек и инфильтрация клетками лимфоцитарного ряда. Фрагментация волокнистых структур (микрофотография гистологического препарата; окраска — гематоксилин и эозин; ув. ×400)

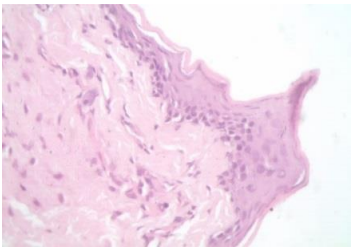


Рис. 9. Слизистая оболочка десны крысы (группа 4В) на 10-е сутки после начала эксперимента. Базальный слой представлен клетками в виде частокола. СПСО слизистой преимущественно широкие и низкие. Инфильтрация клетками лимфоцитарного ряда (микрофотография гистологического препарата; окраска — гематоксилин и эозин; ув. ×400)

В группе 5В отмечалось восстановление базального слоя, но сохранялся внутриклеточный отек эпителия шиповатого слоя. В СПСО определялось восстановление соединительнотканных сосочков, но сохранялись отек и венозное полнокровие, клетки эндотелия были округлой формы, набухшие. Наблюдалась клеточная инфильтрация единичными клетками и разволокнение волокнистых структур.

Отличие гистологических препаратов группы 5В и 4В подтверждает, что применение фитогеля с настойкой листьев ольхи черной 2 раза в сутки в течение 4 дней более эффективно, чем использование геля Метрогил Дента в том же режиме.

Установлено, что двукратное использование фитогеля, содержащего настойку листьев ольхи черной, в течение 4 дней при экспериментальном гингивите, приводит к исчезновению клинических симптомов и полному восстановлению структуры десны. При двукратном ежедневном нанесении геля Метрогил Дента в течение 4 дней отмечается восстановление базального слоя слизистой десны, однако сохраняется гистологический признак воспаления — внутриклеточный отек эпителия шиповатого слоя, что говорит о высокой эффективности разработанного растительного препарата при экспериментальном гингивите.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бомбела, Т. В.* Методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода Euphrasia : автореф. дис. … д-ра фарм. наук : 14.04.02 / Т. В. Бомбела ; Сам. гос. мед. ун-т. Самара, 2017. 44 с.

2. *Борисова, М. С.* Противоязвенная активность производных монотерпенов (экспериментальное исследование) : автореф. дис. … канд. биол. наук : 14.03.06 / М. С. Борисова ; Томск. нац. исслед. мед. центр РАН. Томск, 2019. 25 с.

3. *Бубенчикова, В. Н.* Антипролиферативная и антиэкссудативная активность водорастворимого полисахаридного комплекса шалфея горминового / В. Н. Бубенчиков, Ю. А. Кондратова // Междунар. журн. прикл. и фундам. исслед. 2014. № 11, Ч. 3. С. 397–399.

4. *Бубенчикова, В. Н.* Противовоспалительная активность травы тимьяна Паласса (*Thymus pallasianus H. Braun*) / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак // Кубан. науч. мед. вестн. 2015. № 5. С. 25–28.

5. *Висмонт, Ф. И.* Воспаление (патофизиологические аспекты) : учеб.-метод. пособие / Ф. И. Висмонт. Минск : БГМУ, 2006. 36 с.

6. *Гарсия, Е. Р.* Фармакогностическое изучение татарника колючего (*Onopordum acanthium L.*) : автореф. дис. … канд. фарм. наук : 14.04.02 / Е. Р. Гарсия ; Волгогр. гос. мед. ун-т. Пятигорск, 2021. 24 с.

7. *Горбатюк, Н. О.* Гиполипидемическое действие суммы тритерпеновых кислот из плодов облепихи и клюквы : автореф. дис. … канд. фарм. наук : 14.03.06 / Н. О. Горбатюк ; Волгогр. гос. мед. ун-т. Волгоград, 2016. 25 с.

8. *Дашинамжилов, Ж. Б.* Противовоспалительное действие экстракта сухого из семикомпонентного сбора «Наркофит» / Ж. Б. Дашинамжилов, К. Ж. Маланов, П. Б. Лубсандоржиева // Вестн. Бурят. гос. ун-та. 2012. Спец. вып. 3. С. 69–73.

9. *Довбня, Ж. А.* Обоснование использования комбинации эфирных масел с бентонитовой глиной в комплексном лечении хронического катарального гингивита у детей : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.01.14 / Ж. А. Довбня ; Крым. федер. ун-т им. В. И. Вернадского. Симферополь, 2018. 178 с.

10. *Иванова, Д. Ф.* Фитохимическое изучение, разработка и стандартизация лекарственных средств на основе первоцвета весеннего : дис. … канд. фарм. наук : 14.04.02 / Д. Ф. Иванова. Уфа, 2017. 194 с.

11. *Иманаева, А. Я.* Изучение противовоспалительной активности липоевой кислоты на модели адъювант-индуцированного артрита крыс / А. Я. Иманаева, Л. Н. Залялютдинова, Д. Э. Цыплаков // Фундам. исслед. 2013. № 6, Ч. 3. С. 596–600.

12. *Исследование* противовоспалительной активности сухого экстракта сабельника болотного / Е. В. Ферубко [и др.] // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Сер. Медицина. 2008. № 7. С. 194–199.

13. *Компанцев, Д. В.* Экспериментальное изучение целесообразности включения экстракта ивы белой в гидрогель противоартрозного действия / Д. В. Компанцев // Бюл. сиб. медицины. 2007. Т. 6, № 2. С. 26–30.

14. *Коновалова, Д. С.* Изучение противовоспалительной активности травы пиретрума девичьего / Д. С. Коновалова, С. А. Кулешова // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер. Медицина. Фармация. 2011. № 16. С. 241–244.

15. *Лещинский, А. Ф.* Роль изменений биоэнергетики в механизме действия нестероидных противовоспалительных препаратов / А. Ф. Лещинский // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1976. № 4. С. 436–438.

16. *Матюшкин, А. И.* Изучение противовоспалительной и противоболевой активности гимантана в лекарственной форме для наружного применения : дис. … канд. биол. наук : 14.03.06 / А. И. Матюшин. Москва, 2020. 147 с.

17. *Методические* рекомендации по изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств / сост.: Г. Я. Шварц, Р. Д. Сюбаев // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под общ. ред. А. Н. Миронова. Москва, 2012. Ч. 1. С. 746–758.

18. *Мушкина, О. В.* Влияние экстрактов из листьев ольхи серой и ольхи черной на биохимические показатели крови при генерализованном воспалении / О. В. Мушкина, С. А. Гурин // Весн. ВДУ. 2010. № 5. С. 45–48.

19. *Огурцов, Ю. А.* Ранозаживляющая, противовоспалительная и антимикробная активность геля с сухим экстрактом астрагала эспарцетного / Ю. А. Огурцов, Н. Н. Гужва, Л. Б. Гужва // Изв. высш. учеб. заведений. Сев.-Кавказ. регион. Естеств. науки. 2009. № 1. С. 136–139.

20. *Оценка* противовоспалительного и антиоксидантного действия супрамолекулярного комплекса рутина [Электронный ресурс] / К. Р. Баратов [и др.] // Universum: Химия и биология. 2020. № 9. Режим доступа: https://7universum.com/ru/ nature/archive/item/10681. Дата доступа: 13.04.2023.

21. *Оценка* эффективности применения экстракта побегов *Solanum tuberosum* при экспериментальном офтальмогерпесе / Л. М. Алимбарова [и др.] // Вестн. офтальмологии. 2015. № 3. С. 76–81.

22. *Применение* фитогеля с настойкой листьев ольхи черной при экспериментальном гингивите / О. В. Мушкина [и др.] // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. 2022. Т. 21, № 3. С. 94–101.

23. *Сернов, Л. Н.* Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. Москва : Всерос. науч. центр по безопасности биол. актив. веществ, 2000. 352 с.

24. *Сравнение* выраженности воспаления у крыс с первичной реакцией и вторичной иммунологической реакцией на инъекцию полного адъюванта Фрейнда / А. И. Матюшина [и др.] // Биомедицина. 2019. Т. 15, № 2. С. 75–87.

25. *Шашкина, М. Я.* Чага, Чаговит, Чагалюкс как средства профилактики и лечения больных [Электронный ресурс] / М. Я. Шашкина, П. Н. Шашкин, А. В. Сергеев / Рос. онколог. центр им. Н. Н. Блохина. Москва, 2008. 79 с. Режим доступа: https://gigabaza.ru/download/189.html. Дата доступа: 13.04.2023.

26. *Шевчук, С. В.* Противовоспалительная активность травы кипрея узколистного / С. В. Шевчук, Н. С. Гурина // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. рец. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. Я. Хрыщановича. Минск, 2020. Вып. 10. С. 460–463.

27. *Экспериментальные* методы воспроизведения гингивита [Электронный ресурс] / А. П. Левицкий [и др.] // Інновації в стоматології. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/eksperimentalnye-metody-vosproizvedeniya-gingivita/viewer. Дата доступа: 13.04.2023.

28. *Antioxidant* property, anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extracts of two onion bulbs varieties (Allium cepa L.) [Electronic resource] / Y. D. Mang [et al.] // Clin. Phytosci. 2021. Vol. 7. Mode of access: https://doi.org/10.1186/s40816-021-00284-2. Date of access: 12.04.2023.

2.2. РАНЫ КАК ПАТОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ

Рана является сложной биологической системой и в своем развитии проходит определенные фазы: I — фаза воспаления, подразделяется на период сосудистых изменений и период очищения раны от некротических тканей; II — фаза регенерации, образования и созревания грануляционной ткани; III — фаза реорганизации рубца и эпителизации. Существует альтернативная четырехстадийная классификация раневого процесса BYRP (Black Yellow Red Pink). В данной системе различные цвета имитируют различные фазы раневого процесса. В классификации BYRP выделены стадии: Black (черная) — некроз, Yellow (желтая) — фибрин в ране, Red (красная) — грануляционная ткань, Pink (розовая) — эпителизация раны.

Эволюция представлений о лечении ран прошла 3 основных этапа. При этом каждый из следующих этапов не опровергает, а дополняет предыдущий.

I этап — теория влажного заживления ран (1962 год). Показано преимущество заживления раны в условиях влажной среды по сравнению с сухой повязкой. Это привело к появлению новых перевязочных материалов, мазей на гидрофильной основе, снижению роли липофильных субстанций.

II этап — дифференцированный подход к лечению ран согласно стадии раневого процесса (1992 год). Дифференцированное лечение ран в зависимости от этиологии и стадии способствовало появлению современных перевязочных средств, началу применения технологий генной инженерии, биосинтетических аналогов кожи.

III этап — теория обработки основания раны «Wound bed preparation» (2000 год). Она основана на необходимости перевода хронической раны в острую, открытии высокого уровня протеаз в экссудате и фенотипической несостоятельности клеток основания и краев хронических ран.

В настоящее время лечение ран, не заживающих в течение более 2 недель, включает следующие этапы: хирургическая обработка — некрэктомия; адекватное дренирование; ведение раны с влажной средой; использование оптимальных антисептиков, отказ от цитотоксических средств; использование современных перевязочных материалов согласно стадиям раневого процесса; транспорт в рану необходимых веществ при помощи мазей и перевязочного материала; использование дополнительных средств с доказанной эффективностью для лечения ран.

Проблема заживления ран при повреждениях различной этиологии и кожных заболеваниях относится к числу важнейших задач при оказании медицинской помощи. Учеными постоянно проводятся исследования по разработке новых современных лекарственных средств, стимулирующих процессы регенерации тканей в ране. Знание закономерностей регенерационных процессов дает возможность создания ранозаживляющих препаратов, обладающих широким спектром фармакологического действия, оказывающих влияние на разные звенья раневого процесса и обеспечивающих оптимальные условия для ускорения заживления ран.

Перспективной является разработка ранозаживляющих лекарственных средств растительного происхождения. Природные биологически активные вещества, относящиеся к различным классам химического строения, подавляют свободнорадикальное окисления липидов, снижают концентрацию токсических перекисных продуктов, что приводит к ускорению процессов клеточной регенерации, а также ингибируют ферменты, индуцирующие синтез активных индукторов воспаления (простагландинов, тромбоксанов, простациклинов, лейкотриенов и др.), оказывая тем самым противовоспалительное действие и, как следствие, ранозаживление. В процесс активации заживления поврежденных тканей вносит вклад целый ряд биологически активных веществ растительного происхождения (полифенолы, кумарины, витамины, каротиноиды, макро- и микроэлементы). Благодаря их ингибирующему влиянию на ПОЛ, стабилизацию мембранных структур клеток, предотвращается грубая деструкция и достигается ускорение митоза клеток, а значит и внутриклеточной регенерации в тканях.

2.2.1. Модель плоскостной кожной раны

Крыс анестезируют путем введения кетамина (0,5 мл/кг внутрибрюшинно) или любым другим доступным и разрешенным в стране препаратом для наркоза животных. Шерсть животного на спине выбривают электрической машинкой. Область раны создается следующим образом: к спине животных прикладывают круговой трафарет из нержавеющей стали, смоченный метиленовым синим. Полная окружность вырезания раны — 2,5 см в ширину (площадь = 4,90 см^2) и глубина 0,2 см создается по определенным меткам с помощью зубчатого пинцета, хирургического скальпеля и ножниц. Вся рана остается открытой. День создания раны считают 0-м. Обработки ран животным начинают на следующий день и продолжают в течение 14 дней или до заживления.

Оценку динамики заживления осуществляют планиметрическим методом. Измерения раневых площадей проводят каждый день или через определенные интервалы с помощью электронного штангенциркуля и миллиметровой бумаги или используя прозрачный целлофан (бумагу) и водостойкий фломастер. В последнем случае обводят контур раны, и зарисованные области ран измеряют мил-

лиметровой бумагой. Исследуемый параметр — скорость закрытия раны. Для оценки эффективности регенерирующих свойств лекарственных средств рассчитывают процент уменьшения площади по формуле

$$\text{ПУП} = \frac{(S_1 - S_n) \times 100}{S_1},$$

где ПУП — процент уменьшения площади; S_1 — площадь раны в первый день измерения; S_n — площадь раны в n день измерения.

Объекты — *ольха серая и ольха черная.* Модель плоскостной кожной раны была использована для оценки ранозаживляющего действия гелей, содержащих извлечения из листьев ольхи серой и черной. Препаратами сравнения в экспериментах были гель декспантенол и мазь Репарэф-2. Изучено регенерирующее действие 4 фитогелей: гель № 1 — на основе настойки листьев ольхи черной, содержащей 60%-ный спирт этиловый; гель № 2 — на основе настойки листьев ольхи черной, содержащей 30%-ный спирт этиловый; гель № 3 — на основе настойки листьев ольхи серой, содержащей 30%-ный спирт этиловый; гель № 4 — на основе настойки листьев ольхи серой, содержащей 70%-ный спирт этиловый. Контрольной группе крыс раны обрабатывали физраствором. Обработку ран проводили со следующего дня после создания раны, ежедневно нанося на рану препараты тонким слоем.

Результаты оценки ранозаживляющего действия фитогелей на основе настоек из листьев ольхи черной и серой представлены в табл. 26 и 27.

Таблица 26

Динамика уменьшения площади ран

Группа животных (крысы, n = 6)	ПУП, % (5-е сутки)	ПУП, % (9-е сутки)	ПУП, % (13-е сутки)
1-я — контроль (0,9%-ный NaCl)	27,39 ± 2,46	58,70 ± 5,46	78,78 ± 2,65
2-я — гель декспантенол	31,08 ± 4,02	62,51 ± 5,13	83,09 ± 3,41
3-я — мазь Репарэф-2	38,17 ± 3,88	72,8 ± 1,16	92,24 ± 2,21
4-я — гель № 1	39,32 ± 2,47	74,12 ± 1,18	95,59 ± 0,90
5-я — гель № 2	32,71 ± 5,50	69,62 ± 2,77	92,93 ± 1,11
6-я — гель № 3	20,24 ± 3,99	70,41 ± 8,04	93,99 ± 1,49
7-я — гель № 4	25,22 ± 2,38	68,44 ± 7,29	94,91 ± 2,1

Таблица 27

Сроки полного заживления ран у крыс, обрабатываемых различными препаратами

Лекарственные препараты, используемые для обработки ран	День регистрации полного заживления	Снижение периодов эпителизации, %
0,9%-ный NaCl	20,3 ± 0,9	–
Гель декспантенол	17,5 ± 0,8*	13,8
Мазь Репарэф-2	15,5 ± 0,7*	23,6
Гель № 1	14,3 ± 0,4	29,5
Гель № 2	15,3 ± 0,7	24,6
Гель № 3	17,6 ± 1,6	13,3
Гель № 4	15,7 ± 1,1*	22,7

Примечание. * $p < 0,05$ — достоверная разница по отношению к контролю.

На 9-е и 13-е сутки эксперимента площадь заживления ран, под действием гелей на основе настоек из листьев ольхи черной и серой, значительно больше, чем в контрольной группе животных и в группе животных, у которых раны обрабатывались декспантенолом, что говорит о выраженном ранозаживляющем действии разработанных лекарственных средств, содержащих биологически активные вещества листьев ольхи черной.

Гель, содержащий настойку листьев ольхи черной на основе 60%-ного спирта этилового, оказывал более сильное ранозаживляющее действие, чем гель с настойкой на основе 30%-ного спирта этилового.

Гель, содержащий настойку листьев ольхи серой на основе 70%-ного спирта этилового, оказывал более сильное ранозаживляющее действие, чем гель с настойкой на основе 30%-ного спирта этилового.

Под действием растительных гелей значительно сокращались сроки эпителизации по сравнению со сроками эпителизации ран в контрольной группе животных. При этом периоды полной эпителизации ран, обрабатываемых фитогелями № 1, 2 и 4, были сопоставимы с периодом полного заживления ран, обрабатываемых мазью Репарэф-2.

На рис. 10 и 11 представлены фотографии ран на 1-й и 9-й день эксперимента.

Рис. 10. Плоскостная кожная рана в 1-й день эксперимента

Рис. 11. Плоскостная кожная рана на 9-й день эксперимента

2.2.2. Модель линейной кожной раны

Крыс анестезируют до создания ран, как описано выше. Шерсть животных на спине выбривают электрической машинкой. Делают продольный паравертебральный разрез стерильным скальпелем длиной 6 см через кожу и ткани спины, как описано Эрлихом и Хантом. После разреза зашивают кожу с интервалами между швами в 1 см (или 0,5 мм) друг от друга с помощью хирургической нити и иглы изогнутой и иглодержателя (рис. 12).

Рис. 12. Линейная кожная рана в 1-й день эксперимента

Для удобства последующего измерения размеров ран швы накладываются с таким расчетом, чтобы эпителий боковых краев раны не соприкасался, и эпителизация происходила от конечных краев раны. День моделирования раны считается как день 0.

Препараты наносят на раны с частотой, определяемой исследователями. Швы снимают на 8–10-й постоперационный день и продолжают применение препарата.

Эффективность лечения определяют на основании визуальной оценки состояния раны и послеоперационного рубца (наличие признаков воспаления, гиперимии, раздражения), гистологических

исследований и ранотензиометрии. Ранотензиометрия позволяет получать количественную оценку деформационно-прочностных свойств рубца на разрыв. Измерение проводится с помощью тензиометра через несколько часов после последнего нанесения. Измеряется вес в граммах, который требуется, чтобы разорвать рубец. Для оценки эффективности рассчитывают прочность при растяжении по следующей формуле:

Прочность на растяжение = прочность на разрыв (г) / площадь поперечного сечения кожи (мм^2).

Объект — *донник лекарственный.* На модели линейной кожной раны изучали ранозаживляющее действие мази и карандаша, содержащих 30%-ный экстракт донника лекарственного (*Melilotus officinalis L.*). Препаратами сравнения были мазь Календула и линимент Алоэ. Исследуемые объекты наносили дважды в сутки на поврежденные участки кожи. Результаты оценки прочности рубца представлены в табл. 28.

Таблица 28

Влияние мази и карандаша с экстрактом донника лекарственного на процесс регенерации

Группа животных	Прочность рубца, у. е.
1-я — контроль	303,9 ± 33,0
2-я — мазь с экстр. донника	470,0 ± 27,5*
3-я — карандаш с экстр. донника	487,0 ± 29,7*
4-я — мазь Календула	430,0 ± 35,0*
5-я — линимент Алоэ	416 ± 36,0*

Примечание. * $p \leq 0,05$.

Применение в течение 7 дней мази и карандаша с экстрактом донника, аналогично линименту Алоэ и мази Календула, способствует увеличению прочности сращения рубца при моделировании линейной кожной раны. Объекты исследования, а также препараты сравнения увеличивали прочность рубца относительно нелеченых животных на 55,0 % (мазь донника), 60,7 % (карандаш донника), 36,9 % (линимент Алоэ) и 41,5 % (мазь Календула).

Объект — *астрагал эспарцетный.* Оценку ранозаживляющего действия геля Астрагал (состав: метилцеллюлоза — 5,0; вода очищенная — 80; глицерин — 10; сухого экстракта астрагала — 5) методом тензиометрии проводили на модели линейной кожной раны.

Кожу спины разрезали до собственной фасции. Длина разреза — 5 см. Затем на равном расстоянии накладывали 3 шва, сближающие края раны. Гель Астрагал наносили на рану ежедневно 2-кратно на протяжении 8 дней. Препарат сравнения (мазь Солкосерил) наносили на раны по аналогичной схеме. Третья группа животных не лечилась (контроль).

На 8-е сутки после операции животных (по 8 в каждой группе) наркотизировали этаминалом натрия (20 мг/кг) и вырезали кусочки кожи шириной 1 см, длиной 3 см, фиксировали одним концом в верхней точке с помощью специального зажима, а к нижнему концу кусочка подвешивали другой зажим с площадкой для установки гирь, массу которых постепенно увеличивали до получения разрыва рубца. Большая масса, необходимая для разрыва рубца, свидетельствовала о большей ее прочности.

Опыты показали, что в группах животных, где для лечения использовали гель Астрагал и препарат сравнения гель Солкосерил, к 8-му дню после операции происходило полное отторжение корочек. По ходу раны наблюдалось формирование рубца. Тензинометрическая оценка прочности рубцов показала, что мазь Астаргал и гель Солкосерил статистически достоверно увеличивают прочность рубцов по отношению к контролю. Результаты оценки прочности рубца представлены в табл. 29.

Таблица 29

Оценка ранозаживляющего действия методом тензиометрии

Срок	Масса гирь, г		
	Контроль	**Астрагал**	**Солкосерил**
8-е сутки	215 ± 67,2	452,0 ± 42,2*	407,2 ± 20,5*

Примечание. * $p \leq 0,05$.

В группе животных, которых лечили гелем Астрагал, вес гирь, приводивших к разрыву рубца, составил 452,0 ± 42,2 г, а получавших гель Солкосерил — 407,2 ± 20,5 г (табл. 29). Таким образом, гели Астрагал и Солкосерил статистически достоверно увеличивают прочность рубца по отношению к контролю. Астрагал проявил ранозаживляющее действие в 1,11 раз выше, чем Солкосерил.

2.2.3. Модель термической раны

Вариант 1. Для создания термической раны (ожога) используют метод, описанный Somboonwong и др., который был модифицирован Заваски. Животных (крыс) анестезируют внутрибрюшинной инъекцией этаминала (60 мг / кг массы тела) для индукции раны. Спина животного между нижними частями обеих лопаток выбривается. Далее на подготовленную поверхность в течение 7–10 секунд прикладывают аппликатор или плитку, нагретые до температуры 75–105 °С, и на неполную толщину выжигают кожу. Сожженная область составляет около 10 % от общей площади поверхности тела. После моделирования ожога испытуемые вещества местно наносятся на раневую область один раз в день.

Сожженный район измеряется сразу и в последующие дни эксперимента. Оценку ранозаживляющего действия проводят анализом динамики уменьшения площади раны и гистологическим исследованием.

Вариант 2. За сутки до моделирования ожога на боковой поверхности тела крысы осуществляют депиляцию участков кожи (4 × 4 см) путем выбривания безопасной бритвой. При нанесении ожогов пустую стеклянную пробирку с внутренним диаметром 22 мм (площадь сечения 4 см^2) и длиной 20–25 см заполняют горячей водой, помещают ее вертикально в кипящую воду (100 °С) на $^2/_3$ высоты, прогревают в течение 1 минуты и в вертикальном положении приводят в плотный контакт с оголенным участком кожи на 10 секунд. Образующиеся в результате ожоги III степени имеют округлую форму, дно ран ярко-красное. Вокруг раны отмечается зона гиперемии шириной 0,5–0,8 см. Моделирование ожога осуществляют под легким эфирным наркозом.

Объект — *астрагал эспарцетный.* Ранозаживляющую активность мазевой композиции на гидрофильной основе, содержащую метилцеллюлозы — 5,0; воды очищенной — 80; глицерина — 10; сухого экстракта астрагала — 5, изучали на модели термического повреждения кожи. Термическое повреждение кожи производили контактным способом, а динамику оценивали по площади раны весовым методом на 2-е и 8-е сутки. Исследуемые лекарственная форма и гель Солкосерил (используемый как препарат сравнения) наносились ежедневно на поврежденную поверхность кожи тонким слоем (не втирая) в количестве 250 мг.

У животных контрольной группы ожоговое повреждение, вызванное контактным способом, на 2-е сутки имело площадь раны в весовых единицах 7,32 ± 0,52 мг, а на 8-е — 5,31 ± 0,25 мг, что было принято за 100 %. У животных, получивших Солкосерил, ожоговое повреждение на 2-е сутки было меньше на 59,21 %, на 8-е — на 39,6 %. По сравнению с этим показателем в контрольной группе на 2-е сутки площадь поверхности ожоговой понизилась только на 27,5 %. Площадь поверхности ожоговой раны под действием мази с экстрактом астрагала на 2-е сутки уменьшилась на 31,54 %, а на 8-е сутки — на 93,18 %.

В эксперименте на лабораторных крысах установлено, что разработанная мазь обладает высокой специфической активностью при лечении экспериментальных ожоговых и травматических ран во второй фазе раневого процесса, проявляя при этом выраженное антимикробное, противовоспалительное и регенерирующее действие на рану, способствуя ее заживлению в короткие сроки.

Объект — *девясил липкий.* На модели термического ожога изучали репаративную активность Жэтривис-геля, содержащего биологически активные вещества жидкого экстракта девясила липкого (*Inula viscosa L.*). В качестве препарата сравнения использовали аппликационную форму в виде геля, содержащего 10 % препарата Ротокан. В опыте использовали 40 нелинейных белых мышей (самцы 20–24 г), разделенных на 4 группы по 10 животных. Первая группа — контроль (ожог без лечения), вторая — Жэтривис-гель, третья — препарат сравнения, четвертая — образец основы (плацебо). Сразу после нанесения травмы начинали лечение, апплицируя на пораженную поверхность Жэтривис-гель, препарат сравнения и плацебо. Лечение осуществляли 1 раз в сутки в течение 21 дня. Состояние раны оценивали визуально. С использованием компьютерной программы Paint (Windows 7.0) измеряли площадь ожогового поражения в см^2, сравнивали количество пикселей на ожоговой поверхности и контрольном квадрате площадью 1 см^2. Результаты оценки ранозаживляющего действия фитопрепарата Жэтривис-гель представлены в табл. 30.

Критерием оценки противоожогового действия служил срок наступления полного заживления ран. Полное заживление ожоговых ран у животных, которых лечили препаратом Жэтривис-гель, наступало на 17-е сутки, что на 6 дней раньше, чем в контроле (за-

живление на 23-е сутки). Препарат сравнения вызывал полное заживление на 21-е сутки, что на 2 дня раньше, чем в контроле и позже, чем в группе животных, которых лечили Жэтривис-гелем. Образец основы (плацебо) вызывал полное заживление на 21-е сутки. Результаты доклинического экспериментального изучения показали, что Жэтривис-гель обладает лечебным эффектом в условиях модели термического ожога, превышающим лечебный эффект препарата сравнения. Жэтривис-гель не оказывал местно-раздражающего действия, аллергических проявлений не наблюдалось.

Таблица 30

Влияние Жэтривис-геля на динамику заживления термического ожога у мышей

Группа животных, n = 10	Площадь ожога, см^2							Полное заживление, дни
	исходная	3-й день	7-й день	10-й день	14-й день	17-й день	21-й день	
1-я — контроль (без лечения)	1,000	1,043 ± 0,030	0,907 ± 0,071	0,724 ± 0,073	0,292 ± 0,020	0,135 ± 0,043	0,094 ± 0,010	23
2-я — Жэтривис-гель	1,000	0,832 ± 0,080	0,750 ± 0,014*	0,566 ± 0,006*	0,102 ± 0,003	0	0	17
3-я — препарат сравнения	1,000	0,994 ± 0,112	0,910 ± 0,072	0,622 ± 0,044	0,256 ± 0,090	0,107 ± 0,020*	0	21
4-я — плацебо	1,000	0,927 ± 0,108	0,865 ± 0,060*	0,704 ± 0,940	0,247 ± 0,817	0,115 ± 0,010*	0	21

Примечание. * Различия статистически достоверны по сравнению с контролем при $p \leq 0,5$.

2.2.4. Модель ультрафиолетовой эритемы

Крыс вводят в наркоз, затем на боку крысы в участке размером 4 × 4 см проводят удаление шерсти. Далее на эту область накладывают плотную ткань с вырезанным участком размером 3 × 3 см. Ультрафиолетовый облучатель с лампой мощностью 30 Вт, длиной волны 253,7 нм располагают на высоте 20 см от уровня кожи. Проводят один сеанс облучения в течение 25 минут, после чего крысу оставляют в клетке на сутки.

На следующие сутки после облучения под наркозом проводят забор участка облученной кожи, с последующей его фиксацией в 10%-ном растворе забуференного фосфатами нейтрального формалина на 2 суток. Для изготовления гистологических препаратов из кожи крыс выполняют модификацию методики проводки в парафин с использованием изопропанола и минерального масла (изме-

няется время экспозиции в растворах, принципиальная схема остается прежней). В дальнейшем изготавливают парафиновые блоки, которые нарезают на микротоме МПС-2 (СССР) с толщиной среза 10 мкм. Проводят монтирование срезов на покрытые адгезивом предметные стекла. Микропрепараты окрашивают гематоксилином и эозином, а также по методу Браше. Полученные микропрепараты фотографируют с помощью окулярной камеры Levenhuk 230 (США) на микроскопе «Микромед-6» (Россия).

2.2.5. Модель инфицированной раны

После анестезии тиопенталом натрия и подготовки кожи крысам на спине параллельно позвоночнику наносят линейную рану до мышечного слоя длиной 3 см. Затем в раны вносят по 0,2 мл взвеси длительно пассировавшегося на питательных средах лабораторного штамма *Staphylococcus aureus*, содержащего в 1 мл 10^9 микробных тел (концентрация определяется по стандарту мутности). После этого раны ушивают адаптационными швами шелком № 2. Наличие местного гнойного процесса оценивают, например, на 3, 7 и 14-е сутки. Контрольные временные точки определяются тем, что рана приобретает признаки острого воспаления через 72 часа. Особое внимание уделяют признакам воспаления со стороны раны: гиперемии, пастозности краев, состоянию швов, отделяемому из раны (преимущественно гнойному). Для ранотензиометрического и гистологического исследования в поперечном направлении из иссеченных ран забирают полоски ткани шириной 0,5 см. Исследование биомеханических свойств заживающей раны производят путем определения прочности сращения ее краев в граммах. С этой целью используют тензиометр.

Объект — *рододендрон золотистый.* На модели инфицированной раны изучали ранозаживляющее действие дерматологической мази следующего состава: экстракт сухого рододендрона золотистого — 10,0 г; вода очищенная — 27,0 мл; вазелин — 54,0 г; эмульгатор Т-2 — 9,0 г. Сравнение действия проводили с 10%-ной мазью Календула.

Было установлено, что на 14-е сутки эксперимента у крыс опытной группы и группы сравнения раны полностью эпителизировались, в то время как в контрольной группе оставались 10 % животных с менее выраженной эпителизацией и частичным сохранением струпа.

Результаты ранотензиометрического исследования показали, что мазь с экстрактом рододендрона увеличивает прочность послеоперационного рубца на 14-е сутки в 4,1 раза в сравнении с контрольной группой. При этом препарат сравнения мазь Календула увеличивал прочность послеоперационного рубца на 14-е сутки в 3,6 раза в сравнении с контрольной группой. Мазь с экстрактом рододендрона превосходит мазь Календула на 12,9 % по прочности образующегося послеоперационного рубца.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Изучение* ранозаживляющего действия геля на основе хитозана с таурином и аллантоином [Электронный ресурс] / П. А. Федосов [и др.] // Соврем. пробл. науки и образования. 2015. № 4. Режим доступа: https://science-education.ru/ru/article/view?id=21247. Дата доступа: 13.04.2023.

2. *Исследование* ранозаживляющего и противовоспалительного действия мази и карандаша с экстрактом донника лекарственного / Е. В. Пантюхина [и др.] // Кубан. науч. мед. вестн. 2006. № 12. С. 96–98.

3. *Исследование* ранозаживляющих свойств гидрофильного геля / А. В. Филатова [и др.] // Universum: Химия и биология. 2020. № 3 (69). С. 33–36.

4. *Миронов, М. А.* Экспериментальное обоснование эффективности топического применения солей N-ацетил-6-аминогексановой кислоты при неосложненных и инфицированных кожных ранах : дис. … канд. мед. наук : 14.03.06 / М. А. Миронов. Пенза, 2019. 147 с.

5. *Мусса, Р.* Изучение травы *Inula viscosa (L.)* с целью создания экстракта и геля для местного и наружного применения : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.04.01 ; 14.04.02 / Р. Мусса ; Рос. ун-т дружбы народов. Москва, 2019. 24 с.

6. *Мушкина, О. В.* Маркетинговые исследования ранозаживляющих лекарственных средств на рынке Республики Беларусь / О. В. Мушкина, Н. С. Гурина // Вестн. ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2021. № 3. С. 100–105.

7. *Обзор* экспериментальных моделей для изучения препаратов, применяемых при кожных заболеваниях / М. А. Ковалёва [и др.] // Междунар. вестн. ветеринарии. 2016. № 3. С. 160–167.

8. *Огурцов, Ю. А.* Ранозаживляющая, противовоспалительная и антимикробная активность геля с сухим экстрактом астрагала эспарцетного / Ю. А. Огурцов, Н. Н. Гужва, Л. Б. Гужва // Изв. высш. учеб. заведений. Сев.-Кавказ. регион. Естеств. науки. 2009. № 1. С. 136–139.

9. *Оценка* ранозаживляющей активности L- и D-изоформ аскорбиновой кислоты и их солей с хитозаном на модели ожоговой раны у крыс [Электронный ресурс] / А. Ф. Аль Зубейди [и др.] // Соврем. пробл. науки и образования. 2016. № 6. Режим доступа: https://science-education.ru/ru/article/view?id=25942. Дата доступа: 13.04.2023.

10. *Привольнев, В. В.* Основные принципы местного лечения ран и раневой инфекции / В. В. Привольнев, Е. В. Каракулина // Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия. 2011. Т. 13, № 3. С. 214–222.

11. *Ранозаживляющая* активность геля на основе густого экстракта травы прозанника крапчатого / В. Н. Бубенчикова [и др.] // Фундам. исслед. 2013. № 8, Ч. 1. С. 123–127.

12. *Ранозаживляющее* действие гидрогеля полигексаметиленгуанидин гидрохлорида при ожогах / С. Н. Лебедева [и др.] // Acta Biomed. Scientifica. 2017. Vol. 2, № 4. P. 93–96.

13. *Семкина, О. А.* Мази, гели, линименты и кремы, содержащие фитопрепараты (обзор) / О. А. Семкина // Хим.-фарм. журн. 2005. Т. 39. № 7. С. 30–36.

14. *Ультрафиолетовое* повреждение кожи у крыс как модель для скрининговой оценки протекторных свойств лекарственных препаратов / А. Б. Цуров [и др.] // Междунар. журн. прикл. и фундам. исслед. 2015. № 5, Ч. 1. С. 78–79.

15. *Фармакологическое* исследование мази с экстрактом сухим рододендрона золотистого / А. В. Цыренжапов [и др.] // Сиб. мед. журн. (Иркутск). 2015. № 2. С. 107–109.

16. *Фармакологическое* исследование мази с экстрактом сухим рододендрона золотистого / А. В. Цыренжапов [и др.] // Сиб. мед. журн. (Иркутск). 2015. № 2. С. 107–109.

17. *Armstrong, D. G.* The role of matrix metalloproteinases in wound healing / D. G. Armstrong, E. B. Jude // J. of Am. Podiatr. Med. Assoc. 2002. Vol. 92, N 1. P. 12–18.

18. *Arun, M.* Evaluation of wound healing, antioxidant and antimicrobial efficacy of Jasminum auriculatum Vahl. Leaves / M. Arun, S. Satish, P. Anima // Avicenna J. of Phytomed. 2016. Vol. 6, N 3. P. 295–304.

19. *Benefits* of Stryphnodendron adstringens when associated with hydrogel on wound healing in diabetic rats [Electronic resourse] / P. de Souza de Aguiar [et al.] // Clin. Phytosci. 2021. Vol. 7. Mode of access: https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-021-00257-5#citeas. Date of access: 13.04.2023.

20. *Mushkina, V.* Effect of wound healing in gels containing tinctures of Alnus glutinosa [Electronic resourse] / V. Mushkina // Clin. Phytosci. 2021. Vol. 7. Mode of access: doi.org/10.1186/s40816-021-00299-9. Date of access: 13.04.2023.

21. *Time-dependent* morphological and biochemical changes following cutaneous thermal burn injury and their modulation by copper nicotinate complex: an animal model / M. A. Nassar [et al.] // Ultrastruct Pathol. 2012. Vol. 36, N 5. P. 343–355.

2.3. ЯЗВА ЖЕЛУДКА

Язвенная болезнь представляет собой хроническое рецидивирующее заболевание, протекающее с чередованием периодов обострения и ремиссии, ведущим проявлением которого служит образование дефекта (язвы) в стенке желудка и двенадцатиперстной кишки.

Общепринятой классификации язвенной болезни не существует. Прежде всего, в зависимости от наличия или отсутствия инфекции *Helicobacter pylori*, выделяют язвенную болезнь, ассоциированную и не ассоциированную с инфекцией *H. pylori*. Последнюю форму иногда также называют идиопатической. Кроме того, различают яз-

венную болезнь как самостоятельное заболевание и симптоматические язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (лекарственные, «стрессовые», при эндокринной патологии, при других хронических заболеваниях внутренних органов), которые возникают на фоне других заболеваний и по механизмам своего развития связаны с особыми этиологическими и патогенетическими факторами.

В зависимости от локализации выделяют язвы желудка кардиального и субкардиального отделов, тела желудка, антрального отдела, пилорического канала. При этом язвы могут располагаться на малой или большой кривизне, передней и задней стенках желудка.

Патогенез язвенного процесса обусловлен нарушением равновесия между факторами кислотно-пептической агрессии желудочного содержимого и элементами защиты слизистой оболочки желудка (СОЖ) и изображается в виде «весов Шея». Усиление факторов агрессии или ослабление факторов защиты приводят к нарушению равновесия и возникновению язвы.

К факторам агрессии относятся:

1. Helicobacter pylori.
2. Гиперплазия обкладочных клеток и повышенная секреция соляной кислоты.
3. Усиление пептической активности.
4. Лизолецитин и желчные кислоты.
5. Нарушение моторики.
6. Дуоденогастральный рефлюкс.
7. Травматизация слизистой.

К факторам защиты относятся:

1. Продукция слизи.
2. Секреция бикарбонатов.
3. Состояние местного кровотока.
4. Регенерация эпителия.
5. Простагландины.

Отмечают следующие стадии течения заболевания: обострения, рубцевания (эндоскопически подтвержденная стадия «красного» и «белого» рубца) и ремиссии, а также имеющаяся рубцово-язвенная деформация желудка.

Острые эрозии и острые язвы СОЖ являются полиэтиологическим заболеванием, возникают как следствие тяжелых травм, ожогов, приема лекарственных препаратов, различных соматических забо-

леваний и других состояний. Их характерная особенность — быстрое возникновение с частым развитием осложнений и почти столь же быстрое заживление после устранения этиологических факторов.

Эрозия представляет собой неглубокое повреждение СОЖ в границах эпителия и образуется при некрозе ее участка. Эрозии имеют различную форму и размер — от 1–2 мм до нескольких сантиметров. Дно дефекта покрыто фибринозным налетом, края мягкие, ровные и не отличаются от окружающей слизистой оболочки по виду. Заживление эрозии происходит путем полной регенерации (эпителизации) за 3–4 дня без образования рубца, при неблагоприятном исходе возможен переход в острую язву.

Острая язва представляет собой глубокий дефект СОЖ, который проникает до ее собственно мышечной пластинки и глубже. Острые язвы чаще одиночны; имеют округлую или овальную форму. Размер острых язв — от 2 мм до нескольких сантиметров. Они локализуются на малой кривизне. Дно язвы покрыто фибринозным налетом, она имеет ровные края, не возвышается над окружающей слизистой оболочкой и не отличается от нее по цвету. Зачастую дно язвы имеет грязно-серую или черную окраску вследствие примеси гематина гидрохлорида. Микроскопически определяется слабо или умеренно выраженный воспалительный процесс в краях язвы; после отторжения некротических масс на дне язвы — тромбированные или зияющие сосуды. При заживлении острой язвы в течение 7–14 дней образуется рубец (неполная регенерация). При редком неблагоприятном исходе возможен переход в хроническую язву.

Хроническая язва — характерно выраженное воспаление и разрастание рубцовой (соединительной) ткани в области дна, стенок и краев язвы. Язва имеет округлую или овальную (реже линейную, щелевидную или неправильную) форму. Ее размер и глубина могут быть различными. Края язвы плотные (каллезная язва), ровные, подрытые в проксимальном ее отделе и пологие в дистальном. В дне язвы выделяют 3 слоя:

– верхний — гнойно-некротическая зона;

– средний — грануляционная ткань;

– нижний — рубцовая ткань, проникающая в мышечную оболочку.

Гнойно-некротическая зона уменьшается в период ремиссии. Грануляционная ткань, разрастаясь, созревает и превращается в грубо-

волокнистую соединительную (рубцовую) ткань. В области дна и краев язвы усиливаются процессы склероза; дно язвы эпителизируется. Рубцевание язвы не приводит к излечению от язвенной болезни, поскольку обострение заболевания может произойти в любое время.

2.3.1. Язва желудка, индуцированная этанолом

У лабораторных животных (крыс) натощак индуцируют язву желудка в/ж введением 96%-ного спирта этилового в объеме 5 (10) мл/кг. Предварительно за 1 час до моделирования язвы желудка (однократно) или в течение нескольких дней вводят исследуемые препараты. Длительность перорального введения исследуемых препаратов зависит от показаний к применению и предполагаемого периода лечения.

Через час после введения этанола животных подвергают эвтаназии под эфирным наркозом. Желудки извлекают, вскрывают по большой кривизне, расправляют на плоскости и фотографируют. Площадь эрозивно-язвенных дефектов определяют по фотографиям или непосредственно на самих препаратах.

Оценку противоязвенной активности (ПА) проводят путем обследования общего состояния СОЖ, подсчета количества язвенных дефектов.

По результатам обследования желудков экспериментальных животных вычисляют индекс ПА для каждого исследуемого соединения. Для этого рассчитывают индекс Паулса для каждой экспериментальной группы по следующей формуле:

$$ИП = А \times В/100, \qquad (2.2)$$

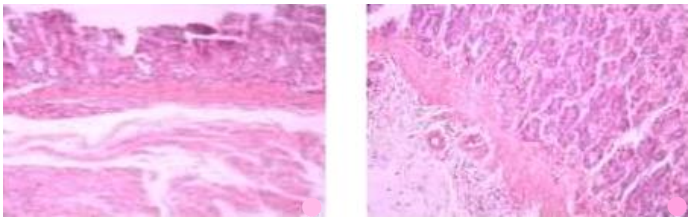
где ИП — индекс Паулса; А — среднее количество язвенных дефектов, приходящихся на одно животное; В — процент животных с язвами в группе.

Индекс ПА рассчитывают как отношение ИП для контрольной группы к индексу опытной группы. Вещества, индекс ПА которых больше либо равен 2 единицам, считают обладающими антиульцерогенной активностью.

Объект — *каперс колючий.* На модели острой этаноловой язвы изучали ПА экстракта каперса колючего (*Capparis spinosa L.*) на белых беспородных крысах-самках. За 24 часа до эксперимента животных лишали пищи и воды.

Абсолютный этанол вводили в желудок через 1 час после введения экстракта каперса колючего в дозе 250 мг/кг или препарата сравнения метилурацила в дозе 50 мг/кг. Через 24 часа крыс выводили из эксперимента. Ткань желудка забирали на гистологическое исследование с целью проведения сравнительной морфологической характеристики в контрольной группе животных и после лечения метилурацилом и экстрактом каперса колючего.

При гистологическом исследовании в контрольной группе животных (без лечения) наибольшие изменения были выявлены в зоне малой кривизны. В слизистой малой кривизны отмечалось формирование острой язвы, которая была представлена дефектом ее поверхностных слоев с десквамацией и отеком слизистой. Характерными признаками были наличие морфологической картины нарушения кровообращения на уровне микроциркуляторного русла в виде резкого полнокровия сосудов, диапедезных и линейных форм кровоизлияний. Сосуды были тонкостенные с периваскулярными кровоизлияниями. В собственной пластинке слизистого слоя стенки желудка отмечалась лимфоидная инфильтрация. Преимущественно лимфоидно-лейкоцитарная инфильтрация выявлялась в периваскулярной зоне в подслизистом слое (рис. 13). Также отмечались некробиотические изменения слизистой, периваскулярная лимфоидно-лейкоцитарная инфильтрация с примесью эозинофилов, а также отек подслизистого слоя кардиального отдела желудка, многослойный плоский покровный эпителий с ороговением.



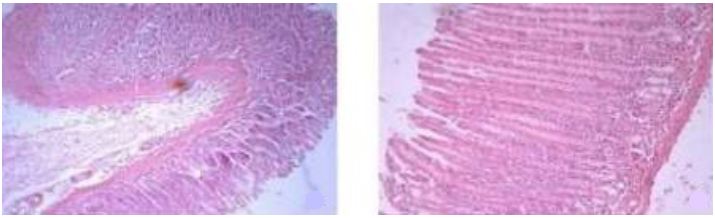
а ***б***

Рис. 13. Состояние слизистой оболочки желудка животных в группе контроля: *а* — формирование острой язвы с дефектом и отеком слизистой, лимфоидная инфильтрация собственной пластинки слизистого слоя стенки желудка; *б* — периваскулярная лимфоидно-лейкоцитарная инфильтрация подслизистого слоя

В группе эксперимента после лечения животных препаратом сравнения метилурацилом в стенке желудка отмечалась васкуляриза-

ция собственной пластинки, в кардиальном отделе — формирование лимфоидных фолликулов в виде очагового скопления лимфоцитов, а в подслизистом слое и мышечной стенке выявлена диффузная лимфоидно-клеточная инфильтрация. Слизистая кардиального отдела желудка представлена многослойным плоским ороговевающим эпителием с переходом на крипты СОЖ с неравномерной складчатостью, в подслизистом слое строма отечная, сосуды полнокровные.

В группе эксперимента при лечении животных экстрактом каперса колючего в слизистом слое отмечена умеренная лимфоидная инфильтрация и васкуляризация подслизистого слоя. В собственной пластинке слизистой выявлялась единичная инфильтрация лимфоцитами. В этой же группе животных в кардиальном отделе желудка после лечения экстрактом каперса колючего также наблюдалась рассеянная лимфоидная инфильтрация СОЖ с участками васкуляризации (рис. 14).



а ***б***

Рис. 14. Состояние слизистой оболочки желудка животных на фоне лечения экстрактом каперса колючего:
а — умеренная лимфоидная инфильтрация и васкуляризация; *б* — фрагмент собственной пластинки с лимфоидной инфильтрацией.

Объект — *феруловидка щетинистая.* На модели острой этаноловой язвы изучали ПА феруловидки щетинистой (*Ferulopsis hystrix (Bunge) Pimenov*). Эксперименты проведены на самцах и самках крыс линии Wistar. Животных разделили на 7 групп: контрольная и шесть опытных (1–7-я). Животные 1-й опытной группы получали отвар *F. hystrix* в объеме 10 мл/кг, приготовленный по общей фармакопейной статье «Настои и отвары». Крысы 2–5-й опытных групп получали сухие экстракты в дозе 200 мг/кг, полученные путем экстракции водой очищенной, 30-, 40- и 70%-ным этиловым спиртом соответственно. Животные 6-й опытной группы получали экстракт, приготовленный двукратной экстракцией

40%-ным этиловым спиртом, 3-ю экстракцию выполняли 30%-ным этиловым спиртом.

Исследуемые лекарственные формы *F. hystrix* вводили животным в/ж в течение 7 суток, последнее введение осуществляли за 1 час до применения ульцерогенного агента. Крысы контрольной группы получали эквивалентное количество очищенной воды по аналогичной схеме.

В табл. 31 представлены результаты оценки противоязвенного действия феруловидки щетинистой.

Таблица 31

Влияние феруловидки щетинистой на выраженность повреждений в слизистой оболочке желудка белых крыс при этаноловом повреждении

Показатель	Группа животных						
	Контроль, n = 10	**Опытная 1-я, n = 10**	**Опытная 2-я, n = 8**	**Опытная 3-я, n = 10**	**Опытная 4-я, n = 10**	**Опытная 5-я, n = 10**	**Опытная 6-я, n = 10**
Общее кол-во повреждений, Me (Q1; Q3)	9 (7; 11)	5 (2; 8) ($p \leq 0,05$)	6 (2; 8) ($p \leq 0,05$)	3 (2; 3) ($p \leq 0,05$)	4,5 (2; 8) ($p \leq 0,05$)	5 (2; 7) ($p \leq 0,05$)	2,5 (0; 4) ($p \leq 0,05$)
Точечные эрозии							
Частота встречаемости, %	100	60	100	80	80	100	70
Кол-во деструкций, Me (Q1; Q3)	4 (3; 5)	3,5 (2; 4)	3,5 (2; 4)	2 (1; 3) ($p \leq 0,05$)	2 (2; 4) ($p \leq 0,05$)	3 (3; 4)	2 (0; 3)
ИП	4,0	1,9	3,3	1,4	2,1	3,4	1,6
Средние эрозии							
Частота встречаемости, %	80	70	75	60	80	80	50
Кол-во деструкций, Me (Q1; Q3)	3 (2; 4)	2,5 (0; 4)	2 (0; 3)	1 (0; 1) ($p \leq 0,05$)	2 (1; 3)	2 (1; 2)	0,5 (0; 1) ($p \leq 0,05$)
ИП	2,4	1,5	1,3	0,6	1,6	1,4	0,4
Крупные эрозии							
Частота встречаемости, %	60	30	25	0	0	0	0
Кол-во деструкций, Me (Q1; Q3)	1 (0; 3)	0 (0; 1)	0 (0; 2) ($p \leq 0,05$)	0	0	0	0
ИП	0,84	0,12	0,125	0	0	0	0

Общее количество эрозий во всех экспериментальных группах было ниже, чем в контрольной группе, различия статистически достоверны. При этом точечные и средние эрозии встречались во всех группах животных, а крупные отсутствовали у животных 3–6-й групп. Крупные эрозии в 1-й и 2-й экспериментальных группах встречались статистически реже, чем в контрольной группе. Таким обра-

зом, все исследуемые извлечения из феруловидки щетинистой проявили ПА, но у спиртовых извлечений она более выражена.

По степени возрастания фармакотерапевтической эффективности лекарственные формы можно расположить в следующем порядке: экстракт *F. hystrix*, приготовленный на воде; экстракт *F. hystrix*, приготовленный на 70%-ном этаноле; отвар *F. hystrix* < экстракт *F. hystrix*, приготовленный на 40%-ном этаноле < экстракт *F. hystrix*, приготовленный на 30%-ном этаноле < экстракт *F. hystrix*, приготовленный на 40%-ном и 30%-ном этаноле.

Объект — *комплексный фитосбор.* На модели острой этаноловой язвы изучали ПА фитосбора, который состоял из комплекса трав: зверобой продырявленный — 4 части (6,0 г), кипрей узколистный — 5 частей (7,5 г), мята перечная — 5 частей (7,5 г), пустырник пятилопастной — 3 части (4,5 г), чага — 3 части (4,5 г). Фитосбор вводили в/ж (в дозе 1 мл на 200 г массы животного) в одной серии опытов однократно сразу после действия ульцерогена, длительность воздействия составляла одни сутки, в 2 других сериях — 7-дневным курсом до и после моделирования острой язвы (табл. 32). Установлено, что разработанный фитосбор обладает выраженной ПА при использовании в течение 7 дней после введения ульцерогена.

Таблица 32

Противоязвенная активность исследуемого фитосбора в условиях однократного и курсового введения до и после воздействия ульцерогена

Условия опыта (количество опытов)	Кол-во мышей с язвами, %	Кол-во изъязвлений на одну мышь, M ± m	ИП	ПА
Контрольная серия опытов (моделирование острой этаноловой язвы, n = 10	100	8,2 ± 1,57	8,6	–
Острая этаноловая язва + однократное введение фитосбора на 1-е сутки после ульцерогена, n = 10	100	7,4 ± 2,01	6,8	1,3
Острая этаноловая язва + введение фитосбора в течение 7 суток после ульцерогена, n = 10	60	2,2 ± 0,43	1,3	6,6
Введение фитосбора в течение 7 суток до ульцерогена + острая этаноловая язва, n = 10	100	2,6 ± 0,38	2,6	3,3

Объект — *кипрей узколистный.* Введение исследуемого водного извлечения травы кипрея узколистного (500 мг/кг), приготовленного в режиме экстракции с обратным холодильником в течение 50 минут (соотношение «сырье : экстрагент» 1 : 10) и препарата сравнения — гранул для приготовления суспензии Плантаглюцид (500 мг/кг) привело к значительному улучшению состояния животных. При макроскопическом исследовании желудков крыс этих групп наблюдали отсутствие вздутия. Складчатость и цвет СОЖ почти не отличались от таких же характеристик в группе интактных животных (рис. 15).

а ***б***

Рис. 15. Макроскопическое исследование желудков крыс:
а — контрольная группа; *б* — экспериментальная группа, где животным вводили извлечение травы кипрея узколистного в дозе 500 мг/кг

Установлено статистически достоверное уменьшение среднего количества язв при введении извлечения (в 2,1 раза) за счет снижения числа точечных деструкций в 6,34 раза, количества крупных поражений — в 1,7 раза относительно аналогичных значений у нелеченых животных (табл. 33). В пользу эффективности изучаемого объекта свидетельствовали отсутствие полосовидных язв и гиперемии.

Введение профилактическим курсом в дозе 500 мг/кг извлечения травы кипрея узколистного приводило к снижению количества мелких язв (менее 1 мм) в 5,26 раза по сравнению с животными, которым применяли препарат Плантаглюцид, однако в данной группе отмечалось меньшее количество крупных язв в 1,21 раза по сравнению с опытной группой.

Гастропротекторное действие изучаемого объекта подтверждено *статистически значимым снижением* числа животных с язвами в опытной группе. Так, в контрольной группе, получавшей предварительно 7-дневным курсом воду дистиллированную, наблюдалось поражение всех крыс, в контроле сравнения было поражено 87,5 % животных, в опытной группе — 75 % (табл. 34).

Таблица 33

Влияние извлечения из травы кипрея узколистного на формирование этанолового поражения слизистой оболочки желудка крыс, M ± m

Группа животных	Количество мелких язв	Количество крупных язв	Количество полосовидных язв	Гиперемия
1-я — контроль отрицательный (дистиллированная вода)	Количество изъязвлений на одно животное 10,25 ± 1,72			Выраженная
	3,75 ± 1,40	2,13 ± 0,83	4,13 ± 1,92	
2-я — контроль сравнения (Плантаглюцид, 500 мг/кг)	Количество изъязвлений на одно животное 6,43±0,98			Отсутствует
	3,29 ± 0,70	3,14 ± 0,83	0	
3-я — опытная (извлечение травы кипрея узколистного, 500 мг/кг)	Количество изъязвлений на одно животное 5,67 ± 2,06*			Отсутствует
	1,33 ± 0,48*	4,83 ± 2,04	0	

Примечание. * Достоверность различий между группами при $p < 0,05$.

Таблица 34

Противоязвенная активность водного извлечения травы кипрея узколистного в условиях профилактического курсового введения, M ± m

Группа животных	Количество животных с язвами, %	ИП	ПА
1-я — контроль отрицательный (дистиллированная вода)	100	10,13	–
2-я — контроль сравнения (Плантаглюцид, 500 мг/кг)	87,5	4,92	2,06
3-я — опытная (извлечение травы кипрея узколистного, 500 мг/кг)	75	4,05	2,31

2.3.2. Язва желудка, индуцированная уксусной кислотой

Ацетатную язву желудка воспроизводят на крысах после депривации пищи в течение суток, под эфирным наркозом, путем введения 0,05 мл 30%-ной уксусной кислоты непосредственно под серозную оболочку органа. Через сутки после операции начинают ежедневное пероральное введение исследуемых веществ в течение 5, 10, 15 и 25 дней.

По завершении срока введения исследуемых препаратов животных выводят из эксперимента путем избыточной наркотизации диэтиловым эфиром. Желудки извлекают, вскрывают по малой кривизне, диаметр язвенного дефекта измеряют с помощью линейки, после чего желудки фиксируют в 10%-ном формалине для дальнейшего гистологического исследования.

Объект — *сбор Гастрофит.* Противоязвенную активность сбора Гастрофит определяли на модели хронической ацетатной язвы. Опыты проводились на белых крысах линии Wistar обоего пола. Крысам опытной группы 1 вводили per os водный раствор Гастрофита в экспериментально-терапевтической дозе 50 мг/кг на протяжении всего эксперимента (42 дня) 1 раз в сутки. Препарат сравнения — гранулы для приготовления суспензии Плантаглюцид — вводили животным опытной группы 2 в/ж в изоэффективной дозе 300 мг/кг по аналогичной схеме в эквивалентном объеме. Крысы контрольной группы получали эквиобъемное количество воды очищенной по аналогичной схеме. Морфофункциональное состояние стенки желудка исследовали на 7-е и 21-е сутки, а также в более отдаленные сроки — через 42 дня. Для проведения патоморфологических исследований материал фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, срезы окрашивали гематоксилином и эозином, азурэозином, по Ван-Гизону, толуидиновым синим и основным коричневым. Темп желудочной секреции, общую кислотность желудочного сока, содержание свободной соляной кислоты определяли по методу Михаэлиса. Ферментообразующую функцию желудка исследовали по В. Т. Туголукову. Для оценки влияния Гастрофита на состояние антиоксидантной системы (АОС) организма и интенсивность процессов ПОЛ в гомогенате желудка определяли активность каталазы и содержание активных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК).

На 7-е сутки после индуцирования ацетатной язвы состояние животных, получавших Гастрофит (опытная группа 1), отличалось от состояния животных контрольной группы: наблюдалось восстановление поведенческой активности и защитной реакции; потеря массы тела составила 11 % против 15 % в контрольной группе. При макроскопическом осмотре желудка у животных на фоне применения Гастрофита наблюдалась менее выраженная отечность слизистой оболочки, сглаженность ее рельефа. Средние размеры язвенных

дефектов в опытной группе 1 составили 31,5 ± 2,12 мм^2, что на 55 % меньше по сравнению с данными у животных контрольной группы. На 21-е сутки введения исследуемого фитосредства гибель животных составила 10 % против 40 % в группе контроля и 30 % в группе животных, получавших препарат сравнения Плантаглюцид. Площадь язвенного дефекта при курсовом введении Гастрофита была на 85 % меньше по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы. На 42-е сутки наблюдения у животных, получавших Гастрофит и Плантаглюцид, площадь язвенного кратера снизилась на 63 и 45 % соответственно по сравнению с данными у крыс контрольной группы.

На фоне курсового введения Гастрофита наблюдалась более ранняя эпителизация дна язвенного дефекта. Так, уже на 21-е сутки эксперимента у животных опытной группы 1 наблюдалось полное очищение дна язвы от фибриноида, начиная с периферии язвы к ее центру. В этой же последовательности происходило «наползание» поверхностного эпителия на дно язвы. Этот вариант эпителизации признается самым оптимальным. К тому же введение крысам Гастрофита сопровождалось более ранним и выраженным созреванием грануляционной ткани. Так, к 21-м суткам эксперимента уменьшалось общее количество сосудистых и клеточных элементов, грануляционная ткань была представлена зрелой фиброзной тканью, проявления фиброза мышечной пластинки у животных опытной группы 1 были менее выражены, чем в контроле. Практически не наблюдалось сосудов с фиброзными изменениями стенок. На 42-е сутки эксперимента у животных, получавших Гастрофит, в 30 % случаев уже наблюдалась полная эпителизация язвы.

Курсовое введение животным Гастрофита в эксперименатально-терапевтической дозе способствовало сохранению секреторной активности желудка. Так, на 7-е сутки развития хронической ацетатной язвы желудка исследуемое фитосредство способствовало ускорению темпа желудочной секреции, повышению общей кислотности за счет свободной HCl соответственно в 1,2; 1,6 и 1,5 раза и содержания пепсина — в 1,3 раза по сравнению с данными у животных контрольной группы.

Начиная с 21-х суток наблюдения с уменьшением числа животных с язвенными поражениями под влиянием Гастрофита отмечается восстановление функциональной активности СОЖ. Так, в среднем

темп желудочной секреции повысился на 18 %, общая кислотность и уровень свободной HCl возросли в 1,5 и 1,2 раза соответственно, увеличилось содержание пепсина на 25 % по сравнению с показаниями у животных в контрольной группе. При наблюдении в более отдаленные сроки (42-е сутки эксперимента) восстанавливались кислото- и ферментообразующие функции желудка. Так, концентрация свободной HCl была выше, чем таковая у животных контрольной группы, а такие показатели, как дебит-час HCl и темп желудочной секреции, достигали значения физиологической нормы. Одновременно в группе животных, которые получали Гастрофит, было отмечено повышение содержания пепсина и дебит-час пепсина в 3,6 и 4,6 раза по сравнению с таковыми у животных контрольной группы.

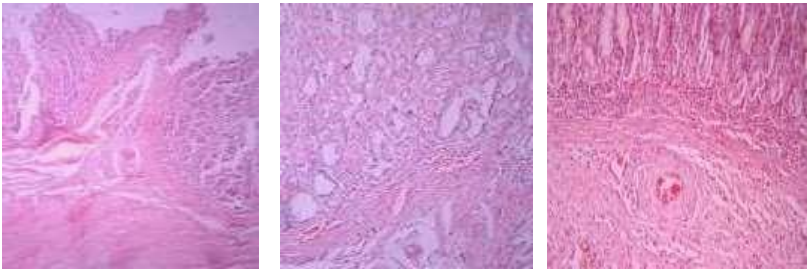
На фоне введения крысам Гастрофита отмечали менее выраженные признаки оксидативного стресса, о чем свидетельствовало достоверное уменьшение концентрации ТБК-активных продуктов и повышение активности каталазы в гомогенате желудка крыс опытной группы 1 по сравнению с аналогичными показателями в контроле. У крыс, получавших Гастрофит, на 7, 21 и 42-е сутки опыта содержание ТБК-активных продуктов в гомогенате желудка снизилось на 25, 40 и 44 % по сравнению с контролем.

Объект — *каперс колючий.* Противоязвенную активность экстракта каперса колючего изучали на модели хронической ацетатной язвы. Эксперимент выполняли на крысах-самках.

Через сутки после операции начинали введение исследуемого соединения и препарата сравнения. Вещества вводили через зонд в/ж один раз в сутки в течение 14 дней. Были сформированы 4 группы: 1-я — контрольная, в которой крысы получали эквиобъемное количество растворителя — воду очищенную. Животные 2-й группы получали препарат сравнения метилурацил в дозе 50 мг/кг. В 3-й группе крысам вводили оксим пиностробина в дозе 150 мг/кг. В 4-й группе использовали экстракт каперса колючего в дозе 250 мг/кг.

После завершения эксперимента на крысах с воспроизведением у них хронической ацетатной язвы ткань желудка забирали на гистологическое исследование с целью проведения сравнительной морфологической характеристики контрольной группы животных после лечения метилурацилом, оксимом пиностробина и экстрактом каперса колючего.

Гистологическое исследование в контрольной группе при хронической ацетатной язве показало, что в кардиальном отделе СОЖ покрыта многослойным ороговевающим эпителием, в зоне перехода слизистой выявляются участки дефекта с десквамацией ее поверхностных слоев. При этом в криптах наблюдалась рассеянная единичными лимфоцитами инфильтрация. Гистологическое исследование слизистой при хронической ацетатной язве из зоны малой кривизны желудка показало сохранение участков язвенного дефекта слизистой. Следует отметить, что с краев язвенного дефекта происходило наползание регенерирующего эпителия слизистой. В подслизистом слое наблюдалось образование и созревание грануляционной ткани, которая была представлена новообразующими сосудами, среди которых встречались сосуды с периваскулярным склерозом (рис. 16).



а ***б*** ***в***

Рис. 16. Результаты гистологического исследования в группе контроля: *а* — малая кривизна желудка с участками дефекта слизистой, с краев язвы отмечается регенерация эпителия; *б* — образование грануляционной ткани в подслизистом слое, железы расширены; *в* — созревание грануляционной ткани со склерозированными сосудами и лимфоидно-макрофагальной инфильтрацией

В экспериментальной группе после лечения метилурацилом сохранялся язвенный дефект, где отмечалась регенерация эпителия с краев и формирование грануляционной ткани в подслизистом слое. В строме слизистой отмечался умеренный отек и лимфоидно-клеточная инфильтрация, полнокровие сосудов. После лечения метилурацилом в кардиальном отделе сохранялась зона язвенного дефекта и лимфоидная инфильтрация, полнокровие сосудов и очаги кровоизлияний. В подслизистом слое на фоне формирования грануляционной ткани отмечен фибриноидный некроз сосудистой стенки в виде однородной безъядерной структуры розового цвета.

В группе эксперимента с хронической ацетатной язвой после лечения животных экстрактом каперса колючего при гистологическом исследовании в слизистом слое кардиального отдела желудка отмечалась васкуляризация стромы, полнокровие сосудов. При этом в подслизистом слое наблюдалось созревание грануляционной ткани, представленное клубками сосудов, среди них хорошо прослеживались крупные склерозированные сосуды, в строме — рассеянная лимфоидная инфильтрация и полнокровие капилляров собственной пластинки слизистой (рис. 17).

а ***б*** ***в***

Рис. 17. Результаты гистологического исследования при лечении экстрактом каперса колючего:
а — в слизистом слое васкуляризация и полнокровие сосудов; *б* — слизистая желудка интактной крысы, крипты равномерной высоты, железы расположены равномерно; *в* — после лечения хронической язвы экстрактом каперса колючего — формирование неравномерно распределенных и кистозно расширенных желез

2.3.3. Язва желудка, индуцированная нестероидными противовоспалительными препаратами

Индометациновая модель язвы. ***Вариант 1.*** Для моделирования острой язвы желудка животным вводят исследуемый препарат натощак в/ж в дозе 100 мг/кг в водно-твиновой смеси или воде очищенной. Животные контрольной группы получают растворитель в/ж. Через час животным вводят субстанцию индометацина в дозе 25 мг/кг per os. Через сутки после введения ульцерогенного агента животных подвергают эвтаназии под эфирным наркозом. Желудки извлекают, вскрывают по малой кривизне, оценивают общее состояние СОЖ и подсчитывают количество язвенных дефектов.

Оценку ПА проводят по критериям, представленным в 2.3.1.

Вариант 2. Модель индометацинового повреждения воспроизводят на крысах путем однократного в/ж введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл физиологического раствора, по окончании курсового назначения исследуемых субстанций. Животных из эксперимента выводят через 6 часов после введения индометацина. Во всех экспериментах последнее применение лекарственных форм происходит за 1 час до язвообразующего воздействия.

Оценку ПА проводят по критериям, представленным в 2.3.1.

Вариант 3. Индометациновое эрозивно-геморрагическое поражение слизистой оболочки желудка вызывают до и (или) после курсового введения исследуемых препаратов, путем однократного в/ж введения индометацина в дозе 35 мг/кг per os крысам линии Wistar. Примерный план экспериментальных групп животных представлен в табл. 35.

Таблица 35

План экспериментальных групп

Группа животных	Условия эксперимента
1-я — интактная	Здоровые животные
2-я — контроль	Моделирование индометацинового эрозивно-язвенного повреждения
3-я	Индометациновое повреждение + последующее введение исследуемого препарата в течение 2 дней
4-я	Индометациновое повреждение + последующее введение препарата сравнения в течение 2 дней
5-я	Предварительное введение водного исследуемого препарата в течение 7 дней + индометациновое повреждение
6-я	Предварительное введение препарата сравнения в течение 7 дней + индометациновое повреждение

Оценку ПА осуществляют по критериям, представленным в 2.3.1.

Существует ряд других модификаций модели индометациновой язвы, которые позволяют оценить противоязвенный эффект как при профилактическом введении исследуемых препаратов, так и при лечении эрозивно-язвенных повреждений.

Аспириновая модель язвы. Субхроническое повреждение СОЖ вызывают путем введения крысам кислоты ацетилсалициловой в дозе 128 мг/кг натощак в/ж в течение дня дважды с интервалом в 4 часа. Через 24 часа после повторного использования ульцерогена оценивают выраженность процесса язвообразования.

Повреждение слизистой оболочки желудка, вызванное диклофенаком. Диклофенаковое поражение желудка вызывают у животных одноразовым интрагастральным введением диклофенака в дозе 50 мг/кг после 24-часовой пищевой депривации. Исследуемый препарат вводят в/ж ежедневно однократно, начиная за 3, 4, 7 дней до моделирования патологии и заканчивая в день воспроизведения язвы (последнее введение — через час после применения диклофенака). Через 24 часа после того, как животные получили диклофенак, их выводят из эксперимента. Оценку ПА осуществляют по критериям, описанным в 2.3.1.

Бутадионовая модель язвы. Язвенное поражение слизистой желудка крыс воспроизводят внутрибрюшинным введением бутадиона в дозе 100 мг/кг 1 раз в сутки в течение 3 дней подряд. С 4-го дня опытным группам в/ж вводят исследуемые препараты 1 раз в сутки в течение 10 дней. Эвтаназию опытных и контрольных животных проводят на 7, 14 и 21-е сутки с начала введения исследуемых препаратов в CO_2-камере. После вскрытия животных измеряют площадь язвенных дефектов в мм^2, а также вычисляют индекс противоязвенного действия исследуемого экстракта и референтных препаратов.

Оценку фармакотерапевтической эффективности экстракта проводят по окончании экспериментов по критериям, описанным в 2.3.1.

Объект — *Эритрофит.* Моделирование язвенных дефектов индометацином производили в течение 5 дней. Животным в/ж вводили индометацин в дозе 5 мг/кг; до и после введения препарата животных лишали пищи и воды в течение 3–4 часов. Исследования проводили через 5 суток от начала эксперимента.

Эритрофит давали в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг в экспериментальной терапевтической дозе 50 мг/кг в/ж в течение 5 дней (1 раз в сутки). Животные контрольной группы получали эквиобъемное количество воды очищенной по аналогичной схеме.

В состав Эритрофита (условное название) входят сухие экстракты, полученные из листьев крапивы двудомной (*Urtica dioica L.*), травы горца птичьего (*Polygonum aviculare L.*), надземной части тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium L.*), мелкоизмельченных порошков имбиря и корицы.

При вскрытии животных оценивали состояние СОЖ, определяли характер ее повреждений. Для каждого вида повреждений СОЖ рассчитывали ИП. Кроме того, определяли индекс поражения

по методу E. Komlos, L. Petocs, который позволяет характеризовать патологический процесс не только по количеству деструкций, но и по степени их различий.

Эритрофит при курсовом введении животным с индометациновым повреждением желудка предупреждал возникновение деструктивных изменений СОЖ: в 1,5 раза уменьшал число животных с точечными кровоизлияниями на слизистой желудка, снижал ИП на 35 % по сравнению с показателями у животных контрольной группы. Характерной особенностью является то, что Эритрофит уменьшал количество язвенных поражений СОЖ средних и крупных размеров (табл. 36).

Таблица 36

Влияние препарата Эритрофит на возникновение деструктивных изменений слизистой оболочки желудка

Показатели	Группы животных	
	Контроль (индометацин + H_2O)	Опыт (индометацин + Эритрофит)
Животные с точечными кровоизлияниями, %	100	66
Число точечных кровоизлияний на 1 животное	5,5 ± 0,6	4,0 ± 0,4*
ИП для точечных кровоизлияний	5,5	3,6
Животные с эрозиями, %	83	66
Число эрозий на 1 животное	4,3 ± 0,3	4,0 ± 0,3
ИП для эрозий	4,8	2,8
Животные с полосовидными язвами, %	100	83
Число полосовидных язв на 1 животное	5,0 ± 0,3	1,8 ± 0,1*
ИП для полосовидных язв	5,0	2,7
Животные с деструкциями до 2 мм, %	83	83
Число деструкций диаметром до 2 мм на 1 животное	5,3 ± 0,3	5,0 ± 0,3
Язвенный индекс по Komlos	0,83	0,83
Животные с деструкциями диаметром от 2 до 5 мм, %	83	66
Число деструкций на 1 животное с диаметром от 2 до 5 мм	2,8 ± 0,1	1,5 ± 0,08*
Язвенный индекс по Komlos	4,1	3,3
Животные с деструкциями диаметром более 5 мм, %	83	55
Число деструкций на 1 животное с диаметром более 5 мм	2,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1*
Язвенный индекс по Komlos	8,3	5,4

Примечание. * Достоверность различий между группами при $p < 0,05$.

Объект — *Вентрофит.* Противоязвенную активность комплексного растительного средства Вентрофит оценивали на модели индометациновой язвы. В состав Вентрофита входят: сухой экстракт из соцветий календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*) — 25 ч; сухой экстракт из листьев подорожника большого (*Plantago major L.*) — 10 ч; сухой экстракт из травы сушеницы топяной (*Gnaphalium uliginosum L.s.l.*) — 5 ч; сухой экстракт из корней солодки (*Glycyrrhiza glabra L.*) — 10 ч; сухой экстракт из корней девясила (*Inula helenium L.*) — 5 ч; сухой экстракт из плодов боярышника (*Crataegus L.*) — 15 ч; сухой экстракт из плодов шиповника (*Rosa L.*) — 20 ч; сухой экстракт из плодов облепихи (*Hippophae rhamnoides L.*) — 5 ч; мелкоизмельченный порошок плодов кориандра (*Coriandrum sativum L.*) — 5 ч. Эксперименты проведены на крысах линии Wistar обоего пола. Модель острой язвы у животных воспроизводили однократным интрагастральным введением индометацина в дозе 25 мг/кг после 24-часовой пищевой депривации. Крысам 1-й опытной группы в/ж вводили водный раствор Вентрофита в дозе 50 мг/кг в объеме 10 мл/кг профилактически в течение 5 дней (1 раз в сутки) до применения ульцерогенного агента. Последнее введение исследуемого препарата осуществляли через 3 часа после применения ульцерогена. В качестве препарата сравнения использовали Плантаглюцид в дозе 300 мг/кг. Крысы контрольной группы получали эквиобъемное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Через 24 часа после введения индометацина проводили оценку гастропротективного действия испытуемого средства. Для этого определяли деструкции СОЖ, которые подразделяли на точечные кровоизлияния, эрозии и полосовидные язвы (табл. 37). Для проведения патоморфологических исследований материал фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, срезы окрашивали гематоксилином и эозином, азур-эозином, по Ван-Гизону, толуидиновым синим и основным коричневым. На препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, с помощью компьютерной программы Motic Images 2000 определяли толщину слизистой оболочки и глубину эрозии. Для оценки влияния Вентрофита на состояние АОС организма и интенсивность процессов ПОЛ в крови определяли активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД), содержание восстановленного глутатиона (ВГ) и ТБК-активных продуктов (табл. 38).

Таблица 37

Влияние Вентрофита на выраженность повреждений слизистой оболочки желудка у белых крыс при остром индометациновом повреждении

Группа животных	ИП		
	Точечные кровоизлияния	Эрозии	Полосовидные язвы
Контроль (индометацин + H_2O), n = 10	10,7	2,7	3,7
Опытная 1 (индометацин + Вентрофит), n = 9	3,8*	0,31	0,5*
Опытная 2 (индометацин + Плантаглюцид), n = 8	5,8*	0,52	1,07*

Примечание. * Различия значимы по сравнению с показателями у животных контрольной группы при $p \leq 0,05$.

Таблица 38

Влияние Вентрофита на показатели перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы белых крыс при остром индометациновом повреждении

Группа животных	Показатели			
	Содержание		Активность	
	ТБК-активные продукты, нмоль/мл	ВГ, мкмоль/мл	СОД, мкмоль/мл	каталаза, мкат/л
Интактная, n = 8	4,9 ± 0,22	354,2 ± 25,81	21,1 ± 1,00	12,5 ± 0,71
Контроль (индометацин + вода), n = 10	8,7 ± 0,35	248,8 ± 11,03	4,7 ± 0,52	7,0 ± 0,52
Опытная группа 1 (индометацин + Вентрофит), n = 9	5,5 ± 0,20*	340,6 ± 18,55*	11,0 ± 0,82*	10,9 ± 0,15*
Опытная группа 2 (индометацин + Плантаглюцид), n = 8	6,3 ± 0,19*	295,0 ± 12,11*	9,3 ± 0,56*	9,3 ± 0,27*

Примечание. * Различия значимы по сравнению с показателями у животных контрольной группы при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований показали, что через 24 часа после инъекции индометацина у всех животных контрольной группы наблюдалась выраженная гиперемия слизистой оболочки, а также наличие разного рода деструкций в виде точечных кровоизлияний,

эрозий и полосовидных язв, ИП для которых составил 10,7; 2,7 и 3,7 соответственно (табл. 37). При патоморфологическом исследовании в СОЖ животных контрольной группы на фоне выраженных дистрофических изменений выявлялось значительное количество поверхностных и глубоких эрозий. Поверхностные эрозии характеризовались некрозом и отторжением поверхностного эпителия, глубокие эрозии проникали в собственную пластинку СОЖ. Дно таких эрозий было некротизировано, пропитано фибрином и инфильтрировано полиморфно-ядерными лейкоцитами.

Морфометрический анализ микропрепаратов животных контрольной группы показал, что глубина таких эрозий в среднем была равна 0,54 ± 0,034 мм, что составляло 87 % от толщины СОЖ (0,62 ± 0,023). Окружающие эрозии покровно-ямочный и железистый эпителии были подвержены дистрофическим процессам: вакуолизации цитоплазмы клеток, пикнозу ядер, расширению просвета желез. Отмечали нарушения микроциркуляции в виде диапедезных кровоизлияний и стаза эритроцитов в капиллярах, а также диффузную инфильтрацию СОЖ полиморфноядерными лейкоцитами, лимфоцитами и плазмоцитами. На фоне курсового введения Вентрофита структурные изменения в СОЖ носили поверхностный характер и затрагивали в основном поверхностно-ямочный эпителий и апикальный слой собственной пластинки. Отмечали локальную воспалительную инфильтрацию СОЖ. Результаты морфометрических исследований показали, что на фоне введения Вентрофита репаративные процессы доминировали над дегенеративными. Так, средняя глубина эрозий была на 78 % меньше такового показателя у животных контрольной группы. Введение Плантаглюцида оказывало менее выраженное гастропротективное действие. Так, эрозии проникали в собственную пластинку слизистой желудка на $^{1}/_{3}$ и их средний размер составлял 0,20 ± 0,02 мм.

Данные, представленные в табл. 37, свидетельствуют, что превентивное курсовое введение Вентрофита в дозе 50 мг/кг оказывает выраженное гастропротективное действие. Так, ИП для точечных кровоизлияний, эрозий и полосовидных язв у крыс, получавших Вентрофит, был в 2,0; 8,7 в 7,4 раза меньше такового у животных контрольной группы.

Как следует из данных, приведенных в табл. 38, однократное введение токсической дозы индометацина сопровождалось индукци-

ей процессов ПОЛ и снижением мощности системы антиоксидантной защиты организма, о чем свидетельствуют повышение содержания ТБК-активных продуктов в 2 раза, снижение уровня ВГ в 1,4 раза, а также уменьшение активности ключевых ферментов антиокислительной системы — каталазы и СОД соответственно на 44 и 78 % по сравнению с таковыми показателями у интактных животных.

Установлено, что курсовое профилактическое введение Вентрофита на фоне острого индометацинового повреждения желудка оказывало выраженное антиоксидантное действие, о чем свидетельствовало уменьшение концентрации МДА в сыворотке крови на 36 %, повышение активности СОД и каталазы в 2,0 и 1,5 раза соответственно, а также содержание ВГ — на 37 % по сравнению с аналогичными показателями у крыс контрольной группы. Таким образом, профилактическое введение белым крысам Вентрофита в экспериментально-терапевтической дозе на фоне острого индометацинового повреждения оказывает выраженное фармакотерапевтическое действие: снижает выраженность дистрофических и некротических процессов в покровно-ямочном и железистом эпителии, а также препятствует развитию воспалительных процессов в стенке желудка. Молекулярно-клеточным механизмом гастропротективного действия Вентрофита является ингибирование процессов свободно-радикального окисления, повышение потенциала эндогенной АОС организма.

Объекты — *ольха серая, ольха черная.* ПА ольхи серой и ольхи черной оценивали на модели индометациновой язвы. В первый день эксперимента животным 2–5-й групп натощак в 8 утра вводили *per os* индометацин в дозе 35 мг/кг после 24-часовой пищевой депривации. Препаратом сравнения было растительное средство Бефунгин, содержащее экстракт чаги. Через 3 и 6 часов после того, как животные групп 3 и 4 получали ульцероген, им вводили интрагастрально по 3 мл отвара из листьев ольхи черной и серой соответственно, животным группы 4 — дважды вводили Бефунгин в дозе 0,3 мл/кг. На 2-е сутки животные из 3, 4 и 5-й групп дважды в 8.00 и 12.00 получали соответствующие лекарственные средства, затем в 15.00 выводились из эксперимента под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг).

Животные из групп 6 и 7 получали отвар листьев ольхи черной и серой соответственно по 3 мл 1 раз в день в течение 7 дней до введения ульцерогена. Группе 8 вводили Бефунгин в дозе 0,3 мл/кг 1 раз в день в течение 7 дней. На 8-й день животным групп 5–7

натощак в 8 утра вводили per os индометацин в дозе 35 мг/кг после 24-часовой пищевой депривации. На 9-й день в 15.00 животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг).

Результаты оценки ПА водных извлечений из листьев ольхи черной и серой при эрозивно-геморрагическом поражении желудка индометацином представлены в табл. 39 и 40.

Таблица 39

Противоязвенная активность водных извлечений листьев ольхи черной и серой при введении после воздействия ульцерогена

Группа животных	Количество изъязвлений на одно животное в группе, Me (25%; 75%)	ИП	ПА
1-я — интактная	–	–	–
2-я — контроль	15 [13; 15]	14,17	–
3-я	6 [5; 6]*	5,33	2,65
4-я	5,5 [5;6]*	5,67	2,5
5-я	6,5 [6; 7]*	6,67	2,13

Примечание. * Статистически значимо отличаются ($p \leq 0,05$) от контрольной группы.

Таблица 40

Противоязвенная активность водных извлечений листьев ольхи черной и серой в условиях введения до воздействия ульцерогена

Группа животных	Количество изъязвлений на одно животное в группе, Me (25%; 75%)	ИП	ПА
2-я — контроль, модель патологии	15 [13;15]	14,17	
6-я	5 [5; 6]*	5,17	2,74
7-я	7,5 [7; 8]*	7,00	2,02
8-я	9,5 [8; 10]*	9,33	1,52

Примечание. * Статистически значимо отличаются ($p \leq 0,05$) от контрольной группы.

Из табл. 39 и 40 видно, что количество изъязвлений во всех экспериментальных группах значительно ниже, чем в группе контрольной патологии, данные различия статистически значимы ($p \leq 0,05$). Значение индекса ПА у всех групп животных, получавших отвары листьев ольхи черной и серой, было более 2 единиц, что подтверждает наличие у растительных извлечений ПА.

Объект — *противоязвенный комплексный растительный препарат.* Противоязвенную активность изучали на модели аспири-

новой язвы желудка. Объектом исследований служил экстракт сухой, полученный из следующих видов растительного сырья: листья подорожника большого (*Plantago major L.*) — 187,5 г, трава сушеницы болотной (*Gnaphalium uliginosum L.*) — 187,5 г, корневища и корни девясила высокого (*Inula helenium L.*) — 187,5 г, цветки ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla L.*) — 125 г, корни солодки голой (*Glycyrrhiza glabra L.*) — 125 г, трава горца птичьего (*Polygonum aviculare L.*) — 62,5 г, листья крапивы двудомной (*Urtica dioica L.*) — 62,5 г, плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia L.*) — 62,5 г. Модель экспериментальной ацетилсалициловой язвы крыс создавали введением контрольным и опытным животным per os ацетилсалициловой кислоты в дозе 150 мг/кг 1 раз в сутки в течение 3 дней.

Ацетилсалициловая кислота в использованной дозе раздражает СОЖ, вызывает преждевременное слущивание эпителия с возникновением эрозий, геморрагических язв. На фоне введения комплексного растительного препарата наблюдали менее выраженные повреждения слизистой желудка по сравнению с данными опытных групп 2 и 3. В опытной группе 1 индекс ПА при введении экстракта составил 4,5, а у референтных средств Бефунгина и Ранитидина — 2,4 и 2,3 соответственно. На фоне введения экстракта язвы обнаруживали лишь у 67 % животных, а в контроле — в 100 % случаев. Введение экстракта крысам сопровождалось повышением резистентности СОЖ, ограничением факторов агрессии благодаря содержащимся в нем биологически активным веществам, прежде всего флавоноидам, слизи, дубильным и другим природным соединениям (табл. 41).

Таблица 41

Влияние экстракта на течение ацетилсалициловой язвы желудка у белых крыс, M ± m

Группа животных	Кол-во крыс с язвами, %	Среднее количество язв			Кол-во язв на 1 крысу	Среднее кол-во эрозий	ИП/ПА
		крупные	полосовидные	точечные			
1-я — интактная	0	0	0	0	0	0	0
2-я — контроль	100	1,0 ± 0,05	5,5 ± 0,90	8,7 ± 0,13	15,2 ± 2,20	7,3 ± 0,70	15,2/0
3-я — экстракт, 150 мг/кг	67	0,2 ± 0,02*	1,9 ± 0,20*	3,0 ± 0,50*	5,1 ± 0,90*	3,0 ± 0,20*	3,4/4,5

Окончание табл. 41

Группа животных	Кол-во крыс с язвами, %	Среднее количество язв			Кол-во язв на 1 крысу	Среднее кол-во эрозий	ИП/ПА
		крупные	полосовидные	точечные			
4-я — Бефунгин, 0,3 мл/кг	83	0,4 ± 0,02*	2,9 ± 0,60*	4,3 ± 0,10*	7,6 ± 1,20*	4,0 ± 0,20*	6,3/2,4
5-я — Ранитидин, 50 мг/кг	83	0,4 ± 0,03*	2,8 ± 0,40*	4,7 ± 0,90*	7,9 ± 1,40*	3,8 ± 0,30*	6,6/2,3

Примечание. * Различия по сравнению с контролем значимы при $p < 0,05$.

Объект — *ива корзиночная.* На модели аспириновой язвы изучали комплексные извлечения из листьев ивы корзиночной (*Salix viminalis L.*) — сгущенный экстракт спиртовой и водный настой, приготовленные согласно требованиям Государственной фармакопеи XI издания. Для исследования использовали дозы извлечений из листьев ивы, которые определили в результате проведения скрининговых экспериментов. Настой (5 мл/кг) и экстракт (1 мл/кг) исследуемого растения, препарат сравнения (Плантаглюцид — 250 мг/кг), воду очищенную (в контрольной группе) вводили животным per os профилактическим курсом ежедневно однократно в течение 5 дней. Последнее введение препаратов выполняли за 1 час до ульцерогенного воздействия на животных. Через 24 часа после повторного использования ульцерогена оценивали выраженность процесса язвообразования (табл. 42).

Таблица 42

Влияние извлечений из листьев ивы корзиночной на формирование аспиринового язвообразования, x ± m

Группа животных	Гиперемия СОЖ, баллы	Количество язв на СОЖ		
		мелкие	крупные	полосовидные
1-я — контроль	2,3 ± 0,2	30,1 ± 3,0	2,0 ± 0,3	1,0 ± 0,2
2-я — Плантаглюцид, 250 мг/кг	1,9 ± 0,3	15,0 ± 2,1*	1,4 ± 0,5	0,4 ± 0,1*
3-я — экстракт, 1 мл/кг	1,1 ± 0,2*	12,7 ± 1,7*	0*	0*
4-я — настой, 5 мл/кг	0,8 ± 0,1*	8,0 ± 1,5*	0*	0*

Примечание. * Различия достоверны в сравнении с контролем при $p < 0,05$.

Объект — *грецкий орех.* ПА водно-спиртового (экстрагент — спирт этиловый 30 %) густого экстракта (далее ЭГВС) из незрелых

плодов ореха грецкого изучали на модели диклофенакиндуцированной язвы.

Диклофенаковое поражение желудка вызывали у белых нелинейных крыс одноразовым интрагастральным введением диклофенака в дозе 50 мг/кг после 24-часовой пищевой депривации. Исследуемый ЭГВС в дозе 25 мг/кг вводили в/ж ежедневно однократно, начиная за 3 дня до моделирования патологии и заканчивая в день воспроизведения язвы (последнее введение — через час после введения диклофенака). Препарат сравнения — альтан — применяли в дозе 1 мг/кг и вводили в аналогичном режиме.

Через 24 часа животных выводили из эксперимента, забирали желудки и проводили их макроскопическое изучение.

Результаты макроскопического изучения желудков животных в группе модельной патологии свидетельствуют об образовании в СОЖ значительных по размеру язв, которые отличались по форме, глубине, а также сопровождались другими нарушениями СОЖ (у некоторых крыс): гиперемией, отеком, точечными кровоизлияниями. Средняя степень тяжести язв в данной группе составила 4,17 ± 0,48 балла, а ИП соответственно равнялся 4,17, так как язвы были найдены у 100 % животных. Животные этой группы имели «негативный» пищевой рефлекс, лежали в клетках в нефизиологичной позе, были неподвижны, не употребляли воду (табл. 43).

Таблица 43

Показатели макроскопического изучения экстракта густого водно-спиртового незрелых плодов ореха грецкого и альтана в лечебно-профилактическом режиме введения на модели язвы желудка, вызванной диклофенаком

Группа животных. n = 6	Количество животных с язвами в группе, %	Средняя степень тяжести язв, M ± m	ИП	ПА, %
1-я — интактный контроль	–	–	–	–
2-я — модельная патология	100	4,17 ± 0,48	4,17	–
3-я — ЭГВС, 25 мг/кг	83,33	1,17 ± 0,31*	0,97	76,67
4-я — альтан, 1 мг/кг	100	1,83 ± 0,17*	1,83	56,00

Примечание. * Различия, статистически значимые в отношении группы модельной патологии на уровне значимости ($p > 0,05$ по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони (Bonferroni test) при множественных сравнениях; для относительных показателей — по двустороннему точному критерию Фишера (Fisher exact)).

Полученные результаты макроскопического изучения ЭГВС в дозе 25 мг/кг в этой серии опытов подтверждены биохимическими показателями сыворотки крови крыс (табл. 44).

Таблица 44

Влияние экстракта густого водно-спиртового незрелых плодов ореха грецкого на биохимические показатели в лечебно-профилактическом режиме введения на модели острой язвы желудка крыс, вызванной диклофенаком, M ± m

Биохимические показатели	Группы животных, n = 6			
	1-я — интактный контроль	2-я — модельная патология	3-я — ЭГВС, 25 мг/кг	4-я — альтан, 1 мг/кг
Общий белок, г/л	78,33 ± 1,95	56,25 ± 1,25*	70,33 ± 1,41**/***	65,42 ± 0,78**
АсАТ, ммоль/л·ч	0,52 ± 0,01	1,06 ± 0,06*	0,73 ± 0,03**/***	0,89 ± 0,03**
АлАТ, ммоль/л·ч	0,53 ± 0,02	1,05 ± 0,05*	0,84 ± 0,04 **/***	0,96 ± 0,04**
Общая α-амилаза, Ед/л	505,25 ± 6,84	613,03 ± 4,85*	515,18 ± 7,57**/***	560,01 ± 4,70**
Креатинин, мкмоль/л	60,22 ± 1,65	69,83 ± 0,77*	60,37 ± 1,09**/***	64,80 ± 1,17**
Билирубин, ммоль/л	8,49 ± 0,41	24,74 ± 0,92*	11,79 ± 0,66**/***	24,18 ± 0,95
Мочевина, ммоль/л	6,75 ± 0,24	13,08 ± 0,75*	6,22 ± 0,23**	6,42 ± 0,21**
Глюкоза, ммоль/л	5,72 ± 0,25	4,61 ± 0,19*	5,38 ± 0,27**	5,53 ± 0,19**
ЩФ, Ед/л	205,59 ± 6,55	406,37 ± 6,02*	279,99 ± 5,29**/***	365,39 ± 6,73**
ГГТ, Ед/л	9,07 ± 0,08	15,06 ± 0,38*	9,26 ± 0,29**/***	10,54 ± 0,45**

Примечания. * Различия, статистически значимые в отношении группы интактного контроля на уровне значимости $p < 0,05$ (по t-критерию Стьюдента). ** Различия статистически значимы в отношении группы модельной патологии на уровне значимости $p < 0,05$ (по t-критерию Стьюдента). *** Различия статистически значимы в отношении группы, получавшей альтан, на уровне значимости $p < 0,05$ (по t-критерию Стьюдента).

Объект — *Экорсин форте*. На модели индометацинового ульцерогенеза изучали ПА капсул Экорсин форте, содержащих экстракт коры осины сухой 0,35 г, и таблеток Экорсин, содержащих 0,25 г экстракта коры осины сухого.

До индукции ульцерогенеза капсулированную (в дозах 100 и 200 мг/кг) и таблетированную (в дозе 50 мг/кг) формы применяли курсом в/ж 1 раз в день в течение 4 дней. Животные контрольных групп получали эквиобъемные (0,5 мл) количества растворителя — дистиллированной воды в аналогичном режиме. На 4-й день через час после введения исследуемых препаратов животным давали индометацин в дозе 60 мг/кг в 1 мл физиологического раствора. Через 6 часов после этого животных выводили из эксперимента ингаляцией CO_2. Степень и тяжесть изъязвления СОЖ характеризовали на основании расчетов суммарной площади всех повреждений СОЖ (в $мм^2$) у каждого животного и по процентному уменьшению тяжести повреждения у опытных животных по отношению к этому показателю в контроле.

Капсулированная смесь экстракта коры осины, вводимая профилактическим курсом в дозах 50 и 100 мг/кг, ограничивала образование всех видов язвенных деструкций после воздействия индометацина у крыс. Так, использование субстанции приводило к статистически достоверному снижению после дозы 50 мг/кг числа точечных (в 1,9 раза) и крупных (в 2,2 раза) поражений, а после дозы 100 мг/кг: крупных — в 1,8 раза, полосовидных — в 1,4 раза относительно нелеченых животных. В результате этого среднее количество деструкций при дозе 50 мг/кг уменьшилось в 1,6 раза, а при дозе 100 мг/кг — в 1,4 раза (табл. 45). При введении капсулированной смеси отмечалось значимое снижение площади язвенных поражений (табл. 46). Выявленные позитивные изменения нашли отражение в уменьшении степени поражения при дозе 50 мг/кг в 1,5 раза и при дозе 100 мг/кг — в 1,6 раза, снижении тяжести поражения до 64,8 и 60,7 % соответственно (против 100 % контрольной группы). При анализе эффективности таблетированной смеси Экорсин в дозе 100 мг/кг отмечено, что ее курсовое применение приводило к значительному снижению количества крупных дефектов (в 1,7 раза), точечных деструкций (в 1,5 раза) и среднего числа язв (в 1,4 раза) относительно контроля (табл. 45). Кроме того, антиульцерогенный эффект проявлялся в достоверном уменьшении таких показателей язвенного процесса, как площадь крупных дефектов (1,5 раза) и точечных язв (в 1,5 раза). В результате тяжесть поражения здесь составила 80,5 % против 100 % контрольной группы (табл. 46).

Таблица 45

Влияние экстракта коры осины на развитие индометацинового язвообразования в желудке у крыс

Группа животных	n	Число животных с изъязвлениями, %	Количество язв на одну крысу, M ± m			
			полосовидных	крупных	точечных	среднее число
1-я — контроль	10	100	8,50 ± 0,75	4,30 ± 0,34	18,50 ± 2,86	31,30 ± 3,10
2-я — таблетки, 100 мг/кг	10	100	8,10 ± 1,10	2,50 ± 0,50*	12,40 ± 2,43*	23,00 ± 2,77*
3-я — капсулы, 50 мг/кг	10	100	7,40 ± 1,26	2,00 ± 0,33*	9,80 ± 1,67*	19,20 ± 2,63*
4-я — капсулы, 100 мг/кг	9	100	6,00 ± 0,73*	2,33 ± 0,33*	14,11 ± 2,29	22,44 ± 3,13*

Примечание. * Разница с контролем статистически значима ($p \leq 0,05$).

Таблица 46

Влияние таблетированной и капсулированной формы экстракта коры осины на индометациновое язвообразования в желудке у крыс, M ± m

Группа животных	n	Площадь язв, мм^2			Степень изъязвления, мм^2	Тяжесть изъязвления, %
		крупных	полосовидных	точечных		
1-я — контроль	10	14,20 ± 1,47	23,76 ± 3,26	14,47 ± 2,24	52,43 ± 4,51	100
2-я — таблетки, 100 мг/кг	10	9,30 ± 2,10*	23,15 ± 4,30	9,75 ± 1,91*	42,19 ± 4,70	85,5
3-я — капсулы, 50 мг/кг	10	7,42 ± 1,58*	18,84 ± 3,40	7,69 ± 1,31*	33,95 ± 4,50*	64,8
4-я — капсулы, 100 мг/кг	9	7,46 ± 1,20*	13,31 ± 3,51*	11,08 ± 1,80	31,84 ± 5,13*	60,7

Примечание. * Разница с контролем статистически значима ($p \leq 0,05$).

2.3.4. Модель стресс-язвы

Вариант 1. Стрессовые язвы у мышей вызывают подвешиванием их за шейную кожную складку на 24 часа, а затем оценивают влияние лекарственных средств с вычислением ПА.

Вариант 2. Для моделирования язв нейрогенного генеза животных подвергают длительной (в течение 22 часов) иммобилизации. Оценивают влияние исследуемых препаратов на процессы

язвообразования в условиях острой тканевой гипоксии, которую вызывают внутрибрюшинной инъекцией мышам раствора натрия нитропруссида в дозе 25 мг/кг.

Объект — *ива корзиночная.* Комплексные извлечения из листьев ивы корзиночной (сгущенный экстракт спиртовой и водный настой, приготовленные согласно требованиям Государственной фармакопеи XI издания) изучали на модели стресс-язвы (вариант 2). В качестве препарата сравнения использовали гранулы для приготовления суспензии Плантаглюцид.

В результате психоэмоциональной перегрузки у животных, не получавших противоязвенную терапию, развиваются многочисленные геморрагические и эрозивные деструкции на слизистой оболочке желудка. Количество язвенных повреждений у мышей после введения настоя и экстракта ивы оказалось соответственно в 3,2 и 4,6 раза меньше, чем в группе контроля. Наличие ПА у исследуемых вытяжек в условиях деструктивного влияния различных стрессогенных факторов свидетельствует, что данные растительные средства способны адекватно вмешиваться во все звенья патогенеза язвообразования. Так, гастрозащитная активность извлечений из ивы может быть реализована за счет нормализации деятельности ЦНС, в частности гипоталамо-лимбико-ретикулярных структур, чрезмерное и длительное возбуждение которых часто является определяющим при формировании нарушений язвенно-геморрагического характера на СОЖ (табл. 47).

Таблица 47

Влияние извлечений из листьев ивы корзиночной на формирование стрессового язвообразования, x ± m

Группа животных	Иммобилизация		Тканевая гипоксия		Болевой стресс	
	степень изъязвления СОЖ	*n*, %	степень изъязвления СОЖ	*n*, %	степень изъязвления СОЖ	*n*, %
Контроль	18,2 ± 2,1	100	9,5 ± 1,4	100	9,6 ± 2,3	100
Плантаглюцид, 250 мг/кг	15,0 ± 2,6	100	7,5 ± 1,4	100	8,5 ± 2,8	100
Экстракт, 1 мл/кг	4,0 ± 0,9*	37,5**	2,0 ± 1,8*	62,5**	1,8 ± 0,6*	62,5**
Настой, 5 мл/кг	5,7 ± 0,8*	50**	1,8 ± 1,5*	50**	1,4 ± 0,4*	40**

Примечания. * Различия достоверны в сравнении с контролем при $p < 0,05$. ** Различия достоверны в сравнении с контролем при $p < 0,05$.

Объект — *противоязвенный комплексный растительный препарат.* ПА изучали на модели бутадионовой и стресс-язвы (вариант 1) желудка. Объектом исследований служил экстракт сухой, полученный из следующих видов растительного сырья: листья подорожника большого (*Plantago major L.*) — 187,5 г, трава сушеницы болотной (*Gnaphalium uliginosum L.*) — 187,5 г, корневища и корни девясила высокого (*Inula helenium L.*) — 187,5 г, цветки ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla L.*) — 125 г, корни солодки голой (*Glycyrrhiza glabra L.*) — 125 г, трава горца птичьего (*Polygonum aviculare L.*) — 62,5 г, листья крапивы двудомной (*Urtica dioica L.*) — 62,5 г, плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia L.*) — 62,5 г.

Проведено изучение влияния данного экстракта на течение стрессовых язв в желудке у белых мышей. Полученные данные представлены в табл. 48.

Таблица 48

Влияние противоязвенного комплексного растительного препарата, Бефунгина и ранитидина на течение стрессовых язв в желудке белых мышей, M ± m

Группа животных	Кол-во мышей с язвами, %	Среднее кол-во язв			Кол-во язв на 1 мышь	Кол-во эрозий	ИП/ПА
		крупные	полосовидные	точечные			
1-я — интактная	0	0	0	0	0	0	0
2-я — контроль	100	1,1 ± 0,30	0,7 ± 0,30	6,5 ± 0,13	8,3 ± 0,15	6,2 ± 0,10	8,3/0
3-я — экстракт, 150 мг/кг	50	0,2 ± 0,01*	0,2 ± 0,01*	3,1 ± 0,30	3,5 ± 0,10*	2,9 ± 0,20	1,8/4,6
4-я — Бефунгин, 0,3 мл/кг	83	0,6 ± 0,20	0,3 ± 0,10	4,0 ± 0,80	4,9 ± 0,10*	4,6 ± 0,40	4,1/2,0
5-я — ранитидин, 50 мг/кг	80	0,4 ± 0,01*	0,2 ± 0,02*	4,0 ± 0,60	4,6 ± 0,50*	4,1 ± 0,20	3,8/2,2

Примечание. * Различия по сравнению с контролем значимы при $p < 0,05$.

Проведено изучение влияния полученного экстракта на течение бутадионовой язвы желудка у белых крыс. Как видно из данных, приведенных в табл. 49, введение экстракта ограничивает образование яз-

венных дефектов, наиболее выраженное на 14-е и 21-е сутки наблюдений. Референтные препараты также уменьшали размеры язвенных поражений слизистой желудка, уступая по эффективности экстракту.

Таблица 49

Влияние противоязвенного комплексного растительного препарата на язвенные дефекты при бутадионовой язве желудка у белых крыс, M ± m

Группа животных	Площадь язвенных дефектов, мм^2		
	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
1-я — интактная	0	0	0
2-я — контроль	84,2 ± 2,30	69,8 ± 2,80	51,6 ± 2,10
3-я — экстракт, 150 мг/кг	66,1 ± 1,20*	46,8 ± 1,60*	14,2 ± 1,00*
4-я — Бефунгин, 0,3 мл/кг	72,5 ± 1,30*	48,0 ± 1,70*	20,8 ± 0,90*
5-я — ранитидин, 50 мг/кг	70,3 ± 1,00*	51,0 ± 1,10*	25,2 ± 1,00*

Примечание. * Различия по сравнению с контролем значимы при $p < 0,05$.

Выраженное противоязвенное действие экстракта на поздних сроках течения патологического процесса, очевидно, обусловлено ускоренной регенерацией клеток эпителия слизистой. Индекс ПА экстракта соответствует 3,4; при введении Бефунгина — 2,5; а при введении Ранитидина он соответствует 2,0 (табл. 50).

Таблица 50

Влияние противоязвенного комплексного растительного препарата на течение бутадионовой язвы желудка у белых крыс (21-е сутки опыта), M ± m

Группа животных	Кол-во крыс с язвами, %	Кол-во деструкций на 1 крысу	ИП	ПА
1-я — интактная	0	0	0	0
2-я — контроль	100	12,6 ± 0,68	12,6	0
3-я — экстракт, 150 мг/кг	50	5,5 ± 0,21*	3,7	3,4
4-я — Бефунгин, 0,3 мл/кг	80	6,0 ± 0,24*	5,0	2,5
5-я — Ранитидин, 50 мг/кг	78	7,5 ± 0,22*	6,2	2,0

Примечание. * Различия по сравнению с контролем значимы при $p < 0,05$.

2.3.5. Резерпиновая язва

Острое повреждение желудка вызывают, используя метод резерпинизации животных (О. Д. Барнаулов и соавт., 1983). Перед воспроизведением экспериментальных язв СОЖ животных лишают пищи за 24 часа до воздействия ульцерогена. Раствор резерпина вводят мышам внутрибрюшинно, в дозе 2,5 мг/кг в водном растворе

с последующим охлаждением животных до 7 °С в течение 2 часов. Исследуемые объекты вводят за 5 часов до и непосредственно перед воздействием ульцерогена.

Забой животных производят через 24 часа под легким эфирным наркозом методом декапитации. Желудки извлекают, вскрывая по малой кривизне, промывают физиологическим раствором и макроскопически определяют число и площадь деструкции, которые дифференцируют как точечные (менее 1 мм), крупные (1 мм и более) и полосовидные. В каждой серии опытов определяют процент животных с язвами; степень изъязвления желудка — среднее количество деструкции, приходящееся на одно животное в группе и интегральный показатель масштабов деструкции — индекс Паулса по формуле (2.2).

2.3.6. Атофановая язва

Атофановое повреждение желудка вызывают введением крысам внутрибрюшинно однократно 300 мг/кг Атофана на 5%-ном растворе диметилсульфоксида (О. А. Маничева, О. Д. Барнаулов, 1984). Перед воспроизведением экспериментальных язв СОЖ животных лишают пищи за 24 часа до воздействия ульцерогена.

2.3.7. Травматическая язва

Повреждение желудка по H. Shay et a1. (1945) заключается в полной перевязке лигатурой пилорической части желудка крыс за 24 часа до забоя животных. Исследуемые объекты вводят до моделирования язвы, режим дозирования, кратность введения препаратов определяется исследователем.

Список использованной литературы

1. *Аксиненко, С. Г.* Исследование противоязвенной активности извлечений из листьев ивы корзиночной / С. Г. Аксиненко, Н. И. Суслов, С. С. Кравцова // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. 2012. № 11. С. 79–83.

2. *Александрович, В. Д.* Острые язвы и острые эрозии слизистой оболочки желудка при артериальной гипертензии, системном атеросклерозе, хронических обструктивных заболеваниях легких / В. Д. Александрович // Воен. медицина. 2008. № 4. С. 63–68.

3. *Влияние* настоя листьев *Salix viminalis L.* на течение экспериментального стресса / С. Г. Аксиненко [и др.] // Раст. ресурсы. 2003. Т. 39, Вып. 2. С. 86–90.

4. *Волкова, Н. И.* Гастроэнтерология : учеб. пособие / Н. И. Волкова, И. С. Джериева ; ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России. Ростов-на-Дону : Изд-во РостГМУ, 2016. 161 с.

5. *Гипоксия* как модель язвообразования и ее коррекция растительными препаратами / К. Л. Зеленская [и др.] // Сиб. журн. гастроэнтерологии и гепатологии. 2000. № 10. С. 79–82.

6. *Залыгина, Е. В.* Исследование противоязвенной активности густого экстракта незрелых плодов грецкого ореха на модели диклофенак-индуцированной язвы желудка крыс / Е. В. Залыгина, Е. А. Подплетняя // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. 2017. Т. 10, № 3. С. 324–328.

7. *Ивашкин, В. Т.* Болезни пищевода, желудка и кишечника (краткое практическое руководство) / В. Т. Ивашкин, А. А. Шептулин. Москва : МЕДпресс-информ, 2009. С. 78–83.

8. *Изучение* противоязвенной активности комплексного растительного экстракта при экспериментальных язвах желудка [Электронный ресурс] / Е. В. Ферубко [и др.] // Совр. пробл. науки и образования. 2018. № 4. Режим доступа: https://science-education.ru/ru/article/view?id=27783. Дата доступа: 13.04.2023.

9. *Косолапов, В. Н.* Гастропротективное действие лохеина и эплира в эксперименте : автореф. дис. … канд. фарм. наук : 14.00.25 / В. Н. Косолапов, Пятигор. гос. фармац. акад. Пятигорск, 2005. 21 с.

10. *Лекарственные* растения в терапии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Е. П. Зуева [и др.]. Томск : Изд-во Томск. гос. ун-та, 2003. 212 с.

11. *Мамонова, Н. В.* Противоязвенная активность комплексного сбора лекарственных растений / Н. В. Мамонова, А. В. Зотова, А. А. Егоркина // Здоровье. Мед. экология. Наука. 2009. № 4–5. С. 119–121.

12. *Противоязвенное* действие комплексного растительного средства «Эритрофит» при экспериментальном повреждении желудка крыс индометацином / Е. Д. Гармаева [и др.] // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра Сиб. отд-ния Рос. акад. мед. наук. 2010. № 3. С. 213–215.

13. *Противоязвенные* свойства настоя надземной части *Fragaria vesca (Rosaceae)* / Д. А. Климентова [и др.] // Раст. ресурсы. 2005. Т. 41, Вып. 2. С. 129–134.

14. *Руководство* по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ : учеб. пособие для системы послевуз. проф. образования врачей / Федер. служба по надзору в сфере здравоохранения и соц. развития Федер. гос. учреждение Науч. центр экспертизы средств мед. применения ; под общ. ред. Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. Москва : Медицина : Шико, 2005. 826 с.

15. *Салчак, С. М.* Гастропротективное влияние *Ferulopsis hystrix (Bunge) Pimenov* при экспериментальной этаноловой гастропатии / С. М. Салчак // Бюл. сиб. медицины. 2020. Т. 19, № 4. С. 151–157.

16. *Сравнительное* исследование противоязвенной активности экстракта коры осины сухого в различных лекарственных формах / С. Г. Крылова [и др.] // Тихоокеан. мед. журн. 2015. № 2. С. 18–21.

17. *Торопова, А. А.* Фармакотерапевтическая эффективность растительного средства «Гастрофит» при экспериментальном рефлюкс-гастрите / А. А. Торопова // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра Сиб. отд-ния Рос. акад. мед. наук. 2011. № 1–2. С. 181–184.

18. *Тусупбекова, М. М.* Патоморфология слизистой желудка при острой алкогольной язве на фоне лечения экстрактом каперса колючего и оксимом пиностробина / М. М. Тусупбекова, Л. И. Арыстан, З. Т. Шульгау // Медицина и экология. 2011. № 1. С. 173–177.

19. *Фармакотерапевтическая* эффективность растительного средства «Вентрофит» при экспериментальной индометациновой гастропатии / А. А. Торопова [и др.] // Сиб. мед. журн. (Иркутск). 2009. № 2. С. 100–102.

20. *Okabe, S.* The acetic ulcer model — a procedure for chronic duodenal or gastric ulcer / S. Okabe, C. J. Pfeiffer // Peptic ulcer / ed. C. J. Pfeiffer. Philadelphia ; Toronto, 1971. P. 13–20.

21. *Sheuchuk, S.* Gastroprotective activity of Epilobium angustifolium herb / S. Sheuchuk, N. Gurina // Rev. Farmaceutică a Moldovei. 2021. Vol. 45, Iss. 1. P. 42–45.

22. *Spechler, S. J.* Peptic ulcer and its complications / S. J. Spechler // Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease : pathophysiology, diagnosis, management / M. Feldman [et al.]. 7th ed. Philadelphia ; London ; Toronto ; Montreal ; Sydney ; Tokyo, 2002. Vol. 1. P. 747–781.

2.4. ИЗУЧЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Численность больных сахарным диабетом (СД) в настоящее время составляет более 200 млн человек. Число людей с диабетом увеличивается очень быстро, опережая все прогнозы. Считают, что к 2025 году количество людей с СД может достичь более 380 млн, или 7,4 % взрослой популяции. В 86 % случаев он является причиной развития слепоты, в 30 % случаев — хронической почечной недостаточности. СД обусловливает более 50 % всех нетравматических ампутаций конечностей, которые производятся в мире.

Ежегодно умирает 5,5 % больных СД, уровень смертности среди них в 2–4 раза превышает таковой среди лиц без нарушений углеводного обмена. Продолжительность жизни больных СД на 7–10 лет меньше, чем у лиц без диабета.

Существует два основных типа СД — инсулинозависимый, или СД 1-го типа, и инсулинонезависимый, или СД 2-го типа. Патогенез СД 1-го типа — сложный многоэтапный процесс. В настоящее время его считают классическим аутоиммунным заболеванием, в основе которого лежат генетические факторы и факторы внешней среды. Механизм деструкции β-клеток можно представить как последовательность взаимодействий значительного количества внешних факторов (вирусов и др.), которые у лиц, предрасположенных к СД (генетические нарушения генов системы HLA, генов Fas и FasL и др.), вызывают активацию иммунокомпетентных клеток, повышение об-

разования различных цитокинов (ИЛ-1Р, фактор некроза опухолей-α и др.), простагландинов, оксида азота, совокупное действие которых приводит к деструкции, уменьшению количества β-клеток и развитию аутоиммунного диабета. Основную роль в механизмах деструкции данных клеток поджелудочной железы отводят оксиду азота (NO), образуемому в результате превращений L-аргинина в L-цитруллин под действием NO-синтазы.

В основе развития СД 2-го типа лежат два основных дефекта: инсулинорезистентность (ИР) и нарушение функции β-клеток поджелудочной железы. На фоне ИР углеводный обмен в течение 5–10 лет остается нормальным за счет избыточной продукции инсулина. По мере нарастания ИР данные клетки перестают справляться с увеличившейся нагрузкой глюкозы, что приводит к постепенному истощению секреторной способности этих клеток и развитию СД. В этих условиях в печени снижается скорость трансформации глюкозы (образующейся в процессе глюконеогенеза) в гликоген. Развивающаяся гипергликемия еще в большей степени усиливает ИР периферических тканей и подавляет секреторную функцию β-клеток. Этот механизм получил название глюкозотоксичности. Таким образом, ИР приводит к гипергликемии, сопровождающейся окислительным стрессом и повышением уровня свободных радикалов, которые ускоряют апоптоз.

Как известно, улучшение гликемического контроля имеет важнейшее значение для снижения риска микро- и макрососудистых осложнений СД, приводящих к инфарктам, инсультам. В связи с этим интенсивный подход к терапии является в настоящее время основной концепцией лечения СД. Этот подход предполагает достижение целевых показателей компенсации углеводного обмена у больных как с впервые выявленным заболеванием, так и с диабетом различной степени тяжести. Все чаще для лечения СД с осложненным патогенезом требуется комбинированная терапия. На практике наиболее распространенным вариантом комбинированной сахароснижающей терапии является сочетание синтетических препаратов и растительных сборов, диетотерапии и физических нагрузок. Больные на протяжении всей жизни вынуждены принимать много лекарств, которые нередко проявляют побочные эффекты (в частности, нефро- и гепатотоксичность), поэтому в комплексе с антидиабетическими пероральными средствами патогенетически обосновано применение фитотерапии.

Одной из особенностей терапии СД является необходимость постоянного применения сахароснижающих средств, поэтому интерес к лечению диабета лекарственными растениями значительно возрос. Увеличивается число сообщений о способности тех или иных растений снижать уровень глюкозы в крови больных диабетом, повышать толерантность к ней и чувствительность рецепторов к инсулину, уменьшать постпрандиальную гликемию и восстанавливать нарушенный липидный обмен.

К настоящему времени разработано несколько моделей экспериментального СД, основными из которых являются следующие:

1. Хирургическая модель — используется полное (тотальное) или частичное (субтотальное) удаление поджелудочной железы.

2. Химическая модель — используется введение химических веществ, избирательно воздействующих на β-клетки островков: аллоксан, стрептозотоцин (СТЗ), дитизон и др.

3. Эндокринная модель — используется длительное введение гормонов аденогипофиза, соматотропного гормона, АКТГ, вызывающих метагипофизарный диабет, и введение глюкокортикоидов, вызывающих метастероидный диабет.

4. Иммунная модель — используется введение животным антител против инсулина.

5. Генетическая модель — используется выведение чистых линий мышей и других животных с наследственно обусловленной формой СД.

По литературным данным, наиболее широко используются химические модели.

На протяжении более 50 лет единственной моделью экспериментального СД был диабет, вызываемый удалением поджелудочной железы. Панкреатэктомический СД удалось получить у всех животных, у которых регуляция углеводного обмена осуществляется с помощью инсулина. Для развития в послеоперационном периоде диабетических нарушений большое значение имеет количество сохраненной ткани поджелудочной железы. При тотальном удалении органа диабет у крыс развивается через несколько часов. При удалении 97–98 % — СД развивается только через 2 недели, 95 % — через 3–5 месяцев, 80 % — через 9 месяцев.

Для получения длительно существующего хронического диабета часто прибегают к субтотальной панкреатэктомии. Основной

причиной развития диабета после тотальной и субтотальной панкреатэктомии является дефицит инсулина, т. е. абсолютная инсулиновая недостаточность.

Однако существует целый ряд причин, осложняющих применение метода оперативного удаления поджелудочной железы:

– панкреатэктомия требует высокого уровня хирургического мастерства и адекватного технического оснащения;

– операция ведет к травматизации животных и высокому проценту летальности;

– большой риск инфицирования требует послеоперационного лечения антибиотиками;

– для предотвращения нарушений всасывания в кишечнике необходимо замещение экскреторных функций железы.

С появлением неоперативных моделей СД применение этого метода резко снизилось.

2.4.1. Химические модели сахарного диабета

Аллоксановый диабет. Способы и дозы введения. Аллоксан является продуктом распада мочевой кислоты и представляет собой белое кристаллическое вещество, розовеющее на воздухе. Обладает диабетогенным действием только при парентеральном способе введения — внутривенном, подкожном, внутримышечном и интраперитонеальном.

При внутривенном введении диабетогенные дозы аллоксана составляют: для обезьян — 100–150 мг/кг, собак — 50–100 мг/кг, кроликов — 150–200 мг/кг, крыс — 50–75 мг/кг; при подкожном или внутрибрюшинном введении доза должна быть выше: 150–200 мг/кг для крыс, 350–400 мг/кг для мышей, 500–800 мг/кг для кроликов; при внутримышечном — 300 мг/кг для хомяков.

Для мышей и крыс чаще употребляется внутрибрюшинное введение моногидрата аллоксана однократно в виде 0,9%-ного нормального солевого раствора в дозе 150 мг/кг, 1 мл 5%-ного раствора аллоксана, приготовленного на цитратном буфере с pH = 4,5; внутривенное введение в виде 5%-ного водного раствора в дозе 65 мг/кг или подкожного введения свежеприготовленного 10%-ного раствора аллоксангидрата в дозировке 80 мг/кг массы.

Характер гликемической кривой после введения аллоксана. У исследованных животных после введения аллоксана в диабетогенных дозах выявляется развитие трехфазной или четырехфазной гликемической кривой. Первая скоротечная гипогликемическая фаза длительностью максимально 30 минут начинается с первых минут после введения препарата. Этот короткий гипогликемический ответ — результат быстрой стимуляции секреции инсулина, который подтверждается увеличением его концентрации в плазме крови. Вторая фаза гликемической кривой начинается с подъема концентрации глюкозы через один час после введения аллоксана. Это первая гипергликемическая фаза после контакта β-клеток с токсином. Гипергликемия обычно остается на протяжении 2–4 часов и обусловлена уменьшением концентрации инсулина плазмы в связи с угнетением его секреции панкреатическими β-клетками. Спустя 4–8 часов (по данным некоторых авторов, 6–12 часов) после введения аллоксана наступает третья фаза гликемической кривой, характеризующаяся глубокой гипогликемией, продолжающейся до суток. Иногда без инъекции глюкозы она может закончиться судорогами и смертью животных. Если животные в предыдущей стадии не погибают, то возникает вторичная устойчивая гипергликемия, которая свидетельствует о развитии диабета. Она рассматривается как четвертая, финальная фаза гликемической кривой, характеризующей аллоксановый диабет.

Объект — *девясил высокий.* Животным (крысам) измеряли уровень глюкозы натощак перед началом эксперимента, всех животных взвешивали. В эксперимент брали животных с уровнем глюкозы в цельной крови 3,5–5,5 ммоль/л.

Животным в/ж вводили полученные настои девясила высокого (*Inula helenium L.*) цветков в дозах 500 и 1000 мг/кг на протяжении 3 суток (один раз в сутки) с утра. На 4-е сутки с утра животным измеряли уровень глюкозы, затем вводили настои в исследуемых дозах, а через 1 час животным внутрибрюшинно вводили 1 мл 5%-ного раствора аллоксана. Затем на протяжении 7 дней животные получали настои один раз в сутки с утра. В конце эксперимента, через 10 суток, у животных определяли уровень глюкозы натощак и взвешивали.

В качестве препарата сравнения использовали Манинил (действующее вещество — глибенкламид; Berlin-chemie, Германия), который вводили в виде суспензии перорально в дозе 10 мг/кг.

Результаты исследования представлены на рис. 18. Введение аллоксана привело к резкому увеличению содержания глюкозы в крови крыс — практически в 4 раза (Var 2) по отношению к исходным значениям (Var 1). Уровень глюкозы в крови аллоксанового контроля составил 22,3–26,8 ммоль/л. Настой девясила цветков в дозе 500 мг/кг снижает уровень глюкозы в крови до 15,9–17,3 ммоль/л (Var 3,4) как у самцов, так и у самок, в дозе 1000 мг/кг — до 8,5–12,8 ммоль/л (Var 5,6) как у самцов, так и у самок. Следует отметить, что разброс значений в группах самок больше, чем у самцов. Это, вероятно, связано с более сложной гормональной регуляцией у особей женского пола. При введении препарата сравнения Манинила (глибенкламид) в дозе 10 мг/кг уровень глюкозы в крови понижался до 8,4–11,2 ммоль/л (Var 7).

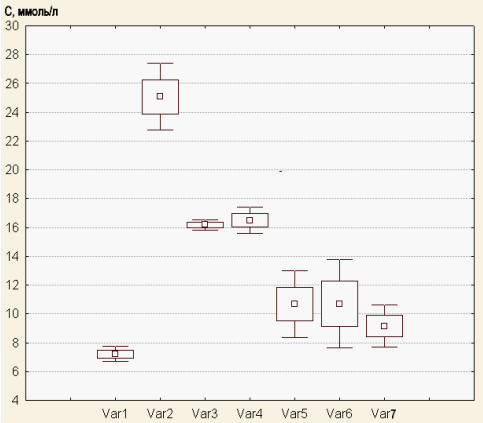


Рис. 18. Влияние настоев девясила цветков при внутрижелудочном введении на морфологию поджелудочной железы

Также исследовали динамику массы тела животных. В контрольной группе (Var 1) наблюдалась положительная динамика — масса тела возросла на 3,44 %. В аллоксановом контроле (Var 2) у подопытных животных наблюдалась резкое снижение массы тела, которое составило 14,13 %. В группе самцов, которым на протяжении 10 суток в/ж вводили настой девясила цветков в дозе 500 мг/кг (Var 3), снижение массы тела составило 4,23 %, а в группе самок (Var 4) — 7,39 %. В группе самок, которым на протяжении 10 суток в/ж вводили настой девясила цветков в дозе 1000 мг/кг (Var 6),

наблюдалось небольшое снижение массы тела, которое составило 0,77 %, а в группе самцов (Var 5) обнаружена положительная динамика — масса тела возросла на 0,69 %. В группе крыс, получавших препарат сравнения Манинил (Var 7), было небольшое снижение массы тела — 0,35 %.

Для гистологического исследования под эфирным наркозом через серединный разрез передней брюшной стенки производили резекцию брыжейки двенадцатиперстной и тонкой кишки вместе с тканью поджелудочной железы. Ткань поджелудочной железы разделяли на 3 фрагмента — область, прилежащую к двенадцатиперстной кишке (головка), желудочную часть (тело) и селезеночную часть (хвост). Материал фиксировали в течение 48 часов в растворе 100 г/л нейтрального забуференного формалина (pH 7,4). После фиксации материал обрабатывали по общепринятой гистологической методике, проводя через спирты возрастающей концентрации, хлороформ и заливая в парафин.

На роторном микротоме изготавливали серийные срезы толщиной 5–6 мкм. В дальнейшем для выявления общепатологических процессов производили окрашивание гематоксилином и эозином.

Объект — *чернушка посевная.* Для изучения антидиабетических свойств надземной части чернушки посевной (*Nigella sativa L.*) были проведены эксперименты на 48 белых беспородных лабораторных крысах-самцах со средней массой тела 150–220 г.

Животные были разделены на 4 группы по 12 крыс в каждой. В 1-ю группу включили интактных животных, которые служили контролем и получали 0,2 мл дистиллированной воды в/ж на каждые 100 г массы тела. Во 2, 3 и 4-й группах белых крыс находились опытные животные, у которых моделировали аллоксангидратовый диабет.

Животные 2-й группы в последующем получали по 0,2 мл/кг массы тела дистиллированной воды (в/ж) в течение 14 дней (нелеченый экспериментальный диабет). Опытные животные 3-й группы (леченые) с целью оценки антидиабетической активности чернушки посевной получали по 0,2 мл/100 г массы тела свежеприготовленного настоя (1 : 10) надземных частей растения (далее — настой NSL). Крысам 4-й группы вводили отвар семян (1 : 10) растения (далее — отвар NSL) по 0,2 мл/100 г массы тела ежедневно в/ж, начиная с 1-го дня после введения аллоксангидрата в течение 14 дней.

На 14-й день производили измерение глюкозы. У интактных крыс уровень глюкозы в среднем составил 6,32 ± 0,01 ммоль/л. В 1-й группе с аллоксангидратовым диабетом уровень глюкозы статистически значимо превышал данный показатель в интактной группе и составлял 19,26 ± 0,01 ммоль/л.

В 3-й и 4-й группах животных, получавших настой и отвар NSL, практически нормализовался уровень глюкозы и составил соответственно 8,54 ± 0,04 и 7,67 ± 0,04 ммоль/л.

Показатель гликированного гемоглобина (HbAlc) увеличился во 2-й группе на 18,9 %, достоверно превысив соответствующие значения у интактных животных. При определении HbAlc после 14 дней применения отвара NSL отмечено статистически значимое снижение данного показателя практически до уровня, определяемого у интактных животных (соответственно интактные животные — 6,81 ± 0,15 %; животные с экспериментальным диабетом, принимавшие отвар NSL — 6,82 ± 0,15 %). У экспериментальных животных, получавших настой NSL, также отмечено снижение уровня HbAlc (до 7,26 ± 0,14 %), которое не явилось статистически значимым (табл. 51).

Таблица 51

Сравнительный анализ лабораторных показателей у животных на протяжении 14 дней

Показатель	Группа животных							P_{3vs2}	P_{4vs2}	P_{3vs4}
	1-я — контроль	2-я — экспериментальный диабет		3-я — экспериментальный диабет + настой NSL 0,2 мл/100 г		4-я — экспериментальный диабет + отвар NSL 0,2 мл/100 г				
		Абс.	Δ%	Абс.	Δ%	Абс.	Δ%			
pH крови	7,19 ± 0,1	6,79 ± 0,1	–5,7	7,11 ± 0,1	4,72	7,24 ± 0,2	+6,69	н/д	p < 0,05	н/д
Глюкоза, ммоль/л	6,32 ± 0,1	19,26 ± 0,11	+204,7	8,54 ± 0,14	–55,6	7,67 ± 0,11	–60,2	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,05
HbA1c, %	6,81 ± 0,15	8,1 ± 0,21	+18,9	7,26 ± 0,14	–10,35	6,82 ± 0,15	–15,9	н/д	p < 0,05	н/д

Стрептозотоциновый сахарный диабет. Стрептозотоцин (стрептозоцин, изостоцин, занозар) — синтетический препарат, полученный из микроорганизмов *Streptomyces achromogenes*, откуда и произошло его название. СТЗ является токсическим соединением из группы производных нитрозомочевины, связанным в C_2-положе-

нии с D-глюкозой, избирательно проникающим в панкреатические β-клетки посредством переносчика GLUT-2.

Диабетогенный эффект СТЗ наблюдается у многих видов животных, включая мышей, собак, кошек, обезьян, морских свинок и др. Наиболее резистентными к действию СТЗ являются кролики и свиньи, а максимальная сенсибилизация выявлена у крыс, при этом оптимальная диабетогенная доза СТЗ для последних уменьшается по мере увеличение массы животного. Также отмечено, что особи мужского пола при сопоставимой дозе развивают более выраженную гипергликемию.

Для получения экспериментального диабета существует несколько способов введения препарата в организм: внутривенный, внутрибрюшинный и метод прямой инфузии в сосуды поджелудочной железы. В связи с неустойчивостью СТЗ и коротким периодом его полураспада самым надежным считается внутривенное введение.

У крыс внутривенное введение данного препарата в дозе 60 мг/кг вызывает развитие признаков клинического диабета и разрушение β-клеток, по разным авторам, через 2–4 дня, а при однократном внутрибрюшинном введении в дозе 50—80 мг/кг — через 7 и более дней.

Мыши по сравнению с крысами менее чувствительны к СТЗ. Обычно диабет у них вызывается дозой 150–200 мг/кг.

У собак доза препарата составляет 25–50 мг/кг, но рекомендуется повторное внутривенное введение малых доз по 15 мг/кг в течение 3 дней.

Для развития диабета у кроликов требуются высокие дозы СТЗ — 300 мг/кг внутривенно.

У обезьян рекомендуемая доза составляет 50–60 мг/кг для внутривенного введения или возможна прямая инфузия СТЗ в артерию поджелудочной железы. Замечено, что самки более устойчивы к СТЗ. Развивающаяся у них гипергликемия менее значительна, чем у самцов. При использовании субдиабетогенных доз СТЗ для поражения β-клеток рекомендуется повторное применение препарата, тогда чувствительность β-клеток к нему повышается. Более низкая чувствительность к СТЗ по сравнению с другими видами лабораторных животных отмечается у морских свинок.

Характер гликемической кривой. После введения СТЗ в ответ на изменения концентрации плазменного инсулина наблюдаются

соответствующие изменения глюкозы крови. Они носят трехфазный характер. Первая гипергликемическая фаза начинается через 1 час после введения препарата, достигая пика подъема глюкозы через 2 часа, и продолжается до 4 часов. Следующая, гипогликемическая, фаза наступает спустя 4–8 часов после введения СТЗ и продолжается в течение нескольких часов (до суток). Третья фаза гликемической кривой является финальной, характеризуется устойчивой гипергликемией и развитием перманентного стрептозотоцинового диабета, который наблюдается через 24 часа после введения препарата.

Механизм избирательности действия препарата связан с его химической структурой. Высокая гидрофильность СТЗ затрудняет его проникновение через плазмолемму различных клеток и гематоэнцефалический барьер мозга. Предполагается, что глюкозная часть молекулы СТЗ способна связываться с переносчиком глюкозы (GLUT-2) и обеспечивать проникновение и аккумуляцию агента в β-клетках.

Порошок СТЗ растворяют в натриевом цитратном буфере с pH 4,5. Рекомендовано использовать свежеприготовленный или оттаянный после замораживания при –20 °С буфер. Порошок СТЗ должен быть растворен в светонепроницаемой стеклянной емкости и введен экспериментальному животному внутривенно или внутрибрюшинно в максимально ближайшие сроки.

Объект — *бадан толстолистный.* Для оценки гипогликемического действия экстракта бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia L.*) моделировали СД путем однократного внутрибрюшинного введения СТЗ (Sigma, США) в дозе 60 мг/кг с предварительным (за 15 минут) применением никотинамида (интраперитониально — 210 мг/кг) (S. Islam, H. Choi, 2007). Затем в течение 10 дней у животных (крыс) развивался СД, который затрагивал 3 основные механизма утилизации глюкозы: пререцепторный, рецепторный, передачу сигнала от рецептора к транспортным белкам.

С 10 по 20 день после индукции патологии мышам (кроме интактной и контрольной групп) ежедневно вводили экстракт бадана (50 мг/кг); метформин (176 мг/кг). Определение уровня глюкозы в периферической крови проводили на 10, 15 и 20-й дни эксперимента (табл. 52). Также было проведено определение антиоксидантного статуса животных и влияние на него тестируемых объектов. Для этого на 20-й день определяли концентрацию ВГ в лизате эритроцитов, МДА и стабильных метаболитов оксида азота в плазме крови.

Таблица 52

Результаты определения уровня глюкозы

Группа животных	День эксперимента		
	10-й	**15-й**	**20-й**
1-я — интактная	4,7 ± 0,3	4,6 ± 0,4	4,8 ± 0,2
2-я — контроль (диабет + плацебо)	6,9 ± 0,5*	8,5 ± 0,4*	7,7 ± 0,4*
3-я — экстракт бадана, 50 мг/кг	7,5 ± 0,4*	6,1 ± 0,5*	5,7 ± 0,3*
4-я — метформин, 176 мг/кг	6,8 ± 0,3*	6,3 ± 0,5*	6,1 ± 0,3*

Примечание. * Различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$).

У животных, получавших экстракт бадана, концентрация глюкозы была статистически значимо ниже, чем у животных контрольной группы в среднем на 31 %. Систематическое 10-дневное применение препарата сравнения (метформин) способствовало статистически значимому уменьшению концентрации глюкозы в периферической крови лабораторных животных в среднем на 24 %.

Оценка АОС на фоне экспериментального стрептозотоцинового диабета в контрольной группе показала уменьшение концентрации ВГ в гемолизате эритроцитов в 2,3 раза и увеличение концентрации МДА в плазме крови в 1,7 раза, что свидетельствует о наличии окислительного стресса у лабораторных животных. Применение экстракта бадана приводило к статистически значимому снижению МДА в 1,7 раза и увеличению концентрации ВГ в 2,3 раза. На фоне систематического применения метформина наблюдалось статистически значимое снижение МДА в 1,5 раза и увеличение концентрации ВГ в 2,4 раза.

Объекты — *крапива двудомная, лопух большой.* Экспериментальный СД вызывали двукратным внутрибрюшинным введением СТЗ в дозе 30 мг/кг с интервалом в 2 дня. Для формирования устойчивости к инсулину животные в течение 4 недель до начала инъекций СТЗ и в течение 8 недель после окончания его введения получали диету с повышенным содержанием жиров (белки — 8 %, жиры — 30 %, углеводы — 62 % от общей суточной калорийности).

Через 8 недель отбирали крыс с уровнем гликемии не менее 10 ммоль/л после голодания на протяжении 12–14 часов. Экстракты растений и препараты сравнения вводили этим животным ежедневно в желудок за 30 минут до еды в течение 10 суток (в последний раз

за 20–22 часа до исследования) в эффективных сахароснижающих дозах: экстракт крапивы — 100 мг/кг массы тела, экстракт лопуха — 25 мг/кг массы тела, метформин (Berlin-Chemie AG, Германия) — 450 мг/кг массы тела, росиглитазон — 40 мкг/кг массы тела. Инсулин человеческий генно-инженерный вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5 мг/кг (14,3 МЕ/кг) массы тела.

Животных до начала терапии разделяли на 2 группы: 1-я продолжала получать диету с высоким содержанием жиров, 2-я — обычный пищевой рацион (20 % белков, 8 % жиров и 72 % углеводов). Контрольным животным с моделью СД вводили воду дистиллированную в эквиобъемных количествах.

Сухие экстракты получали из листьев крапивы двудомной (*Urtica dioica L.*) и корней лопуха большого (*Arctium lappa*). Соотношение сырья и воды дистиллированной составляло 1 : 15. Экстракцию проводили трехкратно, после чего объединяли полученные порции и удаляли воду при температуре не выше 60 °С.

Введение экстракта листьев крапивы двудомной (100 мг/кг) животным, продолжавшим получать обогащенную жирами пищу, приводило к снижению концентрации глюкозы в крови натощак с 20,1 до 15,3 ммоль/л, гликированного гемоглобина — с 8,6 до 7,6 % ($p < 0,05$). Концентрация креатинина уменьшалась в 3,6 раза, мочевой кислоты — на 28,8 %. Содержание белка в скелетных мышцах увеличивалось на 6,1 %, активность глюкозо-6-фосфатазы в печени снижалась в 2,1 раза по сравнению с показателями, определенными у крыс с экспериментальным СД.

Под действием экстракта крапивы у животных с моделью СД, получавших обычный пищевой рацион, уровень глюкозы в крови натощак снижался с 20,3 до 6,4 ммоль/л, гликированного гемоглобина — с 8,0 до 7,3 % ($p < 0,05$).

Концентрация креатинина уменьшалась в 2,3 раза, мочевины — становилась больше на 18,2 %. Содержание гликогена в печени и скелетных мышцах снижалось в 7,9 и 2,2 раза соответственно, уровень белка в скелетных мышцах возрастал на 6,1 % ($p < 0,05$) (табл. 53). Чувствительность тканей к инсулину под влиянием экстракта крапивы повышалась независимо от пищевого рациона. Как известно, количество гликогена в скелетных мышцах не изменяется при голодании, в ночное время или после приема пищи, богатой углеводами, но значительно снижается после мышечной работы (М. И. Балаболкин, 2000).

Таблица 53

Влияние экстрактов крапивы двудомной и лопуха большого на биохимические показатели крови, содержание гликогена, белка в печени и скелетных мышцах, активность ферментов печени при модели сахарного диабета, Me (Q_1–Q_2)

Показатель	Интактные животные	Контроль	Модель сахарного диабета +			
			экстракт крапивы (100 мг/кг) на фоне		экстракт лопуха (25 мг/кг) на фоне	
			диеты с высоким содержанием жиров	обычного пищевого рациона	диета с высоким содержанием жиров	обычного пищевого рациона
Кровь						
Креатинин, мкмоль/л	48,6 (41,6–91,4)	117,2* (55,4–205,1)	32,3** (25,1–45,7)	50,8** (46,7–60,6)	40,0** (19,4–50,8)	32,6*/** (24,2–46,2)
Мочевина, ммоль/л	5,6 (4,7–7,6)	14,3* (12,2–15,3)	12,4* (10,8–15,3)	16,9*/** (15,1–18,4)	12,9* (9,4–16,2)	20,4*/** (14,9–30,7)
Мочевая кислота, мкмоль/л	106,4 (92,7–138,8)	170,0* (136,0–198,3)	121,1** (106,3–136,9)	166,8 (82,9–174,7)	165,9* (144,2–187,9)	147,7* (134,0–203,3)
Печень						
Гликоген, мг/г	0,35 (0,01–2,27)	11,9* (6,5–15,9)	9,6 (6,0–10,6)	1,5** (0,8–1,7)	21,9*/** (13,7–24,5)	22,4 (21,4–25,4)
Глюкозо-6-фосфотаза, мкмоль фосфора	1,5 (1,2–2,3)	4,7* (2,8–5,2)	2,2** (1,3–2,4)	3,2* (3,1–4,8)	2,3** (1,8–2,4)	3,6* (2,9–4,1)
Скелетные мышцы						
Гликоген, мг/г	1,2 (0,9–1,7)	3,8* (2,9–5,1)	5,2* (3,6–6,3)	1,7** (1,5–1,9)	4,8* (2,3–5,1)	5,0* (4,6–5,2)
Белок, мг/г	355,4 (340,0–386,8)	320,6* (286,0–355,0)	340,0** (322,8–372,0)	340,0** (340,0–372,0)	376,0** (364,0–387,0)	339,6** (328,0–348,0)

Примечания. * Статистически значимо отличаются от интактных животных ($p \leq 0,05$). ** Статистически значимо отличаются от животных с моделью сахарного диабета ($p \leq 0,05$).

При введении экстракта лопуха большого (25 мг/кг) крысам с экспериментальным СД, получавшим пищу с содержанием жиров 30 %, концентрация глюкозы в крови уменьшалась с 16,3 до 12,8 ммоль/л, гликированного гемоглобина — с 7,2 до 6,0 %, креатинина — в 2,9 раза ($p < 0,05$). Содержание гликогена в печени увеличивалось в 1,8 раза, активность глюкозо-6-фосфатазы снижалась вдвое, количество белка в скелетных мышцах возрастало на 17,3 % ($p < 0,05$).

Терапия экспериментального СД экстрактом лопуха на фоне обычного пищевого рациона не приводила к изменению содержания глюкозы в крови, концентрация гликированного гемоглобина снижа-

лась с 8,0 до 6,4 % ($p < 0,05$). Содержание креатинина в плазме уменьшалось в 3,6 раза по сравнению с показателями животных группы контроля, на 32,9 % — по сравнению с уровнем метаболита у интактных животных. Содержание мочевины возрастало на 42,7 % по сравнению с показателями, регистрируемыми в группе контроля ($p < 0,05$) (табл. 53). Количество гликогена в печени увеличивалось в 1,9 раза, белка в скелетных мышцах — на 5,9 % ($p < 0,05$). Чувствительность к инсулину повышалась к 120-й мин после введения экстракта лопуха.

Влияние метформина, росиглитазона и препарата инсулина на обмен углеводов и белков было не столь однозначным. При введении метформина крысам со стрептозотоциновым СД, получавшим пищу, обогащенную жирами, концентрация глюкозы крови снижалась с 17,3 до 12,2 ммоль/л ($p < 0,05$), содержание гликированного гемоглобина статистически значимо не изменялось. При введении метформина крысам с экспериментальным СД на фоне обычного пищевого рациона уровень глюкозы уменьшался с 17,1 до 6,3 ммоль/л, гликированного гемоглобина — с 7,7 до 6,8 % ($p < 0,05$). Росиглитазон при модели СД и кормлении пищей с количеством жиров 30 % не изменял уровень глюкозы крови натощак, снижал концентрацию гликированного гемоглобина с 7,5 до 6,6 % ($p < 0,05$). Введение росиглитазона на фоне обычного пищевого рациона сопровождалось уменьшением содержания глюкозы крови с 12,9 до 7,0 ммоль/л, гликированного гемоглобина — с 7,3 до 6,2 % ($p < 0,05$).

Инсулин человеческий генно-инженерный при инъекции животным, получавшим пищу с высоким и обычным содержанием жиров, снижал концентрацию гликированного гемоглобина с 8–8,6 до 6,5–7 % ($p < 0,05$). Метформин улучшал чувствительность тканей к инсулину независимо от пищевого рациона, росиглитазон — лишь у животных, получавших пищу с содержанием жиров 8 %, инсулин человеческий генно-инженерный не ослаблял ИР в тесте толерантности к инсулину. В результате терапии метформином, росиглитазоном и препаратом инсулина при обоих режимах питания содержание гликогена в печени увеличивалось в 1,5–2,2 раза. Эти данные подтверждают способность сахароснижающих средств активировать синтез гликогена. Активность глюкозо-6-фосфатазы в печени снижалась в 2,4–2,9 раза под влиянием метформина и росиглитазона, повышалась в 1,6 раза при введении препарата инсулина на фоне высококалорийной диеты.

Количество белка в скелетных мышцах возрастало на 6,1–11 % при терапии метформином, независимо от содержания жиров в пище, при введении препарата инсулина — лишь у животных, продолжавших получать обогащенную жирами пищу ($p < 0,05$). Концентрация креатинина в крови уменьшалась в 2,2–3,9 раза при терапии метформином, росиглитазоном и препаратом инсулина независимо от содержания жиров в пище. Уровень мочевины и мочевой кислоты в крови снижался на 22,3–38,8 % при лечении метформином и препаратом инсулина у животных, получавших пищу с высоким содержанием жиров ($p < 0,05$).

Дитизоновый сахарный диабет. Дитизон химически представляет собой дифенилтиокарбазон. Дитизоновый диабет (абсолютную инсулиновую недостаточность прямого β-цитотоксического генеза) индуцируют внутривенной инъекцией дитизона (25–50 мг/кг массы тела) кроликам, которые предварительно голодают на протяжении 16–18 часов. Предварительное голодание животных в течение 1–2 суток значительно повышает их чувствительность к дитизону. Данный препарат рекомендуется вводить в водном растворе аммиака. Наилучшим объектом для изучения дитизонового диабета являются кролики, хотя удалось вызвать его и у мышей.

Через 2–5 минут после введения дитизон соединяется с цинком в панкреатических β-клетках, образуя дитизонат цинка. Дитизон очень быстро исчезает из сосудистого русла, и через 20 минут в крови обнаруживаются только его следы — 1,2–5,28 мкг/мл.

В 1-е сутки после введения диабетогенной дозы дитизона происходит трехфазное колебание концентрации сахара в крови, аналогичное описанному при аллоксановом диабете. Оно сопровождается структурными изменениями β-клеток. Первые изменения в виде небольших очагов опустошения цитоплазмы β-клеток начинают развиваться уже через 15 минут после образования комплекса «цинк–дитизон». С помощью электронной микроскопии удалось установить, что в первую очередь повреждаются оболочки β-гранул, которые вслед за этим разрушаются. Первоначально формируются единичные очаги, каждый из которых возникает на месте 2–4 разрушенных гранул. Через 1–2 часа зона опустошения с поврежденными органоидами занимает большую часть клетки. К концу суток значительная часть β-клеток полностью разрушается, что,

по-видимому, и является морфологической основой возникающей к этому периоду инсулиновой недостаточности.

Объект — *фасоль обыкновенная.* Экспериментальные исследования были проведены на 25 кроликах породы шиншилла массой 2,5–3,0 кг. При изучении гипогликемической активности все животные были разделены на 5 групп (по 5 в каждой) (табл. 54).

Таблица 54

Группы экспериментальных животных

Группа	Вводимые средства
1-я	Интактный контроль — в/ж получали эквивалентное количество питьевой воды
2-я	Диабетический контроль — в/ж получали эквивалентное количество питьевой воды
3-я	Препарат сравнения метформин
4-я	Глибенкламид
5-я	Густой экстракт фасоли (далее — ГЭФ)

Начиная со 2-х суток исследований, животным с дитизоновым диабетом вводили перорально (2 раза в день) на протяжении 2 недель ГЭФ в дозе 40 мг/кг и препараты сравнения — метформин в дозе 30 мг/кг и глибенкламид в дозе 5 мг/кг. В качестве референс-препаратов были выбраны метформин (Диаформин, табл. 0,5 г) и глибенкламид (табл. 0,005 г) производства ОАО «Фармак» (Украина).

На 3, 5, 7, 10, 12 и 14-й дни эксперимента в сыворотке крови животных определяли концентрацию глюкозы (глюкозооксидазным методом при помощи наборов реактивов фирмы «Филисит-Диагностика», Украина) и HbA1c (гемиглобинцианидным методом (метод Drabkin) при помощи набора реактивов «Агат-Мед», Россия). Глюкозооксидазный метод основан на реакции окисления глюкозы в присутствии фермента глюкозооксидазы с образованием перекиси водорода, которая в свою очередь в присутствии пероксидазы окисляет ортотолидин с образованием окрашенных продуктов. О концентрации глюкозы судили по количеству окрашенных продуктов. Гемиглобинцианидный метод заключается во взаимодействии гемоглобина с железосинеродистым калием, который окисляется в метгемоглобин, образуя гемиглобинцианид. По интенсивности окраски гемиглобинцианида оценивается содержание HbA1c.

Для оценки динамики массы тела животных взвешивали на 3-и и 14-е сутки.

Через 3 дня исследования после моделирования дитизонового диабета происходило снижение массы тела у животных во всех группах. У животных без лечения (контрольная патология) — на 9,1 %, получавших в лечении метформин — на 5,9 %, глибенкламид — на 3,7 % и ГЭФ — на 4,3 % по сравнению с исходными данными (табл. 55). К концу эксперимента наибольшая потеря массы тела наблюдалась у животных контрольной группы (на 20,0 %) по сравнению с исходными данными. Согласно литературным данным, снижение синтеза и увеличение катаболизма белка способствует снижению массы тела и гипотрофии мышц при СД 1-го типа. В группе животных, получавших метформин, масса тела снизилась на 14,0 %. Применение в лечении глибенкламида и ГЭФ у животных привело к незначительному снижению массы тела на 6,7 и 8,5 % по сравнению с исходными данными. Результаты определения уровня глюкозы в крови представлены в табл. 55.

Таблица 55

Гипогликемическая активность густого экстракта фасоли на модели дитизонового диабета, n = 5

Группа животных	Динамика содержания глюкозы, ммоль/л						
	исходные данные	через 3 дня	через 5 дней	через 7 дней	через 10 дней	через 12 дней	через 14 дней
1-я — интактный контроль	17,8 ± 0,07	17,5 ± 0,09	17,7 ± 0,14	17,6 ± 0,10	17,9 ± 0,15	17,7 ± 0,14	17,6 ± 0,10
2-я — контроль	17,9 ± 0,14	21,0 ± 0,10	20,9 ± 0,07	20,9 ± 0,05	20,7 ± 0,11	20,6 ± 0,06	20,4 ± 0,05
3-я — метформин, 30 мг/кг	18,5 ± 0,16	20,8 ± 0,09	20,7 ± 0,04	20,6 ± 0,06[3]	20,3 ± 0,07[3]	20,0 ± 0,07[2]	19,9 ± 0,05[2]
4-я — глибенкламид, 5 мг/кг	17,7 ± 0,11	20,7 ± 0,11	20,4 ± 0,07[2]	20,2 ± 0,13[2]	19,8 ± 0,06[2]	19,3 ± 0,07[1]	18,9 ± 0,14[1]
5-я — ГЭФ, 40 мг/кг	17,3 ± 0,13	19,2 ± 0,06[1/4/6]	20,0 ± 0,13[2/5]	19,8 ± 0,11[1/5]	19,5 ± 0,05[1/4/7]	19,1 ± 0,09[1/5]	18,7 ± 0,09[1/4]

Примечания. [1] $p < 0,001$, [2] $p < 0,01$, [3] $p < 0,05$ — достоверно по отношению к контрольной патологии. [4] $p < 0,001$, [5] $p < 0,01$ — достоверно по отношению к метформину. [6] $p < 0,001$, [7] $p < 0,05$ — достоверно по отношению к глибенкламиду.

Через 3 дня после индуцирования дитизонового диабета у животных контрольной группы наблюдалось резкое повышение базальной

гипергликемии (21,0 ± 0,10 ммоль/л), а через 5 дней и до окончания исследования происходило незначительное снижение уровня глюкозы в крови (20,4 ± 0,05 ммоль/л). Через 3 дня исследования уровень глюкозы в крови у животных, получавших лечение метформином и глибенкламидом, был высоким (20,8 ± 0,09 и 20,7 ± 0,11 ммоль/л соответственно) по сравнению с исходными данными и сохранялся на протяжении 7 дней. В группе животных, получавших лечение ГЭФ, уровень глюкозы в крови повышался до 5-го дня исследования и соответствовал 20,0 ± 0,13 ммоль/л, а после 7 дней незначительно снижался (19,8 ± 0,11 ммоль/л). Через 10 и 12 дней исследования происходило незначительное уменьшение уровня глюкозы в крови у животных под действием препаратов сравнения (метформин, глибенкламид) и ГЭФ. Через 14 дней лечения животных ГЭФ наблюдалось незначительное снижение гипергликемии (18,7 ± 0,09 ммоль/л), что приближалось к показателям в группе животных, получавших глибенкламид (18,9 ± 0,14 ммоль/л) и превышало показатели в группе животных, получавших метформин (19,9 ± 0,05 ммоль/л). Таким образом, гипогликемическая активность ГЭФ, как и препаратов сравнения — метформина и глибенкламида, не способствовала нормализации уровня глюкозы в крови до исходного уровня и не оказывала влияния на острую инсулиновую недостаточность у животных, вызванную блокадой инсулина в β-клетках поджелудочной железы.

2.4.2. Модель пероральной сахарной нагрузки

Уровень глюкозы является мощным регулятором активности β-клеток островкового аппарата поджелудочной железы. Увеличение концентрации глюкозы в крови стимулирует выделение в кровь инсулина, что приводит к уменьшению содержания в ней глюкозы.

Исследования проводят на крысах массой 250–300 г. За 18 часов до начала эксперимента животным ограничивают доступ к пище при адекватном потреблении воды. За 1 час до проведения эксперимента опытным животным производят в/ж введение растительных настоев (экстрактов) или препаратов сравнения. Контрольной группе животных вводят дистиллированную воду в аналогичном объеме.

В качестве препаратов сравнения используют: Манинил (действующее вещество — глибенкламид) в дозе 10 мг/кг, метформин в дозе 50 мг/кг, сбор Арфазетин в дозе 18 мг/кг. Через час после вве-

дения исследуемых образцов (воды) перорально вводят 50%-ный (40%-ный) раствор глюкозы в дозе 3 г/кг. Пробы крови для определения гликемии забирают до введения исследуемых объектов и препаратов сравнения, перед введением глюкозы, через 30 минут после введения глюкозы и затем в течение 2 часов с 30-минутными интервалами.

Объект — *девясил высокий.* Исследовали влияние настоя девясила высокого цветков в дозе 1000 мг/кг на уровень глюкозы при пероральной сахарной нагрузке. В качестве препарата сравнения использовали Манинил (действующее вещество — глибенкламид) в дозе 10 мг/кг.

После перорального введения глюкозы у интактных крыс отмечалось резкое повышение концентрации сахара в крови, при этом оно доходило до максимального уровня уже к 30-й минуте исследования. Максимальные концентрации превышали исходные значения практически в 2 раза. Затем отмечалось плавное снижение концентрации сахара в крови, и ко 2-му часу гликемия превышала исходный уровень на 50 %.

Применение настоя девясила цветков приводило к значительному снижению скорости и продолжительности гипергликемии. Так, наблюдалось постепенное уменьшение гликемии, и ко 2-му часу уровень глюкозы лишь на 20 % превышал исходный уровень.

Препарат сравнения Манинил вызывал более выраженное снижение скорости и продолжительности гипергликемии, связанной с всасыванием глюкозы из кишечника (рис. 19).

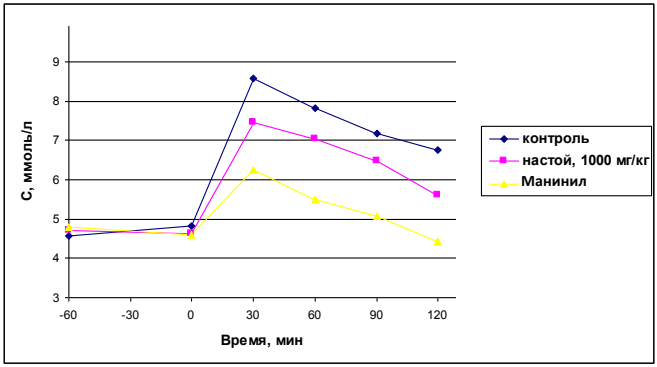


Рис. 19. Влияние настоя цветков девясила высокого на уровень сахара при пероральной нагрузке

Объект — *люцерна посевная.* Изучена гипогликемическая активность экстракта травы люцерны посевной (далее — ЭТЛП) у крыс с нормальным углеводным гомеостазом в условиях нагрузки 40%-ным раствором глюкозы в дозе 3 г/кг массы тела.

Экспериментальные животные были распределены на 5 групп (по 8 особей в каждой). За 1 час до нагрузки декстрозой (глюкозой) животным 1-й и 2-й групп (интактной и контрольной) в/ж вводили эквивалентное количество питьевой воды, животным 3-й группы — препарат сравнения метформин в дозе 50 мг/кг, 4-й — препарат сравнения Арфазетин в дозе 18 мг/кг, 5-й — ЭТЛП в дозе 25 мг/кг.

После нагрузки декстрозой (глюкозой) уровень глюкозы крови в контрольной группе животных увеличился через 15 минут в 2,2 раза в сравнении с исходным уровнем. Через 120 минут гипергликемия снизилась в 1,6 раза, но превышала исходный уровень в 1,4 раза (рис. 20).

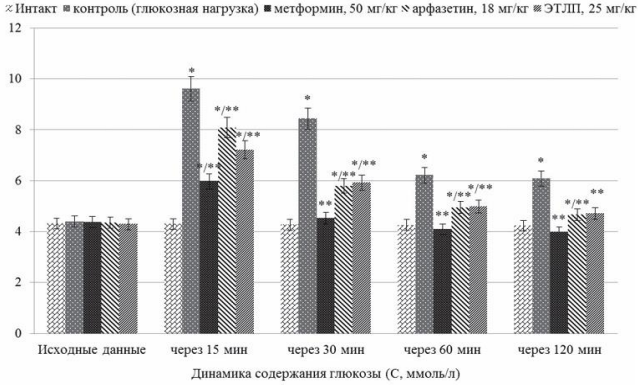


Рис. 20. Влияние экстракта из травы люцерны посевной на концентрацию глюкозы в крови крыс с глюкозной нагрузкой (n = 8); статистическая значимость различий ($p \leq 0,05$) по отношению * к исходным данным, ** к контрольной группе

Введение ЭТЛП увеличивало толерантность к глюкозе и, соответственно, уменьшало ИР. Через 15 минут гипергликемия снизилась на 24,9 %, через 30 минут — на 29,9 %, через 60 минут — на 19,9 %, через 120 минут — на 22,7 % в сравнении с контрольной группой животных. Аналогичный фармакологический эффект наблюдали после применения Арфазетина, что подтверждалось уменьшением гипергликемии по сравнению с контрольной группой животных на 15,9; 31,3; 20,4 и 23,5 % соответственно.

В группе животных, получавших на фоне нагрузки декстрозой (глюкозой) препарат сравнения метформин, уровень глюкозы через 15, 30, 60 и 120 минут после нагрузки уменьшался на 37,8; 46,4; 34,1 и 34,6 % соответственно.

Доказано, что ЭТЛП способен положительно влиять на толерантность к глюкозе, а также, возможно, приводить к уменьшению ИР на фоне глюкозной нагрузки и по этим свойствам не уступает растительному противодиабетическому сбору Арфазетин.

2.4.3. Модель развития инсулинорезистентности под влиянием свежевыжатого лимонного сока

Экспериментальную модель ИР вызывают в/ж введением свежевыжатого натурального сока лимона (*Citrus limon*) по 2 и 5 мл на один килограмм массы тела животного в течение 14 дней (Способ экспериментального моделирования инсулинорезистентности: патент. Рег. № 1901282 от 15.02.2019). По окончании эксперимента у животных производят забор крови из краевых вен уха в гепариновые пробирки классическими методами. Для определения pH крови используют аппарат pH Marci-510 (Франция), а pH мочи — аппарат «pH-Биокан» (Санкт-Петербург). Определяют следующие гематологические показатели: HbA1c (с использованием набора «Глюкогенотест», Elta, Россия), гликемию (диагностические комплекты компании Vital, Санкт-Петербург). Определение концентрации общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности, липопротеинов высокой плотности в плазме крови проводят при помощи биохимических методов с использованием тест-наборов фирмы «Витал-Диагностикс» (Россия) на биохимическом анализаторе Stat Fax 1904 Plus (США). Показатели мочевой кислоты, креатинина, мочевины и остаточного азота крови, общего белка, альбумина, активность ферментов АлАТ и АсАТ, щелочной фосфатазы (ЩФ) определяют при помощи тест-наборов фирмы «ВиталДиагностикс» (Россия) на биохимическом анализаторе Stat Fax 1904 Plus (США).

По окончании эксперимента у всех кроликов определяют ИР путем подкожной инъекции 0,5 ЕД инсулина Actrapid Human на 1 кг массы тела животного и через 45 и 90 минут проверяют уровень гликемии. Определение толерантности к глюкозе проводят в/ж введением животным 2 г сахара на 1 кг массы тела, уровень гликемии проверяют через 60 и 180 минут.

Исследование pH крови и мочи по окончании 14-дневного эксперимента в группах животных, получавших лимонный сок, показало снижение данного показателя, т. е. имел место сдвиг кислотно-основного состояния в сторону ацидоза как в крови, так и в моче (табл. 56).

Таблица 56

Показатели pH крови и мочи у экспериментальных животных

Показатель		Уровни pH после в/ж применения лимонного сока					
		2 мл/кг			5 мл/кг		
		контроль	14 дней	степень достоверности	контроль	14 дней	степень достоверности
pH крови	Абс. знач.	7,46 ± 0,02	7,40 ± 0,03	p = 0,06	7,46 ± 0,02	7,0 ± 0,04	p = 0,06
	Δ%	–	–0,8	–	–	–6,2	–
pH мочи	Абс. знач.	7,3 ± 0,02	6,8 ± 0,04	p = 0,04	7,3 ± 0,02	6,06 ± 0,04	p = 0,04
	Δ%	–	–6,8	–	–	–16,9	–

Для изучения развития предиабетического состояния у животных после введения лимонного сока, предварительно анализировали два параметра: глюкозу крови и HbA1c.

По окончании 2 недель уровень глюкозы в крови увеличивается на 55,0 % у животных, получавших 2 мл/кг лимонного сока, а у кроликов, получавших 5 мл/кг лимонного сока — на 58,1 % по сравнению с контрольными показателями. Наблюдается также достоверное увеличение уровня HbA1c на 51,1 и 72,3 % у групп, получавших 2 мл/кг и 5 мл/кг лимонного сока соответственно. Описанные изменения свидетельствуют о развитии предиабетического состояния у опытных групп кроликов, получавших лимонный сок.

Результаты проведения теста на толерантность к глюкозе после приема лимонного сока и сахарной нагрузки представлены на рис. 21.

При сравнении результатов теста на толерантность к глюкозе у опытных животных с контрольными, данные которых принимались за 100 %, сегрегация толерантности по дозе и времени показала, что гликемия увеличилась до 128,5 % через 60 минут и до 117,4 % через 180 минут для животных, получавших 2 мл/кг лимонного сока. Для кроликов, которым вводили 5 мл/кг лимонного сока, через 60–180 минут этот показатель увеличился до 138,2 и 118,3 % соответственно.

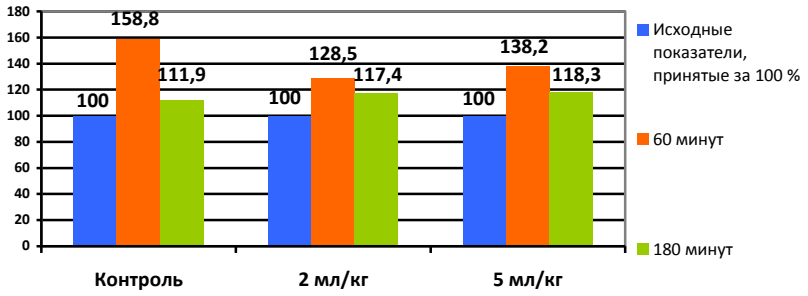


Рис. 21. Сравнительная характеристика результатов теста на толерантность к глюкозе, %

Объект — *бессмертник тяньшаньский.* Проведено экспериментальное изучение настоя 1 : 10 бессмертника тяньшаньского (*Helichrysum thianschanicum Regel.*, цветки и листья) у группы животных с ИР, экспериментально вызванной лимонным соком. Для выявления антидиабетических эффектов настоя цветков и листьев бессмертника тяньшаньского были изучены 3 группы экспериментальных кроликов обоих полов (всего 30), средней массой 1,8–2,0 кг: 1-я группа (n = 10) — контрольные животные, которые содержались в обычных условиях вивария на стандартном пищевом рационе (интактные). 2-я группа (n = 10) — опытная группа кроликов, которым на протяжении 14 дней ежедневно однократно в/ж вводили свежевыжатый лимонный сок в количестве 279 мл/кг массы тела (моделирование экспериментального предиабета); 3-я группа (n = 10) — опытная группа кроликов с экспериментальным предиабетом, которым на протяжении 14 дней ежедневно параллельно с 2 мл лимонного сока в/ж вводили настой (1 : 10) бессмертника по 2 мл на 1 кг массы тела.

Полученные в ходе исследования результаты показали, что введение в течение 14 дней настоя бессмертника экспериментальным животным с моделью предиабета, вызванного лимонным соком, приводило к повышению pH крови на 5,2 %; статистически значимому снижению уровня глюкозы в крови на 19,1 % по сравнению с группой животных, получавших только лимонный сок ($p < 0,05$). При этом уровень глюкозы у животных, которым вводили настой бессмертника, статистически значимо не отличался от уровня глюкозы у интактных животных (табл. 57).

Таблица 57

Сравнительный анализ лабораторных показателей у животных при введении настоя бессмертника на протяжении 14 дней

Показатель	Группа животных					P_{2vs1}	P_{3vs1}	P_{3vs2}
	1-я — интактный контроль	2-я — экспериментальный предиабет		3-я — экспериментальный предиабет + настой бессмертника				
		Абс.	Δ%	Абс.	Δ%			
pH крови	7,3 ± 0,01	7,0 ± 0,04	–4,1	7,36 ± 0,04	+5,2	p < 0,05	н/д	н/д
Глюкоза, ммоль/л	5,0 ± 0,2	6,8 ± 0,1	+36	5,2 ± 0,2	–19,1	p < 0,01	н/д	p < 0,05
HbA1c, %	4,3 ± 0,1	7,5 ± 0,2	+74,4	6,3 ± 0,3	–2,7	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,05

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Байрашева, В. К.* Моделирование сахарного диабета и диабетической нефропатии в эксперименте [Электронный ресурс] / В. К. Байрашева // Соврем. пробл. науки и образования. 2015. № 4. Режим доступа: https://science-education.ru/ru/article/view?id=21024. Дата доступа: 13.04.2023.
2. *Беляевский, А. Д.* Сахарный диабет: современные аспекты в патогенезе и в подходах к интенсивной терапии / А. Д. Беляевский, А. А. Лагутина, Н. П. Милютина // Вестн. интенсив. терапии. 2003. № 1. С. 3–9.
3. *Гурина, Н. С.* Исследование гипогликемической активности настоя девясила цветков *Inulae helenii flores* на модели аллоксан-индуцированного сахарного диабета у крыс / Н. С. Гурина, Ж. М. Дергачева // Рецепт (Recipe). 2012. № 2. С. 80–89.
4. *Дымбрылова, О. Н.* Влияние экстрактов крапивы двудомной и лопуха большого на метаболические процессы и функциональное состояние эритроцитов при экспериментальном сахарном диабете : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.03.06 / О. Н. Дымбрылова ; НИИ фармакологии и регенератив. медицины им. Е. Д. Гольдберга. Томск, 2016. 23 с.
5. *Еременко, Р. Ф.* Экспериментальное исследование гипогликемической активности экстракта из травы люцерны посевной / Р. Ф. Еременко, Л. Н. Малоштан, Е. Ю. Яценко // Казан. мед. журн. 2014. Т. 95, № 4. С. 557–561.
6. *Ковалёва, М. А.* Фармакология хинонов природного происхождения, оцененная в экспериментальных моделях нарушений углеводного и липидного обмена : дис. … канд. биол. наук : 14.03.06 ; 03.01.04 / М. А. Ковалёва. Санкт-Петербург, 2015. 133 с.
7. *Мамедов, М. Н.* Этапы развития сахарного диабета: в каких случаях принимать антигипергликемический препарат акарбозу / М. Н. Мамедов // Клин. фармакология и терапия. 2006. № 4. С. 15–20.
8. *Можейко, Л. А.* Экспериментальные модели изучения сахарного диабета. В 2 ч. Ч. I. Аллоксановый диабет / Л. А. Можейко // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. 2013. № 3. С. 26–29.

9. *Можейко, Л. А.* Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. В 2 ч. Ч. II. Хирургический, стрептозотоциновый и дитизоновый диабет / Л. А. Можейко // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. 2013. № 4. С. 5–10.

10. *Рыбак, В. А.* Изучение гипогликемической активности густого экстракта фасоли на модели дитизонового диабета [Электронный ресурс] / В. А. Рыбак, Л. М. Малоштан // Медицина и образование в Сибири. 2014. № 3. Режим доступа: https://mos.ngmu.ru/article/pdf.php?id=1441. Дата доступа: 13.04.2023.

11. *Чекина, Н. А.* Сахарный диабет: возможности фармакотерапии с использованием средств растительного происхождения / Н. А. Чекина, С. А. Чукаев, С. М. Николаев // Вестн. Бурят. ун-та. 2001. № 12. С. 71–78.

12. *Шарафова, М. У.* Экспериментальное изучение лекарственных растений, применяемых в медицинской системе Авиценны для лечения диабета : дис. … д-ра мед. наук : 14.03.06 / М. У. Шарафова. Москва, 2019. 242 с.

13. *Comparative* studies on the hypoglycemic and antioxidant activities of Vernonia amygdalina delile and Baccharoides tenoreana olive in alloxan-induce hyperglycemic rats [Electronic resource] / S. C. Attama [et al.] // Clin. Phytosci. 2021. Vol. 7. Art. № 91. Mode of access: https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-021-00330-z. Date of access: 13.04.2023.

14. *Idu, M. D.* Anti-diabetic effect of Stachytarpheta jamaicensis on low dose streptozotocin-induced diabetic rats fed on a high-fat diet [Electronic resource] / M. D. Idu, O.-O. Edehia, B. O. Gabriel // Clin. Phytosci. 2021. Vol. 7. Art. № 95. Mode of access: https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-021-00326-9. Date of access: 13.04.2023.

15. *Protective* role of Pandanus tectorius Parkinson ex Du Roi in diabetes, hyperlipidemia, liver and kidney dysfunction in alloxan diabetic rats [Electronic resource] / S. Sundus [et al.] // Clin. Phytosci. 2021. Vol. 7. Art. № 48. Mode of access: https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-021-00279-z. Date of access: 13.04.2023.

2.5. ИЗУЧЕНИЕ ЖАРОПОНИЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

2.5.1. Пирогеналовая модель

Для исследования жаропонижающего действия на модели пирогеналовой лихорадки крыс у лабораторных животных определяют исходную ректальную температуру, далее через 0,5 часа осуществляют внутримышечное введение пирогенала в дозе 100 мкг/кг. Исследуемые препараты вводят через 15 минут после инъекции пирогенала. Ректальную температуру у животных регистрируют за полчаса до введения пирогена, а также до через 1, 2, 3, 4 и 24 часа после него. В качестве препарата сравнения можно использовать аспирин, который вводят в/ж в дозе 50 мг/кг.

Объекты — *ромашка аптечная, малина обыкновенная, солодка уральская.* Жаропонижающее действие водных извлечений цветков ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla L.*), цветков малины обыкновенной (*Rubus idaeus L.*), корневища солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*) и их смеси изучали на модели пирогеналовой лихорадки. Эксперименты выполнены на белых неинбредных крысах массой 180 ± 20 г. В каждую экспериментальную группу входило по 6 животных. Водные экстракты биологически активных веществ растительных объектов получали, заливая 5 г измельченного растительного сырья кипящей дистиллированной водой в соотношении 1 : 10 и настаивая в течение 15 минут. Экстракты в дозах 10 мл/кг вводили через зонд в желудок подопытных животных. Результаты исследования представлены на рис. 22.

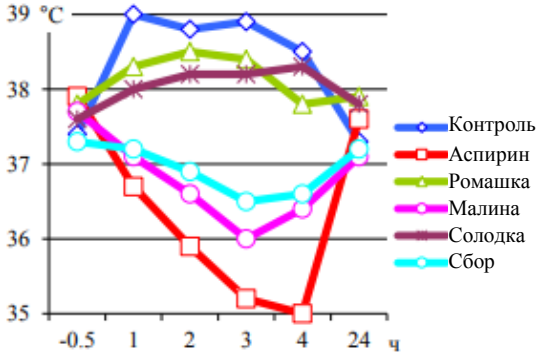


Рис. 22. Антипиретическая активность растительных объектов

Исходная температура тела подопытных животных находилась в пределах физиологической нормы и составляла 37–38 °С. У контрольных крыс, которые получали только пирогенал, она существенно увеличивалась, приближаясь к 39 °С, затем постепенно снижалась, достигая нормальных значений только через сутки после начала опыта.

Ацетилсалициловая кислота показала самую высокую антипиретическую активность ($p < 0,001$). Она существенно снижала температуру тела животных, которая к 4-му часу эксперимента достигала 35 °С. Из растительных объектов наибольшим жаропонижающим действием, сопоставимым с действием ацетилсалициловой кислоты, обладало извлечение из цветков малины. Экстракт растительного

сбора, включающий в равных долях цветки ромашки, малины и корневище солодки, продемонстрировал несколько меньшую, но сопоставимую с экстрактом цветков малины антипиретическую активность. Преимущество растительного сбора перед другими растительными объектами и аспирином выражалось в мягком антипиретическом действии: предотвращении повышения температуры, сохранении ее значений практически в пределах нормы (отсутствовали ее резкие снижения, характерные для ацетилсалициловой кислоты и малины).

Экстракты из цветков ромашки и корневища солодки также *статистически* значимо препятствовали наступлению пирогенной реакции ($p < 0,05$).

2.5.2. Лихорадка, индуцированная дрожжами

Перед введением дрожжей у животных проводят измерение базального уровня ректальной температуры (Т нач.), сразу после чего в область между лопаток подкожно вводят предварительно разогретую на водяной бане до 37 °С 20%-ную суспензию пивных дрожжей (10 мл/кг). Важное значение имеет нагревание дрожжевой взвеси, поскольку без нагревания гипертермия отмечается не ранее чем через 16–18 часов. Через 6 часов и далее каждый час после инъекции дрожжей проводят измерение ректальной температуры для определения динамики лихорадки. Через 8 часов отмечается пик лихорадки (Т макс.), в дальнейший эксперимент включают животных, у которых температура повышается более чем на 0,5 °С. На высоте лихорадки (т. е. через 8 часов после применения дрожжей) подкожно в область между лопаток вводят исследуемые средства. Для оценки динамики действия исследуемых средств проводят измерения температуры через 1 час (Т1ч), 2 часа (Т2ч), 3 часа (Т3ч).

2.5.3. Лихорадка, индуцированная раствором формалина

С помощью формалиновой модели воспаления можно изучать жаропонижающее действие параллельно с противовоспалительной активности. В качестве пирогенного агента используют 0,1 мл 3%-ного раствора формалина, который вводят субплантарно в лапу крысы. Исследуемые растительные объекты вводят внутримышечно после применения формалина однократно. Через 1, 2, 3 и 24 часа после введения пирогенного агента производят ректальное измерение температуры.

Объект — *авран лекарственный*. Исследование жаропонижающей активности водного раствора сухого экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis D.*) проводили с использованием формалиновой модели лихорадки.

Животные были разделены на 3 группы по 10 крыс в каждой: 1-я — контрольная группа без лечения; 2-я — группа сравнения, в которой крысам однократно сразу после введения формалина внутримышечно вводили раствор диклофенака натрия (в качестве стандартного противовоспалительного агента) в дозе 3 мг/кг; 3-я — опытная, в которой животным однократно внутримышечно вводили водный раствор упаренного экстракта аврана лекарственного в дозе 70 мг/кг. Через 1, 2, 3 и 24 часа после введения пирогенного агента ректально измеряли температуру.

На рис. 23 представлены кривые изменения температур экспериментальных групп. Установлено, что средняя ректальная температура у крыс до начала эксперимента составляла 35,0 ± 0,5 °С, что соответствует параметрам средней видовой нормы. В контрольной группе на фоне введения пирогенного агента температура начала повышаться, через 2 часа достигла максимума (38 °С) и сохранялась повышенной до 24 часов. В группе сравнения на фоне введения пирогенного агента и диклофенака натрия температура изменялась зигзагообразно: максимальное снижение наблюдалось через 1 час после начала эксперимента, затем через 2 часа она повышалась, достигая практически нормальных цифр, после чего вновь наблюдалось снижение температуры с постепенным восстановлением исходных значений к концу эксперимента.

Рис. 23. Сравнение жаропонижающего эффекта экстракта аврана лекарственного и диклофенака

В опытной группе на фоне введения пирогенного агента и водного раствора экстракта аврана температура животных в течение первых 2 часов не изменялась, через 3 часа происходило достоверное снижение температуры до значений, сопоставимых с теми же показателями при введении диклофенака. Дальнейшая динамика температуры была аналогичной изменению температуры в группе животных при введении диклофенака натрия.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Башкатов, С. А.* Биологическая активность водных экстрактов цветков ромашки, малины, корневищ солодки и их сочетания / С. А. Башкатов, Е. И. Новоселова, Р. Г. Фархутдинов // Вестн. Башкир. ун-та. 2017. Т. 19, № 4. С. 1212–1215.
2. *Василюк, А. А.* Исследование жаропонижающей активности новых производных пиперидина на модели дрожжиндуцированной лихорадки [Электронный ресурс] / А. А. Василюк // Фундаментальная наука в современной медицине – 2021 : сб. материалов сател. дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых / под ред. С. П. Рубниковича [и др.]. Минск, 2021. С. 365–369. 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
3. *Волчек, А. В.* Фармакологические свойства N-ацетил-L-пролина : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.03.06 / А. В. Волчек ; Белорус. гос. мед. ун-т. Минск, 2012. 21 с.
4. *Кутаев, Е. М.* Исследование жаропонижающей активности водно-спиртовых извлечений из некоторых представителей семейства Грушанковых / Е. М. Кутаев // Вестн. ИрГСХА. 2016. Вып. 74. С. 83–88.
5. *Исследования* по разработке комбинированных суппозиториев жаропонижающего действия с парацетамолом / Т. В. Орлова [и др.] // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». 2013. № 2. С. 112–116.
6. *Противовоспалительная*, жаропонижающая и антимикробная активность флаваноидсодержащего экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis L.*) / Н. В. Полуконова [и др.] // Эксперим. и клин. фармакология. 2015. Т. 78, № 1. С. 34–38.
7. *Baker* yeast-induced fever in young rats: Characterization and validation of an animal model for antipyretics screening / J. Tomazetti [et al.] // J. of Neurosci. Methods. 2005. Vol. 147, Is. 1. P. 29–35.

2.6. ИЗУЧЕНИЕ АНАЛЬГЕЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

Согласно формулировкам международного комитета экспертов, боль — это неприятное сенсорное и эмоциональное переживание, связанное с истинным или потенциальным повреждением ткани или описываемое в терминах такого повреждения. Боль может быть классифицирована различными способами.

По локализации боли бывают:

– соматические поверхностные (в случае повреждения кожных покровов);

– соматические глубокие (при повреждении костно-мышечной системы);

– висцеральные (при повреждении внутренних органов).

По месту повреждения структур нервной системы выделяют боли:

– нейропатические, возникающие при повреждении периферических нервов;

– центральные, возникающие при повреждении структур ЦНС.

При несовпадении боли с местом повреждения возникают боли:

– проецируемые (например, при сдавливании спинномозговых корешков, боль проецируется в иннервируемые ими области тела);

– отраженные (возникают вследствие повреждения внутренних органов и локализуются в отдаленных поверхностных участках тела, т. е. боль отражается на соответствующем дерматоме по отношению к кожной поверхности).

По временным характеристикам боль бывает:

– острая (новая, недавняя боль, неразрывно связанная с вызвавшим ее повреждением и, как правило, являющаяся симптомом какого-либо заболевания; исчезает при устранении повреждения);

– хроническая (продолжается длительный период времени даже после устранения причины, ее вызвавшей, часто приобретает статус самостоятельной болезни, например воспалительный процесс).

2.6.1. Модель «уксусных корчей»

«Уксусные корчи» (спастические сокращения мышц живота) вызывают внутрибрюшинным введением 1%-ного раствора уксусной кислоты крысам в дозе 0,5 мл/100 г. Введение исследуемых препаратов осуществляют за 30 минут до инъекции уксусной кислоты. Подсчет числа корчей проводят спустя 15 минут после инъекции уксусной кислоты в течение 30 минут. Анальгетическую активность препаратов оценивают по уменьшению количества корчей у животных в экспериментальных группах по сравнению с контрольной и выражают в процентах. В качестве препарата сравнения используют анальгин в/ж 50 мг/кг.

Объекты — *ромашка аптечная, малина обыкновенная, солодка уральская.* Изучено анальгезирующее действие водных извлечений цветков ромашки, цветков малины, корневища солодки и их смеси в равных соотношениях. Водные экстракты из растительных объектов получали, заливая 5 г измельченного растительного сырья кипящей дистиллированной водой в соотношении 1 : 10 и настаивая в течение 15 минут. Экстракты в дозах 10 мл/кг вводили через зонд в желудок подопытных животных (крыс). Эффективность оценивали по двум показателям: время наступления болевого синдрома и количество его проявлений. Результаты исследований представлены в табл. 58.

Таблица 58

Исследование анальгезирующего действия ромашки аптечной, малины обыкновенной, солодки уральской

Группа животных	Время наступления болевого синдрома, мин	Количество корчей
1-я — контроль	4,4 ± 0,3*	31,7 ± 3,7*
2-я — анальгин	9,4 ± 0,5**	12,0 ± 3,1**
3-я — цветки ромашки	7,3 ± 0,4*/**	18,5 ± 4,6**
4-я — цветки малины	4,8 ± 0,5*	28,7 ± 2,9*
5-я — корневище солодки	6,3 ± 0,6*/**	22,0 ± 5,4*/**
6-я — смесь (ромашка, малина и солодка)	6,7 ± 0,5*/**	20,1 ± 6,9*/**

Примечания. * Различия статистически достоверны по сравнению с группой, леченой анальгином. ** Различия статистически достоверны по сравнению с контрольной группой.

В контрольной (нелеченой) группе болевой синдром отмечался через 4,4 минуты после введения уксусной кислоты. Применение препарата сравнения анальгина задерживало развитие болевого синдрома до 9,4 минуты (в 2,1 раза, $p < 0,001$). В группе, получавшей экстракт цветков ромашки, корчи развивались через 7,3 минуты (задержка в 1,7 раза, $p < 0,001$), после применения цветков малины — через 5,2 минуты ($p > 0,05$); корневищ солодки — через 6,3 минуты (в 1,4 раза, $p < 0,001$); смеси растительных объектов — через 6,7 минуты (в 1,5 раза, $p < 0,001$). Таким образом, во всех экспериментальных группах, кроме той, в которой использовали цветки малины, наблюдался анальгезирующий эффект, наиболее выраженный у анальгина (на 30 % выше, чем у цветков ромашки, $p < 0,001$) (табл. 58).

При оценке количества болевых проявлений были получены результаты, согласующиеся с показателем времени наступления болевого синдрома. Введение анальгина уменьшало количество корчей в 2,6 раза ($p < 0,001$). Цветки ромашки, корневище солодки и сбор, включающий все использованные растительные объекты, снижали этот показатель соответственно в 1,7 раза ($p < 0,001$), в 1,4 раза ($p < 0,01$) и в 1,6 раза ($p < 0, 01$); цветки малины на него не влияли ($p > 0,05$).

2.6.2. Тест термоболевой чувствительности

Анальгетическую активность при термоболевом раздражении изучают в опытах на мышах в тесте «отдергивания хвоста». Хвост животных погружают в горячую воду с температурой 48 ± 0,1 °С. Болевую чувствительность оценивают по латентному периоду отдергивания хвоста в секундах. Субстанции назначают за 30–40 минут до проведения теста.

2.6.3. Модель экспериментальной воспалительной гипералгезии

Вариант 1. Воспалительную гипералгезию у крыс вызывают субплантарным введением 0,1 мл 0,1%-ного раствора трипсина (L. Randall, 1957). Анальгезирующий эффект оценивают по увеличению болевого порога, определяемого по реакции при дозированном сдавлении лапы. Измерение проводят с помощью анальгезиметра, который должен обеспечивать плавное увеличение нагрузки на воспаленную лапу до появления болевой реакции (оцениваемой по писку животного).

Вариант 2. Воспалительную гипералгезию вызывают каррагенаном (0,1 мл 1%-ного раствора вводят субплантарно) и оценивают снижение порога болевой чувствительности (по его разности) на механическое раздражение тканей лапы животного до введения каррагенана и через 3 часа после него. Измерение проводят по воспаленной лапе. Наряду с этим, оценка порога болевой чувствительности на интактной лапе может служить дополнительным контролем и позволяет выявить анальгезию центрального происхождения. Измерение проводят с помощью анальгезиметра, который должен обеспечивать плавное увеличение нагрузки на воспаленную лапу до

появления болевой реакции (оцениваемой по писку животного). Исследуемые препараты вводят через 2 часа после введения каррагенана. Анальгетический эффект оценивают по снижению гипералгезии через 1 час после в/ж введения препарата. Критерий эффективности — снижение гипералгезии не меньше чем на 50 %. При изучении продолжительности действия исследуемого вещества порог болевой чувствительности регистрируют каждый час.

2.6.4. «Капсаициновый тест»

Животным вводят тестируемый и/или контрольный объект. Через 15 минут вводят 10 мкл раствора капсаицина (3 мкг в 10 мкл 10%-ного этанола, растворенного в 0,9%-ном NaCl) интраплантарно в подушечку левой задней лапы. После введения лапу протирают этанолом для предотвращения накожного раздражения капсаицином. После введения отмечают время (латентный период), которое пройдет до начала реакции (мышь начнет сильно трясти лапой и облизывать ее). Далее регистрируют количество паттернов облизывания и суммарное время облизывания лапы в течение 15 минут.

2.6.5. Тест «Горячая пластина»

Тест «Горячая пластина» (hot plate) является базисным для исследования анальгетической активности и используется для выявления анальгетически активных соединений, подавляющих как соматическую поверхностную, так и острую боль.

После помещения на горячую поверхность при достижении порога болевой чувствительности со стороны животного наблюдаются двигательные реакции беспокойства: одергивание лап, облизывание подушечек лап и подпрыгивание. В данном тесте учитывают латентное время с момента помещения животного на горячую поверхность до 1-го облизывания передних и затем задних лап, а также латентное время 1-го подпрыгивания (любой попытки оторвать от поверхности одновременно все 4 лапы). Данная методика позволяет определять следующие показатели: анальгетическая активность тестируемого объекта, пиковое время анальгезии, длительность анальгезии.

До начала испытания в течение 10 минут тест-системы акклиматизируются в комнате для проведения исследования. В данном

эксперименте следует использовать животных однократно, так как повторное помещение животного на термостатируемую пластину вызывает незамедлительную реакцию при касании поверхности. Каждая группа должна содержать не менее 10–12 животных. Термостат анальгезиометра устанавливают на температуру 55 °С. После инъекции исследуемого вещества животное аккуратно помещают на нагревательную пластину и в тот же момент нажимают кнопку «старт» на панели прибора. Отмечают латентное время облизывания передних и задних лап (с момента помещения животного на поверхность прибора до 1-го облизывания) и латентное время 1-го подпрыгивания. После этого нажимают на кнопку «стоп» и животное убирают с горячей поверхности. При этом остальные поведенческие реакции игнорируют. Для уменьшения вероятности теплового повреждения подушечек лап максимальное время эксперимента не должно превышать 60 секунд. Если животное не проявило активности в течение 60-секундного интервала, то его убирают с горячей поверхности, а за латентное время подпрыгивания принимают 60 секунд.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Башкатов, С. А.* Биологическая активность водных экстрактов цветков ромашки, малины, корневищ солодки и их сочетания / С. А. Башкатов, Е. И. Новоселова, Р. Г. Фархутдинов // Вестн. Башкир. ун-та. 2014. Т. 19, № 4. С. 1212–1215.
2. *Волчек, А. В.* Фармакологические свойства N-ацетил-L-пролина : автореф. … дис. канд. мед. наук / А. В. Волчек. Минск, 2012. 21 с.
3. *Додонова, С. А.* Изменение температурной болевой чувствительности у крыс после введения N-концевых аналогов адренокортикотропного гормона / С. А. Додонова // Вестник РГМУ. 2019. № 6. С. 35–39.
4. *In vivo* модели для изучения анальгетической активности / Д. А. Бондаренко [и др.] //Биомедицина. 2011. № 2. С. 84–94.
5. *Экспериментальное* исследование анальгетической активности экстракта аконита / С. Г. Кузнецова [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. 2014. № 2. С. 38–40.
6. *Чайка, А. В.* Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах / А. В. Чайка, И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». 2015. Т. 1 (67). № 1. С. 161–173.

2.7. ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ

Печень выполняет в организме многообразные функции, важнейшими из которых являются барьерная, гомеостатическая, синтетическая, обезвреживающая, депонирующая, метаболическая, экскреторная. При заболеваниях печени, особенно инфекционного и токсического генеза, развиваются значительные нарушения метаболизма, иммунного ответа, детоксикации и антимикробной защиты. Кроме того, большинство лекарственных веществ метаболизируется в печени, располагающей для этого набором универсальных ферментных систем.

Патология печени во всем мире занимает существенное место среди причин заболеваемости, снижения трудоспособности, а также смертности. К заболеваниям печени относятся:

– инфекционные заболевания: вирусные гепатиты и циррозы (в том числе гепатиты В и С);

– аутоиммунные заболевания (аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит);

– алкогольные поражения (стеатоз, стеатогепатит, гепатит, фиброз, цирроз);

– токсические поражения печени (в том числе лекарственные, профессиональные и др.);

– патология печени при обменных нарушениях (в том числе жировая болезнь печени — стеатоз и стеатогепатит);

– болезни накопления (гемохроматоз, болезнь Вильсона);

– гельминтозы печени;

– доброкачественные и злокачественные опухоли.

Большинство из хронических заболеваний печени на протяжении многих лет практически бессимптомны, проявляются исключительно повышенной утомляемостью. При многих из них только на поздних стадиях болезни возникает яркая клиническая картина: боли, желтуха, отечно-асцитический синдром, тяжелые обменные нарушения и др.

Гепатопротекторы (от лат. hepar — печень и protecto — защищать) — фармакотерапевтическая группа разнородных лекарственных средств, которые, как предполагается, препятствуют разрушению клеточных мембран и стимулируют регенерацию гепатоцитов, тем самым оказывая положительное влияние на функции печени.

Классификация гепатопротекторов:

I. *Средства растительного происхождения.*

1. Средства, содержащие извлечения из расторопши. Действующим веществом таких лекарств является флавоноид силимарин. Препараты-гепатопротекторы из данной группы применяются преимущественно в комплексном лечении алкогольной и неалкогольной жировой болезни печени.

2. Средства, содержащие извлечения из солодки. Такие лекарства содержат глицирризиновую кислоту, обладающую антифибротической, антиоксидантной, антистеатозной и противовоспалительной активностью. Средства могут применяться при жировой дегенерации печени (гепатозе), ее токсическом, алкогольном и лекарственном поражении. К данной группе относится препарат-гепатопротектор Фосфоглив.

3. Средства, содержащие извлечения из других растений. Активным компонентом таких лекарств может быть экстракт листьев артишока и др. Данные препараты обладают плейотропными (множественными) свойствами. Врач может назначить гепатопротектор из этой группы в случае, когда поражению печени сопутствует дискинезия желчевыводящих путей.

II. *Средства животного происхождения*. Для изготовления таких гепатопротекторных препаратов используют гидролизат печени свиней и крупного рогатого скота. Данные средства применяются сравнительно редко из-за недостаточной доказательной базы.

III. *Препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды*. Такие гепатопротекторы производятся из соевых бобов. Их активным компонентом служит фосфатидилхолин, который является структурным элементом мембран функциональных клеток печени. Фосфолипиды способствуют восстановлению гепатоцитов, препятствуют их разрушению. Любой гепатопротекторный препарат для печени из этой группы для достижения эффекта должен применяться курсом в адекватно высоких дозах.

IV. *Средства с детоксицирующим действием*. Такие препараты, прежде всего, снижают связанное с поражением печени отравляющее воздействие на организм:

1. Средства с прямым детоксицирующим действием. Стимулируют обмен аммиака в головном мозге и в печени, за счет этого помогают уменьшить проявления печеночной энцефалопатии.

2. Средства с непрямым детоксицирующим действием. Снижают образование вредных продуктов метаболизма, стимулируют синтез веществ, которые оказывают детоксицирующее действие или ускоряют обмен опасных ядов.

V. Средства на основе желчных кислот. Содержат урсодезоксихолевую или обетихолевую кислоту и обладают широким спектром действия. Применение таких лекарств-гепатопротекторов обеспечивает иммуномодулирующий, антифибротический, цитопротективный и другие эффекты.

VI. Средства разных групп. К ним относятся препараты на основе α-липоевой кислоты и тиотриазолина.

2.7.1. Модель повреждения печени парацетамолом

Токсическое поражение печени моделируют у крыс-самцов массой 200–250 г путем в/ж введения парацетамола в крахмальной слизи. Исследуемые препараты вводят в течение 3 суток однократно; на 4-е и 5-е сутки в/ж вводят парацетамол в дозе 200 мг/кг; на 7-е сутки после применения парацетамола животных выводят из эксперимента. Перед декапитацией животных лишают корма на 12 часов, забор материала проводят в утренние часы.

Оценку гепатопротекторной активности проводят на основе биохимических показателей (АлАТ, билирубин, мочевина, белковые фракции, матриксные металлопротеиназы-2,7 (ММП-2,7)) и морфологических данных печени. Активность ММП-2,7 в образцах сыворотки крови определяют с помощью флуоресцентного субстрата (Calbiochem, США) по методу Nagase et al. Содержание белковых фракций в сыворотке крови крыс оценивают методом электрофореза на ацетат-целлюлозных пленках, содержание общего белка — биуретовым методом. Концентрацию билирубина, мочевины, АлАТ определяют с использованием наборов PLIVA-Lachema Diagnosticum (Чехия).

Объекты — *береза повислая, береза пушистая*. Модель повреждения печени парацетамолом использовали для изучения фармакологической активности сухого экстракта коры березы, который животные получали в дозе 100 мг/кг в течение 3 суток до введения парацетамола. В результате проведенного исследования установлено, что на 7-е сутки после введения парацетамола снижалось содержание альбумина ($48{,}82 \pm 0{,}97 – 41{,}81 \pm 0{,}87$, $p < 0{,}05$).

На фоне профилактического введения Карсила (сухой экстракт плодов расторопши пятнистой) и экстракта коры березы концентрация альбумина в сыворотке крови повышалась (парацетамол — 41,81 ± 0,87; Карсил + парацетамол — 46,06 ± 0,93, $p < 0,01$, экстракт коры березы + парацетамол — 44,19 ± 0,8, $p < 0,01$). В отличие от группы крыс, которым вводили Карсил, профилактическое применение экстракта коры березы не сопровождается снижением содержания в сыворотке γ-глобулина (Карсил + парацетамол — 9,9 ± 0,55; экстракт коры березы + парацетамол — 11,1 ± 0,79; $p < 0,05$).

При введении парацетамола активность АлАТ в сыворотке повышалась в 4,2 раза по сравнению с группой контроля (2,31 ± 0,29 и 0,55 ± 0,05 ммоль/л·ч, $p < 0,05$ соответственно), содержание прямого билирубина увеличивалось на 63 %, мочевины — на 22,3 % по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

На фоне профилактического введения Карсила активность АлАТ снижалась в 2 раза, содержание мочевины — в 1,4 раза, концентрация прямого билирубина оставалась повышенной. Профилактическое введение экстракта коры березы приводило к снижению активности АлАТ в сыворотке в 2,2 раза, содержание прямого билирубина — в 3,4 раза, мочевины — в 1,6 раза.

Активность в сыворотке ММП-2,7 при введении парацетамола возрастала до 259,7 ± 14,7 мкмоль/л·ч по сравнению с контролем (190,4 ± 11,35 мкмоль/л·ч; $p < 0,001$). На фоне профилактического введения Карсила парацетамол не вызывал достоверных изменений активности ММП-2,7 (контроль — 190,4 ± 11,35 мкмоль/л·ч; Карсил + парацетамол — 180,9 ± 7,22 мкмоль/л·ч, $p > 0,05$). Профилактическое введение экстракта коры березы сопровождалось дальнейшим снижением активности ММП-2,7 (контроль — 190,4 ± 11,35 мкмоль/л·ч; МХИБЭ20 + парацетамол — 171,0 ± 2,77 мкмоль/л·ч).

Объекты — *репейничек волосистый, лопух войлочный*. Изучали гепатопротекторную активность экстрактов репейничка волосистого (*Agrimonia pilosa*) — ЭР и листьев и корней лопуха войлочного (*Arctium tomentosum*) — ЭЛЛ и ЭКЛ соответственно, которые получали из воздушно-сухого сырья этанолом различной концентрации исчерпывающей экстракцией при нагревании на водяной бане. Экстрагент удаляли при щадящем температурном режиме. Парацетамол (Верофарм) вводили в/ж в крахмальной слизи двукратно в дозе 2 г/кг массы тела животного. Контрольной группе

животных вместо парацетамола вводили крахмальную слизь. Сухие экстракты в крахмальной слизи вводили в/ж в дозе 100 мг/кг в течение 3 дней предварительно перед введением парацетамола. В качестве препарата сравнения использовали Карсил (Sopharma), который вводили животным в/ж в дозе 100 мг/кг в течение 3 дней перед введением парацетамола. Материал для исследования забирали через сутки после введения парацетамола.

Исследовали сыворотку крови крыс. Белковые фракции оценивали методом электрофореза на ацетатцеллюлозных пленках, содержание общего белка определяли биуретовым методом. Концентрацию общего и прямого билирубина, мочевины и активность АлАТ определяли с использованием наборов PLIVA-Lachema Diagnosticum (Чехия), активность ММП-2,7 — по методу Nagase et al. с использованием флуоресцентного субстрата (Calbiochem, США).

Печень экспериментальных животных фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Для гистологической обработки вырезали из большой доли печени образцы толщиной 3–5 мм, которые подвергали стандартной обработке на гистологическом комплексе MICROM (Carl Zeiss, Германия). Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и 10%-ным раствором эозина. В печени подсчитывали объемную плотность, количество дистрофически и некротически измененных гепатоцитов, инфильтратов, численную плотность двуядерных гепатоцитов.

Предварительное введение Карсила сохраняло содержание альбуминов в норме, при этом α1-, α2-, β1-глобулины оставались повышенными. Введение ЭР сохраняло долю альбуминов и β2-глобулинов в норме. Однако α1-, α2-глобулины остались повышенными по сравнению с группой интактных животных. Предварительное введение ЭЛЛ и ЭКЛ сохраняло процентное содержание альбуминов на уровне нормальных значений. Было отмечено, что ни Карсил, ни один из растительных экстрактов не уменьшал действие парацетамола на γ-глобулины, они оставались сниженными по сравнению с группой интактных животных (табл. 59).

Введение парацетамола повышало активность АлАТ в сыворотке в 4,2 раза по сравнению с контрольной группой (2,31 ± 0,29 и 0,55 ± 0,05 ммоль/л·ч соответственно; $p < 0,05$); при этом увеличивалась концентрация прямого билирубина от 2,46 ± 0,22 до 4,01 ± 0,71 мкмоль/л. На фоне предварительного введения Карсила

активность АлАТ в сыворотке крови составила 1,05 ± 0,16 ммоль/л·ч, что в два раза ниже ($p < 0,05$) по сравнению с группой, получавшей парацетамол. Подобным действием обладал ЭЛЛ (1,03 ± 0,25 и 1,39 ± 0,21 ммоль/л·ч соответственно; $p < 0,05$). При введении как экстрактов, так и Карсила не наблюдалось снижение прямого билирубина до контрольного уровня.

Таблица 59

Процентное содержание белковых фракций в сыворотке крови крыс различных экспериментальных групп

Группа животных	Альбумины, %	Глобулины, %				
		α1	α2	β1	β2	γ
1-я — интактные (n = 20)	48,8 ± 0,97	11,3 ± 0,54	5,5 ± 0,31	5,9 ± 0,33	15,3 ± 0,33	13,2 ± 0,57
2-я — парацетамол (n = 6)	41,8 ± 0,87 $p_{1-2} < 0,001$	16,6 ± 0,88 $p_{1-2} < 0,001$	7,5 ± 0,81 $p_{1-2} < 0,05$	6,1 ± 0,6	17,3 ± 0,74 $p_{1-2} < 0,05$	10,7 ± 0,58 $p_{1-2} < 0,001$
3-я — парацетамол + Карсил (n = 6)	46,1 ± 0,93 $p_{2-3} < 0,01$	15,1 ± 1,25 $p_{1-3} < 0,01$	7,7 ± 0,55 $p_{1-3} < 0,05$	8,4 ± 1,2 $p_{1-3} < 0,05$	14,0 ± 0,92 $p_{2-3} < 0,05$	9,9 ± 0,55 $p_{1-3} < 0,001$
4-я — парацетамол + ЭР (n = 7)	46,8 ± 1,53 $p_{2-4} < 0,01$	13,5 ± 0,86 $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$	9,2 ± 0,53 $p_{1-4} < 0,001$	6,6 ± 0,47	14,9 ± 0,82 $p_{2-4} < 0,05$	9,3 ± 0,61 $p_{1-4} < 0,001$
5-я — парацетамол +ЭЛЛ (n = 9)	50,1 ± 0,59 $p_{2-5} < 0,001$	12,6 ± 0,36 $p_{2-5} < 0,001$	8,6 ± 0,62 $p_{1-5} < 0,001$	5,0 ± 0,19 $p_{1-5} < 0,05$	14,1 ± 0,47 $p_{2-5} < 0,01$	9,7 ± 0,49 $p_{1-5} < 0,001$
6-я — парацетамол + ЭКЛ (n = 9)	46,0 ± 1,2 $p_{2-6} < 0,01$	13,2 ± 0,54 $p_{1-6} < 0,05$ $p_{2-6} < 0,01$	8,2 ± 0,79 $p_{1-6} < 0,01$	5,9 ± 0,31	16,2 ± 0,83	10,5 ± 0,99 $p_{1-6} < 0,05$

При предварительном введении ЭР и ЭКЛ активность АлАТ оставалась на высоком уровне (2,08 ± 0,19 и 2,12 ± 0,21 ммоль/ч·л соответственно); концентрация общего билирубина выросла за счет прямого билирубина по сравнению с контрольными значениями (7,12 ± 0,82; 9,12 ± 2,17 и 2,46 ± 0,22 мкмоль/л соответственно; $p < 0,05$). Определение мочевины в сыворотке крови не выявило достоверных изменений в исследуемых группах животных. Активность ММП контрольной группы составила 190,4 ± 11,35 мкмоль МСА/л·ч. Введение парацетамола сопровождалось повышением активности ферментов (259,7 ± 14,46; $p < 0,001$). На фоне Карсила активность ММП снижалась (180,9 ± 7,22; $p < 0,001$).

Исследуемые сухие экстракты также приводили к достоверному снижению активности ММП (ЭР — 189,0 ± 3,23; ЭЛЛ — 181,7 ± 2,10; ЭКЛ — 184,5 ± 2,73; $p < 0,005$).

2.7.2. Острое токсическое повреждение печени четыреххлористым углеродом

Вариант 1. Изучаемые препараты вводят в течение 5–7 дней, на 6-е (8-е) сутки моделируют гепатит путем интраперитонеального введения 50%-ного масляного раствора CCl_4 (тетрахлорметана) в дозе 0,2 мл/100 г массы животного однократно. На 4-е сутки после введения CCl_4 животных выводят из эксперимента. Перед декапитацией животных лишают корма на 12 часов, забор материала проводят в утренние часы.

Вариант 2. Гепатит воспроизводят 4-дневным внутрибрюшинным (или подкожным) введением 50%-ного раствора CCl_4 в дозе по 0,4 мл/100 г массы животного. Исследуемые препараты вводят, начиная с 3-го дня применения CCl_4 (в течение 2 дней) за 1 час до введения гепатотоксина, далее — в течение 8 дней (общий курс введения — 10 дней).

Вариант 3. Экспериментальный острый гепатит вызывают путем в/ж введения животным 1 мл 25%-ного масляного раствора CCl_4 в течение 6 суток. Затем в течение 21 дня после формирования модельной патологии вводят исследуемые препараты. На 28-й день крыс под легким эфирным наркозом выводят из эксперимента декапитацией с последующим забором биоматериалов (кровь, печень) для исследований.

Во всех случаях оценку гепатопротекторной активности экстрактов проводят на основе биохимических показателей (АлАТ, общий белок, белковые фракции, ММП-2,7, ЩФ) и морфологических данных печени.

Оценку желчеобразующей функции печени проводят путем определения общего объема выделенной желчи в мг на 100 г массы животного за 3 часа и по изменению относительной массы печени.

Объекты — *береза повислая, береза пушистая*. Для изучения гепатозащитного действия сухих экстрактов коры березы лабораторные животные (крысы) были разделены на 4 группы: 1-я — позитивный контроль (интактные животные); 2-я — негативный контроль (CCl_4); 3-я — перед введением CCl_4 применяли препарат сравнения Карсил в дозе 100 мг/кг, 4-я — сухой экстракт коры березы в крахмальной слизи вводили в/ж в дозе 100 мг/кг в течение

3 дней предварительно перед введением CCl_4. Материал для исследования забирали через сутки после введения CCl_4.

Введение CCl_4 снижало содержание общего белка сыворотки крови до 45,7 ± 5,15 г/л (64,0 ± 3,97 г/л), а соотношение альбуминов к глобулинам до 1,0 ± 0,09 (1,5 ± 0,15). Возрастала доля α1-, β2-глобулинов и снижалась доля γ-глобулинов по сравнению с интактными животными (табл. 60). Предварительное введение Карсила сохраняло содержание общего белка в норме (66,9 ± 5,3 г/л) и снижало процентное содержание α1-глобулинов, введение экстракта бересты (100 мг/кг) снижало содержание β2-глобулинов и увеличивало содержание γ-глобулинов по сравнению с группой 2 (контроль CCl_4).

Таблица 60

Процентное содержание белковых фракций в сыворотке крови крыс при введении CCl_4

Группа животных	Альбумины, %	Глобулины, %				
		α1	α2	β1	β2	γ
1-я — интактные (n = 20)	48,8 ± 1,0	11,3 ± 0,5	5,5 ± 0,3	5,9 ± 0,3	15,3 ± 0,3	13,2 ± 0,6
2-я — контроль CCl_4 (n = 20)	47,5 ± 1,9	15,6 ± 0,6 $p_{1-2} < 0,05$	6,0 ± 1,2	5,97 ± 0,5	18,0 ± 0,5 $p_{1-2} < 0,05$	6,9 ± 0,8 $p_{1-2} < 0,05$
3-я — Карсил + CCl_4 (n = 8)	47,8 ± 1,0	13,2 ± 0,5 $p_{3-4} < 0,05$	5,5 ± 0,5	8,4 ± 0,1	17,0 ± 0,2	8,2 ± 0,8
4-я — береза + CCl_4 100 мг (n = 12)	42,8 ± 2,1 $p_{3-4} < 0,05$	16,0 ± 0,6	8,35 ± 1,2	6,5 ± 0,5	16,2 ± 0,6 $p_{1-4} < 0,05$	10,0 ± 1,2 $p_{2-4} < 0,05$

При введении CCl_4 активность АлАТ в сыворотке крови повышалась в 3,3 раза по сравнению с контрольной группой (1,8 ± 0,27 и 0,55 ± 0,05 ммоль/л·ч соответственно, $p < 0,05$) и возрастала активность ЩФ (5696,4 ± 530,90 и 800,2 ± 80,12 нмоль/с·л соответственно, $p < 0,05$). При этом увеличивалась концентрация общего билирубина (26,2 ± 3,14 и 7,5 ± 0,69 мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$) и прямого билирубина (8,5 ± 4,55 и 2,5 ± 0,22 мкмоль/л, $p < 0,05$ соответственно). На фоне предварительного введения Карсила активность АлАТ и ЩФ оставалась на высоком уровне (1,6 ± 0,21 ммоль/л·ч и 7032,9 ± 653,38 нмоль/с·л соответственно). При введении экстракта коры березы активность АлАТ и ЩФ снижалась (0,8 ± 0,05 ммоль/л·ч и 3264,7 ± 368,15 нмоль/с·л соответственно, $p < 0,05$). Введение Карсила и экстракта коры березы

не изменяло показатели общего и прямого билирубина. Определение мочевины в сыворотке крови не выявило достоверных изменений в исследуемых группах животных.

Таблица 61

Результаты морфометрического исследования печени крыс на фоне профилактического введения классического сухого экстракта бересты и механохимически активированного экстракта бересты в дозе 100 мг/кг на 4-е сутки после введения CCl_4, M ± m

Группа животных	Дистрофия гепатоцитов, Vv, %	Некроз гепатоцитов, Vv, %	Нормальная паренхима, Vv, %	Двуядерные гепатоциты, Nai
1-я — интактные	3,07 ± 0,8	1,34 ± 0,73	95,59 ± 2,1	1,68 ± 0,11
2-я — контроль CCl_4	44,06 ± 0,17	38,73 ± 1,5	17,21 ± 1,14	1,95 ± 0,18
3-я — механохимически активированный экстракт бересты, 100 мг/кг + CCl_4	60,48 ± 1,7 $p_{3-4,5} < 0,05$	11,9 ± 0,8 $p_{3-2} < 0,05$	27,61 ± 1,93 $p_{3-2,4,5} < 0,05$	3,35 ± 0,21 $P_{3-2,4,5} < 0,05$
4-я — классический сухой экстракт бересты, 100 мг/кг + CCl_4	84,88 ± 1,18	8,07 ± 0,79	6,88 ± 0,72	2,3 ± 0,17
5-я — Карсил, 100 мг/кг + CCl_4	79,6 ± 1,24	11,24 ± 0,78	9,31 ± 0,92	1,82 ± 0,17

Введение CCl_4 сопровождалось выраженными деструктивными изменениями в паренхиме печени крыс. Макроскопически печень у животных была тусклой, дряблой по консистенции. В паренхиме печени преобладала вакуольная дистрофия гепатоцитов, вплоть до баллонной (44,1 %). Очаги некрозов встречались в различных отделах долек и были диссеминированными (38,7 %). Полнокровие сосудов печени было неравномерным в сосудах триад, синусоидах и центральных венах. Нормальная ткань составляла 17,2 %. Численная плотность двуядерных гепатоцитов превышала на 16 % их плотность в контроле.

В группе крыс с профилактическим введением экстракта коры березы в дозе 100 мг/кг объемная плотность неповрежденной ткани была в 1,6 раза больше, а объемная плотность очагов некроза в 3,2 раза меньше аналогичных показателей в группе контроля CCl_4. Полнокровие сосудов было неравномерным, встречалось в сосудах

триад, синусоидах и центральных венах. Численная плотность двуядерных гепатоцитов в группе крыс с введением экстракта коры березы + CCl_4 превышала их плотность в группе контроля с введением CCl_4 в 1,7 раз. По сравнению с Карсилом профилактическое введение механохимически активированного экстракта бересты увеличивало объемную плотность нормальной ткани в 2,9 раза (табл. 61). В группе с предварительным введением Карсила и CCl_4 объемные плотности дистрофически измененных гепатоцитов составляли 79,6 %, очаги некроза — 11,09 % и неповрежденная ткань — 9,31 %.

Объект — *первоцвет весенний.* Для оценки гепатопротекторного действия первоцвета весеннего вызывали гепатит путем 4-дневного внутрибрюшинного введения 50%-ного раствора CCl_4 в дозе по 0,4 мл на 100 г веса крысы. Животные были разделены на следующие группы: 1-я группа — гепатит + экстракт травы первоцвета (введен по лечебной схеме), 2-я группа — гепатит + раствор Карсила в эквивалентных дозах (введен по лечебной схеме), 3-я группа — контрольная группа животных с гепатитом, 4-я группа — интактные животные. Экстракт и Карсил вводили в дозах по следующей схеме: по 21 мг/кг (для экстракта) и по 25 мг/кг (для Карсила) каждый день начиная с третьего дня введения CCl_4 (в течение 2 дней) за 1 час до введения гепатотоксина, далее исследуемые соединения вводили в течение 8 дней (общий курс введения — 10 дней).

В результате проведенных скрининговых исследований было установлено, что после 10-дневного введения экстракта на фоне токсического гепатита, вызванного CCl_4 (табл. 62) развивается выраженный желчегонный эффект по сравнению с контрольной группой (гепатит), причем в группах 1, 3 наблюдали изменение относительной массы печени по отношению к интактному контролю. По изменению относительной массы печени в группе контроля уровень трансаминаз (АлАТ и АсАТ) был выше, чем группах леченых животных. Коэффициент де Ритиса (АлАТ/АсАТ) в группах 1 и 2 в среднем был в 1,2 раза выше, чем в группе контроля (гепатит). В группах леченых животных уровень билирубина и ЩФ был ниже, чем в группе контроля (гепатит).

Таблица 62

Влияние экстракта травы первоцвета весеннего на относительную массу печени, общее количество выделившейся желчи и биохимические показатели сыворотки крови у крыс при экспериментальном остром поражении CCl_4 (на 10-й день развития гепатита, n = 8)

Группа животных	Относительная масса печени, M ± m	Общее кол-во желчи на 100 г за 3 часа, мг (M ± m)	Биохимические показатели сыворотки крови				
			АлАТ, мкат/л (M ± m)	АсАТ, мкат/л (M ± m)	Коэффициент де Ритиса АсАТ/АлАТ, M ± m	Билирубин, мкмоль/л (M ± m)	ЩФ, Ед/л (M ± m)
1-я — ГЭТПВ, 21 мг/кг (n = 8)	0,03 ± 0,002	730 ± 34,2 (p_{1-3} < 0,05)	0,056 ± 0,007 (p_{1-3} < 0,001)	0,050± 0,003 (p_{1-3} < 0,001)	0,92 ± 0,14	3,89 ± 0,62 (p_{1-3} < 0,001) (p_{1-2} < 0,02)	2,22 ± 0,11 (p_{1-3} < 0,001)
2-я — Карсил, 25 мг/кг (n = 7)	0,03 ± 0,002	881 ± 35,9 (p_{2-3} < 0,01)	0,048 ± 0,005 (p_{1-3} < 0,001)	0,046 ± 0,004 (p_{1-3} < 0,001)	0,96 ± 0,06	6,60 ± 0,82 (p_{2-3} < 0,002)	2,20 ± 0,45 (p_{2-3} < 0,001)
3-я — контроль (гепатит) (n = 8)	0,04 ± 0,002	579 ± 46,4	0,091 ± 0,004	0,072 ± 0,004	0,75 ± 0,03	26,70 ± 4,61	4,10 ± 0,15
4-я — интактный контроль (n = 8)	0,03 ± 0,0007	1035 ± 36,2	0,048 ± 0,003	0,058 ± 0,005	1,23 ± 0,12	6,90 ± 0,27	2,46 ± 0,10

Объект — *кукуруза сахарная.* Экспериментальный острый гепатит вызывали путем в/ж введения животным 1 мл 25%-ного масляного раствора CCl_4 в течение 6 суток. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой (в дозировке 100 мг/кг) и его смеси с сорбентами (уголь активированный и энтеросорбент СУМС-1 (активированный уголь + алюминия оксид)) в соотношении 3 : 1 (133 мг/кг) вводили перорально в виде суспензии в 2%-ном крахмальном клейстере 1 раз в сутки в течение 21 дня после формирования модельной патологии. На 28-й день эксперимента крыс под легким эфирным наркозом забивали декапитацией с последующим забором биоматериалов (кровь, печень) для исследований.

Развитие токсического гепатита у животных контрольной группы характеризовалось снижением выживаемости до 73,3 % (в интактной группе выживаемость 100 %), снижением массы тела

в среднем на 30 г и увеличением коэффициента массы печени на 19,4 %. Интоксикация тетрахлорметаном сопровождалась гиперферментемией, свидетельствовавшей о разрушении гепатоцитов и развитии холестаза, а также увеличением в сыворотке крови контрольных животных содержания холестерина, триглицеридов, мочевины и билирубина (до 1,74 ± 0,19; 1,73 ± 0,25; 5,15 ± 0,40 и 6,25 ± 0,90 ммоль/л соответственно) и снижением концентрации глюкозы и альбумина по сравнению с интактной группой (на 35 и 32 % соответственно).

Введение экспериментальным животным экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого привело к ослаблению гепатотоксического действия тетрахлорметана: выживаемость крыс повысилась до 100 %; масса тела животных увеличилась на 60 г; коэффициент массы печени снизился на 12 %. Введение изучаемого экстракта стимулировало нормализацию биохимических показателей крови животных: статистически значимо снизились активность АлАТ, ЩФ, уровни холестерина, триглицеридов и мочевины (на 29, 39, 68, 58 и 37 % соответственно), а также наметилась тенденция к снижению активностей АсАТ и ГГТ. На уровни альбумина, билирубина и глюкозы введение указанного препарата практически не повлияло (табл. 63).

Таблица 63

Влияние экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого и его смесей с энтеросорбентами на течение экспериментального острого токсического гепатита

Показатель	Группа животных				
	1-я — интактная (n = 15)	**2-я — контроль (n = 11)**	**3-я — экстракт (n = 15)**	**4-я — экстракт + активированный уголь (n = 15)**	**5-я — экстракт + СУМС-1 (n = 15)**
Скрининговые тесты					
Выживаемость, %	100,0	73,3	100,0	100,0	100,0
Коэффициент массы печени, мг/г	33,50 ± 0,50	40,00 ± 1,05	35,29 ± 1,05	33,78 ± 0,98	32,24 ± 0,87
Изменение массы тела, г	+15,0 ± 2,63	–30,0 ± 3,97	+60,0 ± 2,48	+44,0 ± 3,41	+50,0 ± 2,72

Окончание табл. 63

Показатель	Группа животных				
	1-я — интактная (n = 15)	**2-я — контроль (n = 11)**	**3-я — экстракт (n = 15)**	**4-я — экстракт + активированный уголь (n = 15)**	**5-я — экстракт + СУМС-1 (n = 15)**
Биохимические показатели					
АлАТ, Ед/л	58,6 ± 3,9	110,4 ± 8,1	78,0 ± 5,4	110,2 ± 6,7	104,2 ± 5,1
АсАТ, Ед/л	196,6 ± 6,0	312,6 ± 27,9	274,0 ± 11,4	248,9 ± 8,4	274,9 ± 16,7
ЩФ, Ед/л	374,0 ± 18,4	645,6 ± 45,8	393,2 ± 27,2	500,0 ± 45,1	434,9 ± 24,2
ГГТ, Ед/л	2,28 ± 0,67	3,36 ± 1,48	2,65 ± 0,64	3,13 ± 0,54	2,65 ± 0,27
Глюкоза, ммоль/л	7,70 ± 0,45	5,00 ± 0,28	4,81 ± 0,69	5,79 ± 0,38	5,96 ± 0,48
Альбумин, г/л	69,5 ± 0,7	47,1 ± 3,6	53,5 ± 1,4	44,9 ± 2,1	49,2 ± 1,5
Билирубин мкмоль/л	4,03 ± 0,66	6,25 ± 0,90	6,28 ± 1,41	6,82 ± 1,67	5,34 ± 1,19
Холестерин, ммоль/л	1,42 ± 0,10	1,74 ± 0,19	0,55 ± 0,12	1,17 ± 0,13	0,63 ± 0,12
Триглицериды, ммоль/л	1,60 ± 0,06	1,73 ± 0,25	0,72 ± 0,04	0,64 ± 0,07	0,53 ± 0,05
Мочевина, ммоль/л	4,66 ± 0,34	5,15 ± 0,40	3,22 ± 0,22	3,08 ± 0,18	2,58 ± 0,24

Применение экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого совместно с углем активированным привело к изменению некоторых биохимических показателей. Снизилась активность АсАТ на 20 % по сравнению с контрольной группой, однако статистически значимого изменения по сравнению с группой, принимавшей изучаемый экстракт отдельно, не наблюдалось. Кроме того, произошло увеличение активности ЩФ, уровней холестерина и глюкозы в крови животных на 27, 112 и 20 % соответственно по сравнению с аналогичными показателями крыс, получавших экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой.

Изменение активности АсАТ и уровня глюкозы свидетельствует о повышении гепатозащитного действия, увеличение активности ЩФ и уровня холестерина — о снижении его по сравнению с аналогичными показателями животных, получавших сухой экстракт кукурузы столбиков с рыльцами.

Терапия животных с острым гепатитом комбинацией экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого и энтеросорбента СУМС-1 характеризовалась статистически значимым улучшением результатов скрининговых тестов и биохимического анализа по сравнению с аналогичными показателями как контрольной группы, так и группы животных, получавших изучаемый экстракт отдельно. Коэффициент массы печени снизился до 32,24 ± 0,87 мг/г, что на 9 % меньше значения показателей группы, получавшей экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой. Частично восстановился уровень глюкозы (на 25 %), снизились уровни триглицеридов и мочевины (на 26 и 20 % соответственно) по сравнению с показателями животных, получавших монотерапию изучаемым экстрактом. Кроме того, наблюдалось снижение уровня билирубина на 15 % по сравнению с контролем, что не было отмечено в группе животных, получавших экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой. Изменения всех указанных показателей, наблюдавшиеся у животных, получавших смесь изучаемого экстракта с энтеросорбентом СУМС-1, свидетельствовали об усилении гепатопротекторных свойств экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого.

2.7.3. Модель повреждения печени D-галактозамина гидрохлоридом

Вариант 1. Повреждение печени вызывают однократным внутрибрюшинным введением белым крысам D-галактозамина гидрохлорида в дозе 400 мг/кг. Экспериментальный D-галактозаминовый гепатит расценивается как прототип вирусного повреждения печени, максимально приближенный по патогенезу, морфологическим и биохимическим изменениям к вирусному гепатиту В. Исследуемые препараты вводят в течение 7 дней.

Для оценки функционального состояния печени в сыворотке крови экспериментальных животных определяют следующие биохимические показатели: активность АлАТ, АсАТ, ЩФ, ГГТ, концентрацию холестерина, триацилглицеридов, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), содержание общего белка, альбуминов, протромбина. Для выявления нарушений процесса коагуляции при повреждении печени D-галактозамина гидрохлоридом определяют уровень фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), про-

тромбиновый индекс (ПТИ), протромбиновое время (ПТВ), международное нормализованное отношение (МНО), протромбиновое отношение (ПТО) в сыворотке крови белых крыс.

Вариант 2. Экспериментальный гепатит вызывают введением D-галактозамина белым крысам в дозе 500 мг/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 3 дней. Исследуемые препараты вводят на фоне применения D-галактозамина и затем еще в течение 4 дней (всего 7 дней).

Объект — *Гипелив.* Изучена гепатопротекторная активность препарата Гипелив, в состав которого входят экстракты сухие: гипекоума прямого (*Hypecoum erectum L.*), копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum L.*), солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*), календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*) и шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis Georgi*).

В эксперименте животные были разделены на следующие группы: интактные крысы, контрольные животные с гепатитом, 3 опытные группы крыс с гепатитом, получавшие экстракт сухой Гипелив в экспериментально-терапевтических дозах: 100 мг/кг (опытная группа 1), 200 мг/кг (опытная группа 2), 300 мг/кг (опытная группа 3) и животные группы сравнения, которым вводили референтный препарат Карсил.

При D-галактозаминовом гепатите установлено, что курсовое введение животным исследуемого экстракта Гипелив в дозах 100, 200 и 300 мг/кг уменьшает выраженность окислительного стресса, тем самым снижая интенсивность процесса ПОЛ и повышая активность АОС. Так, на 7-е сутки эксперимента в 1-й и 2-й опытных группах отмечалось снижение содержания МДА в ткани печени в 2,0 и 1,5 раза соответственно по сравнению с данными контрольной группы. При введении экстракта сухого Гипелив в дозе 100 мг/кг существенно повышается активность каталазы и содержание ВГ в 1,6 и 2,0 раза соответственно по сравнению с данными животных контрольной группы. Активность глутатионпероксидазы при введении исследуемого экстракта в дозе 100 мг/кг повысилась в 1,6 раза по отношению к контролю.

Эффективность Гипелива в указанной дозе превосходила таковую препарата сравнения Карсил. Во 2-й и 3-й опытных группах, получавших экстракт Гипелив в дозах 200 и 300 мг/мл соответственно, исследуемые показатели антиоксидантного статуса корри-

гировались и были сопоставимы с таковыми у животных, получавших препарат сравнения Карсил.

Курсовое применение исследуемого экстракта в опытных группах животных приводило к уменьшению отклонений биохимических показателей, характеризующих основные патогенетические звенья повреждения печени.

Цитолиз в опытной группе 1, получавшей Гипелив в дозе 100 мг/кг, достоверно снижался уже на 7-е сутки опыта, уменьшение активности АлАТ и АсАТ достигало 15–18 %, в то время как в группе сравнения на фоне введения Карсила — 7–10 %. На основе комплексной оценки уровней холестерина, ЩФ и ГГТ можно констатировать, что применение Гипелива на модели D-галактозаминового гепатита сопровождалось значительным уменьшением явлений холестаза.

При введении экстракта Гипелив в дозе 100 мг/кг экспериментальным животным с D-галактозаминовым гепатитом на 7-е сутки наблюдалось достоверное повышение содержания альбуминов, фибриногена и увеличение ПТИ на 17–19 %, отражающее увеличение функциональных возможностей и синтезирующей способности гепатоцитов (табл. 64). Введение экстракта приводило к достоверному уменьшению гипокоагуляции (причем на ранних сроках эксперимента), при увеличении дозы Гипелива до 200 и 300 мг/кг отчетливого повышения эффекта не выявлено.

Таблица 64

Влияние экстракта сухого Гипелив на состояние коагуляционного каскада при D-галактозаминовом гепатите

Биохимические показатели	Группа животных				
	контроль (D + H_2O)	опытная 1 (D + Гипелив 100 мг/кг)	опытная 2 (D + Гипелив 200 мг/кг)	опытная 3 (D + Гипелив 300 мг/кг)	сравнения (D + Карсил 200 мг/кг)
Фибриноген, г/л	1,51 ± 0,11*	1,92 ± 0,13*	1,97 ± 0,12*	1,99 ± 0,11*	1,67 ± 0,18
АЧТВ, с	34,2 ± 1,7*	28,9 ± 1,4*	28,2 ± 1,3*	27,9 ± 1,25*	31,4 ± 1,53
ПТИ, %	51,3 ± 2,4*	62,1 ± 3,2*	61,9 ± 2,8*	60,8 ± 3,28*	56,3 ± 3,7
ПТВ, с	33,7 ± 1,7*	26,8 ± 1,9*	25,9 ± 1,7*	26,3 ± 2,1*	27,8 ± 1,9
МНО, у. е.	2,93 ± 0,14*	2,34 ± 0,17*	2,32 ± 0,19*	2,16 ± 0,17*	2,57 ± 0,18*
ПТО, %	2,53 ± 0,17*	2,05 ± 0,11*	2,02 ± 0,13	2,04 ± 0,11*	2,17 ± 0,19

Примечание. * $p < 0,05$ — достоверно по отношению к контрольной группе.

Объект — *гипекоум прямой.* Экспериментальный гепатит вызывали введением D-галактозамина белым крысам (линия Wistar) в дозе 500 мг/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 3 дней. Экстракт гипекоума прямого в дозе 50 мг/кг в форме водного раствора вводили животным per os на фоне применения D-галактозамина и затем еще в течение 4 дней (всего 7 дней).

В качестве препарата сравнения использовали Карсил в дозе 50 мг/кг, который вводили животным 2-й опытной группы по аналогичной схеме. Животные контрольной и интактной групп получали воду очищенную. В каждую группу входило по 10 животных. Исследование морфофункционального состояния печени проводили на 3-и и 7-е сутки от начала введения D-галактозамина.

Для патоморфологических исследований кусочки печени крыс фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и заливали в парафин.

Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для выявления активности нейтральных жиров свежезамороженные срезы печени окрашивали суданом IV.

Результаты патоморфологических исследований показали выраженные структурные изменения в печени животных контрольной группы на фоне введения D-галактозамина, характерные для вирусного гепатита. На 3-и сутки эксперимента в печени животных контрольной группы выявлялись кровенаполнение центральных вен с эритростазами, краевое стояние и диапедез лейкоцитов. Синусоидальные пространства, прилежащие к центральным венам, были неравномерно расширены и заполнены слипшимися эритроцитами. В строме дольки по ходу синусоидных капилляров отмечали мелкие очажки слабо выраженной полиморфноклеточной инфильтрации; в зоне портальных трактов — значительное количество апоптотических гепатоцитов с эозинофильной цитоплазмой и гиперхромным ядром. Кроме того, наблюдались выраженная зернистая дистрофия гепатоцитов, локально — гидропическая с наличием вакуолей, а также пятнистый некроз. На 7-е сутки наблюдений в печени животных контрольной группы дистрофические и некротические изменения приобретали более масштабные размеры. У 6 из 10 животных выявлялась тотальная гидропическая дистрофия гепатоцитов, сопровождающаяся множественным мелкоочаговым некрозом. У 2 животных гидропическая дистрофия гепатоцитов сочеталась с жиро-

вой дистрофией. Увеличилось количество гепатоцитов с баллонной дистрофией. В некротизированных зонах отмечалась лейкоцитарная инфильтрация; повсеместно — гиперплазия и очаговая пролиферация звездчатых эндотелиоцитов; в зоне портальных трактов — гепатоциты с эозинофильной цитоплазмой. В результате этого балочно-радиальное строение печеночных долек было стертым.

Курсовое введение животным экстракта гипекоума прямого и Карсила ограничивало развитие дистрофических и некротических изменений, воспалительных процессов в паренхиме печени на фоне D-галактозаминового гепатита во все сроки наблюдений. Так, на 3-и сутки эксперимента в отдельных центральных венах печени животных опытных групп выявлялись кровенаполнение и стаз эритроцитов, краевое стояние в них лейкоцитов и их диапедез. Синусоидальные пространства, прилежащие к центральным венам, были умеренно расширены. В капиллярах не отмечался стаз эритроцитов. Локально встречались клетки с умеренной гидропической дистрофией и единично — с жировой. Некрозу были подвержены единичные гепатоциты. На 7-е сутки наблюдений гидропической дистрофии были подвержены гепатоциты, расположенные в зоне центральной вены. Единично встречались гепатоциты с баллонной дистрофией. Наблюдали локальный пятнистый некроз гепатоцитов. Балочно-радиальное строение печеночных долек не было нарушено.

Таким образом, экстракт в диапазоне указанных доз проявляет выраженное гепатопротекторное воздействие при экспериментальном D-галатозаминовом гепатите, ингибируя нарушения холатосинтетической и холатокинетической функций печени на фоне ограничения дистрофических и некротических изменений в ней, интенсивность воспалительной инфильтрации, а также стимулируя инволюцию органических изменений и регенерацию печеночных клеток. Нормализация процессов желчеобразования и желчевыделения связана со свойством биофлавоноидов, содержащихся в значительном количестве в исследуемом экстракте, активизировать энергетический обмен в гепатоцитах и проявлять выраженное антиоксидантное действие. Определенно, биофлавоноиды, ингибируя процессы ПОЛ, предотвращают дезинтеграцию активности холестерингидроксилазы — основного фермента утилизации холестерина в желчные кислоты. Наряду с этим, полифенолы способствуют транспорту холатов, экскреции билирубина и холестерина, а также ускоряют регенерацию и восстановление.

2.7.4. Модель тетрациклинового гепатита

Гепатит вызывают путем в/ж введения тетрациклина в дозе 500 мг/кг в течение 5 дней. Исследуемые препараты вводят 10 дней: за 5 дней до применения тетрациклина и 5 дней параллельно с тетрациклином (за час до антибиотика). Через 48 часов после последнего введения тетрациклина крыс подвергают эвтаназии в СО-камере и извлекают печень для дальнейшего исследования. Из печени интактных, контрольных и подопытных животных выделяют микросомальную фракцию с применением метода дифференциального центрифугирования. В микросомальных фракциях печени экспериментальных групп животных определяют содержание микросомального белка и цитохрома Р450, а также показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом Р450: р-гидроксилирование анилина, N-деметилирование диметиланилина (ДМА) и скорость реакции конъюгации с участием глутатион-трансферазы (ГТФ), отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени. С учетом всех исследуемых показателей оценивают гепатопротекторные и детоксицирующие свойства.

Объект — *володушка золотистая.* Подопытные животные были разделены на 5 групп по 8 особей (табл. 65).

Таблица 65

Опытные группы

Группа животных	Характеристика
1-я	Интактные животные
2-я	Модель токсического тетрациклинового гепатита
3-я	Опытные животные, получавшие экстракт володушки в дозе 50 мг/кг
4-я	Опытные животные, получавшие экстракт володушки в дозе 100 мг/кг
5-я	Опытные животные, получавшие препарат сравнения Силимар в дозе 100 мг/кг, суспендированный в 1%-ной крахмальной взвеси

Экстракт володушки и Силимар предварительно вводили 1 раз в сутки в течение 5 суток опытным группам лабораторных животных, в это же время контрольные крысы получали эквивалентный объем дистиллированной воды. С 6-х по 10-е сутки эксперимента животным контрольной и опытных групп вводили в/ж тетрациклин в дозе 500 мг/кг.

В результате исследований было установлено, что в микросомах печени контрольных крыс (с тетрациклиновым гепатитом без

лечения) по сравнению с интактными животными параллельно уменьшению общего количества микросомального белка происходит статистически значимое снижение (на 13 %) содержания цитохрома Р450, свидетельствующее о токсическом воздействии тетрациклина на печень.

У опытных групп, получавших дополнительно экстракт володушки в дозах 50, 100 мг/кг и Силимар, по сравнению с контрольными животными при незначительном снижении общего количества микросомального белка наблюдалось статистически значимое увеличение содержания цитохрома Р450 — на 29, 36 и 24 % соответственно. Наблюдаемая тенденция к повышению содержания доли цитохрома Р450 на мг белка может свидетельствовать о компенсаторной индукции цитохрома Р450 в печени под действием изучаемых растительных лекарственных средств на фоне токсического воздействия антибиотика тетрациклина. Содержание цитохрома Р450 в экспериментальных группах возрастало в ряду «контроль < интактные < силимар < экстракт володушки в дозе 50 мг/кг < экстракт володушки в дозе 100 мг/кг».

Результат, отражающий содержание цитохрома Р450 в общем количестве микросомального белка, в группе животных, получавших экстракт володушки, свидетельствовал о более эффективном действии экстракта по сравнению с препаратом Силимар.

Установлено, что у контрольных крыс (токсический гепатит без лечения) по сравнению с интактными животными происходило снижение скорости гидроксилирования анилина на 8 %, свидетельствующее о токсическом воздействии тетрациклина на печень. Экстракт володушки и Силимар на фоне экспериментального тетрациклинового гепатита статистически значимо увеличивали специфическую гидроксилазную активность цитохрома Р450, но слабо влияли на его деметилазную активность. У опытных групп животных, получавших экстракт володушки в дозах 50 и 100 мг/кг, гидроксилазная активность цитохрома Р450 статистически значимо возрастала на 22 и 53 % соответственно по сравнению с контролем (тетрациклиновый гепатит), что на 7 и 38 % превышало показатели группы, получавшей Силимар. В опытной группе при введении последнего в дозе 100 мг/кг скорость реакции гидроксилирования увеличивалась только на 7 % по сравнению с интактными животными и на 15 % по сравнению с контролем. Таким образом, в данном случае был установлен высокий активи-

рующий эффект экстракта володушки в дозе 100 мг/кг на гидроксилазную активность фермента микросомальной системы детоксикации печени крыс цитохрома Р450. Большое значение для сравнительной оценки детоксицирующих свойств экстракта володушки имеет изучение его влияния на активность ГТФ, которая участвует в конъюгации токсических продуктов, образующихся в монооксигеназной системе цитохрома Р450 на первом этапе биотрансформации. У контрольных крыс с воспроизведенным токсическим гепатитом по сравнению с интактными животными происходит снижение на 8 % скорости ферментативных реакций, катализируемых ГТФ, что свидетельствует о токсическом воздействии тетрациклина на печень.

У группы животных, получавшей экстракт володушки в дозе 50 мг/кг скорость ГТФ-реакции достоверно увеличивалась на 33 % по сравнению с контрольной группой животных, а у опытной группы, получавшей экстракт володушки в дозе 100 мг/кг, — на 57 %. По сравнению с опытной группой, получавшей Силимар, активность ГТФ у групп, которым вводили экстракт володушки в дозах 50 и 100 мг/кг, возрастала на 15 и 39 % соответственно; при этом в группе крыс, получавшей препарат Силимар, скорость ГТФ-реакции статистически значимо увеличивалась (на 18 %) только в сравнении с контрольной группой животных. Скорость реакции конъюгации, катализируемая ГТФ микросом печени, статистически значимо возрастает в экспериментальных группах животных в порядке увеличения эффекта активации: «интактные животные < контрольные < опытные, получавшие силимар в дозе 100 мг/кг < опытные, получавшие экстракт володушки в дозе 50 мг/кг < опытные, получавшие экстракт володушки в дозе 100 мг/кг».

Таким образом, установлен высокий активирующий эффект экстракта володушки в дозе 100 мг/кг на ферменты микросомальной системы детоксикации печени крыс: цитохром Р450 и ГТФ. Полученные данные свидетельствуют о статистически значимых гепатопротекторных и детоксицирующих свойствах экстракта володушки.

2.7.5. Модель хронической алкогольной интоксикации

Для создания экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации 96%-ный этанол разводят водой до 15 % и предоставляют для питья (как альтернативу воде) в течение 6 недель лабораторным крысам, имеющим предрасположенность

к алкоголизму, т. е. добровольно употреблявшим этиловый спирт в объеме 10–12 мл/сут. Исследуемые объекты вводят в течение 7 суток после алкогольного поражения печени.

По истечении указанного времени лабораторных животных выводят из эксперимента путем декапитации и проводят измерение активности АлАТ, ЩФ, содержания билирубина и его фракций в сыворотке крови, а также активности каталазы и СОД, содержания ТБК-активных продуктов и восстановленных SH-групп в гомогенате печени.

Объекты — *железница крымская, суданская роза, рододендрон Адамса.* Для оценки гепатопротекторного действия травы железницы крымской (*Sideritis taurica*), цветов суданской розы (*Hibiscus sabdariffa*) и травы рододендрона Адамса (*Rododendron adamsii*) из исследуемых объектов по отдельности готовили отвары и вводили группам экспериментальных животных вместо питьевой воды в течение 7 суток. Среднее потребление отвара составляло 15 ± 5 мл на крысу в сутки. В качестве препаратов сравнения использовали Эссенциале форте и Гепсил-Рн. В течение 7 суток интактным животным и крысам с алкогольным поражением печени перорально с помощью пипетки вводили суспензию Эссенциале форте в дозе 30 мг/кг или водную суспензию Гепсил-Рн в дозе 9 мг/кг.

Хроническое спаивание крыс этанолом приводило к выраженным изменениям всех анализируемых показателей: содержание ТБК-активных продуктов в печени возросло на 56,8 %, активность каталазы — на 40,2 %, СОД — на 31,7 %, фиксировалось снижение содержания восстановленных SH-групп на 40 %.

Нарушение антиоксидантного статуса гепатоцитов сопровождалось изменением их функции, что обусловливало увеличение активности маркерных ферментов печени в сыворотке крови подопытных крыс: АлАТ — на 86,5 %, ЩФ — на 104,4 %, а также содержание свободного билирубина — на 111,9 %, связанного — на 187,5 %.

Установлено, что после ежедневного применения в течение 7 суток препарата Эссенциале форте (30 мг/кг) в экспериментальной модели хронического алкогольного воздействия активность АлАТ снизилась на 41,7 %, ЩФ — на 65,5 %, содержание свободного и связанного билирубина — на 108,6 и 167,4 % соответственно. Описанные изменения сопровождались и некоторой стабилизацией величин изучаемых показателей ПОЛ и активности ферментов антиоксидантной защиты: содержание ТБК-активных продуктов в гомогенате

печени крыс снизилось на 20,8 %, активность каталазы — на 21 %, наблюдалось повышение содержания восстановленных SH-групп на 27 % по сравнению с показателями животных с хроническим поражением печени этанолом, которым не вводили препарат (табл. 66).

Таблица 66

Влияние отваров природных адаптогенов и препаратов гепатопротекторного ряда на показатели поражения печени в сыворотке крови интактных крыс и животных с экспериментальной алкогольной интоксикацией

Группа животных	Активность ЩФ, мкмоль/л	Активность АлАТ, моль НАДН/мин	Содержание свободного билирубина, мкмоль/л	Содержание связанного билирубина, мкмоль/л
Интактные крысы	205,5 ± 17,5 (100 %)	77,5 ± 8,6 (100 %)	8,4 ± 1,2 (100 %)	6,4 ± 0,6 (100 %)
Алкогольное поражение печени	420,0 ± 19,9 (204,4 %)*	144,5 ± 2,1 (186,5 %)*	17,8 ± 4,3 (211,9 %)*	18,4 ± 1,9 (287,5 %)*
Гепсил-Рн (7 суток)	235,7 ± 21,5 (114,7 %)	90,3 ± 2,7 (116,9 %)	7,9 ± 1,0 (94,1 %)	6,7 ± 0,8 (104,7 %)
Эссенциале форте (7 суток)	224,2 ± 9,7 (109,1 %)	88,2 ± 3,4 (113,8 %)	8,4 ± 1,2 (100 %)	7,1 ± 0,7 (110,1 %)
Отвар железницы крымской (7 суток)	210,4 ± 8,9 (102,4 %)	74,5 ± 7,4 (96,1 %)	8,3 ± 1,1 (98,9 %)	5,9 ± 0,7 (92,2 %)
Отвар рододендрона Адамса (7 суток)	224,0 ± 23,1 (109,0 %)	69,3 ± 7,3 (89,4 %)	9,7 ± 2,5 (115,5 %)	6,5 ± 0,9 (101,6 %)
Отвар суданской розы (7 суток)	207,6 ± 11,3 (101,0 %)	68,3 ± 7,3 (89,4 %)	7,6 ± 1,5 (90,2 %)	7,4 ± 1,3 (116,1 %)
Гепсил-Рн на фоне алкогольного поражения печени	332,1 ± 12,6 (161,6%)**	97,1 ± 3,9 (125,3 %)**	15,8 ± 1,2 (188,1 %)**	6,8 ± 1,1 (106,3 %)**
Эссенциале форте на фоне алкогольного поражения печени	285,4 ± 11,1 (138,9 %)**	112,2 ± 1,8 (144,8 %)**	8,7 ± 0,7 (103,3 %)**	7,7 ± 0,9 (120,1 %)**
Отвар железницы крымской на фоне алкогольного пораже-ния печени	275,3 ± 14,1 (133,9 %)**	72,0 ± 4,8 (92,9 %)**	8,7 ± 1,2 (103,6 %)**	7,6 ± 1,0 (118,8 %)**
Отвар рододендро на Адамса на фоне алкогольного поражения печени	402,1 ± 11,2 (195,7 %)**	84,7 ± 2,7 (109,3 %)**	11,6 ± 2,7 (138,1 %)**	5,8 ± 1,2 (90,6 %)**
Отвар суданской розы на фоне алкогольного поражения печени	368,1 ± 10,3 (179,3 %)**	141,7 ± 7,3 (182,9 %)**	15,7 ± 3,7 (187,9 %)**	12,8 ± 3,4 (199,3 %)**

Примечание. Данные в таблице представлены в виде $X \pm S_x$. *, ** — результаты достоверны при $p \leq 0,05$ (n = 5 для каждой серии). Достоверность эффектов этанола, аптечных гепатопротекторов и растительных отваров оценивалась по отношении к показателям интактной серии (*), а эффектов коммерческих гепатопротекторов и растительных отваров, вводимых крысам с экспериментальным поражением печени, по отношению к показателям животных с данной патологией, не получавших изучаемые препараты (**).

Аналогичные результаты были получены и при использовании коммерческого гепатопротектора растительного происхождения Гепсил-Рн. Находящиеся в его составе биофлавоноиды оказали выраженное антиоксидантное действие и способствовали частичному восстановлению функций гепатоцитов крыс, подвергшихся хроническому алкогольному воздействию. Таким образом, оба препарата сравнения, несмотря на различный состав и механизм действия, проявили на использованной экспериментальной модели гепатопротекторные свойства.

Анализ исследуемых показателей у крыс с алкогольным поражением печени, ежедневно употреблявших отвары адаптогенов, свидетельствует об их защитном действии, выраженном в разной степени (табл. 67).

Таблица 67

Влияние отваров природных адаптогенов и препаратов гепатопротекторного ряда на показатели перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной защиты печени интактных крыс и животных с экспериментальной алкогольной интоксикацией

Группа животных	Содержание SH-групп, ммоль/л	Содержание ТБК-активных продуктов, мкмоль/л	Активность каталазы, ммоль H_2O_2/ мг белка·мин	Активность СОД, у. е.
Интактные крысы	147,7 ± 13,1 (100 %)	0,44 ± 0,1 (100 %)	10,3 ± 1,0 (100 %)	221,1 ± 8,7 (100 %)
Алкогольное поражение печени	88,8 ± 7,1 (60,1 %)*	0,69 ± 0,1 (156,8 %)*	14,1 ± 1,7 (140,2 %)*	291,0 ± 14,2 (131,7 %)*
Гепсил-Рн (7 суток)	136,6 ± 7,3 (92,5 %)	0,51 ± 0,1 (115,9 %)	12,0 ± 0,7 (116,5 %)	219,7 ± 14,9 (99,4 %)
Эссенциале форте (7 суток)	141,8 ± 16,7 (96,1 %)	0,45 ±0,1 (102,0 %)	11,6 ± 1,1 (113,1 %)	136,6 ± 19,8 (107,1 %)
Отвар железницы крымской (7 суток)	143,3 ± 11,7 (97,0 %)	0,52 ± 0,1 (117,1 %)	15,4 ± 1,0 (149,3 %)*	284,9 ± 14,7 (128,9 %)*
Отвар рододендрона Адамса (7 суток)	152,9 ± 7,6 (103,5 %)	0,43 ± 0,1 (97,7 %)	8,8 ± 0,8 (85,4 %)	220,0 ± 9,1 (99,5 %)
Отвар суданской розы (7 суток)	143,3 ± 4,6 (97,1 %)	0,41 ± 0,1 (93,0 %)	9,8 ± 1,7 (95,2 %)	236,6 ± 11,3 (107,1 %)
Гепсил-Рн на фоне алкогольного поражения печени	116,5 ± 5,6 (78,9 %)**	0,52 ± 0,1 (118,2 %)**	19,2 ± 0,8 (136,2 %)	239,7 ± 11,2 (108,4 %)**
Эссенциале форте на фоне алкогольного поражения печени	128,5 ± 19,6 (87,9 %)**	0,60 ± 0,1 (136,0 %)**	12,3 ± 0,7 (119,0 %)	265,5 ± 13,6 (120,1 %)*[a]
Отвар железницы крымской на фоне алкогольного поражения печени	116,7 ± 12,1 (79,1 %)**	0,47 ± 0,1 (107,5 %)**	11,9 ± 1,2 (116,1 %)**	240,9 ± 13,2 (109,2 %)**

Окончание табл. 67

Группа животных	Содержание SH-групп, ммоль/л	Содержание ТБК-активных продуктов, мкмоль/л	Активность каталазы, ммоль H_2O_2/ мг белка·мин	Активность СОД, у. е.
Отвар рододендрона Адамса на фоне алкогольного поражения печени	102,1 ± 4,2 (69,1 %)**	0,53 ± 0,1 (128,5 %)**	11,2 ± 1,2 (108,7 %)**	260,0 ± 11,7 (117,6 %)**
Отвар суданской розы на фоне алкогольного поражения печени	167,8 ± 9,3 (88,3 %)**	0,66 ± 7,3 (150,3 %)	14,2 ± 2,0 (138,1 %)	329,4 ± 17,1 (149,1 %)**

Примечание. Данные в таблице представлены в виде $X \pm S_x$. *, ** — результаты достоверны при $p \leq 0,05$ ($n = 5$ для каждой серии). Достоверность эффектов этанола, аптечных гепатопротекторов и растительных отваров оценивалась по отношению к показателям интактной серии (*), а эффектов коммерческих гепатопротекторов и растительных отваров, вводимых крысам с экспериментальным поражением печени, по отношению к показателям животных с данной патологией, не получавших изучаемые препараты (**).

Максимальный эффект наблюдался при использовании отвара железницы крымской. Так, содержание ТБК-активных продуктов в печени крыс, получавших отвар, снизилось на 49,3 %, активность СОД — на 22,7 %, активность каталазы — на 24,1 % по сравнению с животными, не получавшими отвар. Содержание восстановленных SH-групп возросло на 19,1 %. Таким образом, способность железницы крымской подавлять интенсивность ПОЛ, описанная в литературе, была продемонстрирована и на модели хронического поражения печени алкоголем. С антиоксидантной активностью коррелировали и гепатопротекторные свойства указанного отвара. Ежедневный его прием подопытными крысами сопровождался снижением активности ЩФ на 70,5 %, АлАТ — на 93,6 %, свободного и связанного билирубина — до значений, статистически неотличимых от уровня интактных животных.

2.7.6. Хроническое токсическое повреждение печени четыреххлористым углеродом

Вариант 1. Хронический токсический гепатит вызывают у белых крыс массой 180–240 г введением 50%-ного масляного раствора CCl_4 в объеме 0,25 мл/100 г массы животного подкожно 2 раза в неделю в течение 1,5 месяца. Исследуемые препараты вводят в/ж через месяц с начала затравки CCl_4. Для оценки эффективности

исследуют морфологическое состояние печени животных в сроки: 15, 28 и 35-е сутки с момента введения препаратов на фоне хронического гепатита. Для взятия гистоматериала белых крыс декапитируют под эфирным наркозом. Кусочки печени фиксируют в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Депарафинированные гистологические срезы органа для оценки морфологической картины окрашивают гематоксилином и эозином. Для оценки состояния ПОЛ выявляют содержание в печени пигмента липофусцина по Шморлю. В свежезамороженных срезах печени, полученных на микротомкриостате МК-25, определяют количество гликогена ШИК-реакцией, нейтральных жиров — суданом черным «Б», активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ-азы) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ-азы) — по Нахласу.

Вариант 2. Хронический гепатит у крыс вызывают введением 50%-ного масляного раствора тетрахлорметана в дозе 0,2 мл/100 г массы тела 3 раза в неделю в течение 28 дней и 5%-ного раствора этанола, который животные получают вместо питьевой воды.

Исследуемые препараты вводят животным ежедневно в/ж через один час после применения тетрахлорметана. Через 24 часа после последнего введения исследуемых объектов животных вводят в наркоз 1%-ным раствором барбамила, оперируют и собирают желчь. После выведения крыс из эксперимента декапитацией, у них собирают кровь, делают резекцию печени и взвешивают ее, готовят гомогенат для биохимического анализа. Для оценки функционального состояния мембран гепатоцитов и степени воспалительной реакции определяют в сыворотке крови активность ферментов АлАТ, АсАТ, ЩФ и рассчитывают массовый коэффициент печени (МКП). Интенсивность процессов ПОЛ и активность АОС оценивают соответственно по уровню ТБК-активных продуктов и ВГ в гомогенате печени. Желчеобразовательную и выделительную функцию печени оценивают по следующим показателям: скорость секреции желчи, содержание желчных кислот и холестерина в ней. Образцы печени для гистологических исследований фиксируют в 10%-ном растворе формалина, заливают в целлоидин-парафин. Одни срезы окрашивают гематоксилином и эозином, другие срезы, полученные на замораживающем микротоме, окрашивают суданом IV.

Объект — *Калефлон.* На модели хронического токсического повреждения печени изучали гепатопротекторное действие препа-

рата Калефлон. Крысам вводили Калефлон в дозе 0,5 г на 100 г массы животного через месяц с начала применения $CC1_4$.

Все животные в эксперименте были разделены на 3 группы:

1) контрольная группа — животные, которым вводили только раствор $CC1_4$;

2) животные, получавшие Калефлон после месячной затравки CC_4;

3) группа интактных животных.

У животных, получавших Калефлон, в отличие от контроля в 1-е сроки наблюдения (15-е сутки) не было отмечено явлений «мутного» набухания клеток, что свидетельствовало об упорядочении биохимических процессов в гепатоцитах. Кроме того, была менее выражена полиморфноклеточная инфильтрация в паренхиме и по ходу сосудов, в меньшей степени существовали отечные изменения в портальных трактах. Гистохимически в печени выявлена очень слабая жировая инфильтрация в виде очень мелких капель. Содержание гликогена в 4 случаях из 5 очень близко к норме.

На 28-е сутки в подавляющем большинстве случаев (в 4 из 6) отсутствовали соединительнотканные волоконца и полиморфноклеточная инфильтрация, структура печени соответствовала таковой у интактных животных. Совершенно не отмечалась жировая инфильтрация, не было гранул липофусцина. В структуре печени наблюдалось увеличение количества гипертрофированных гепатоцитов с крупными темно-окрашенными ядрами.

На 35-е сутки у крыс, получавших Калефлон, в одном случае из 5 отмечалась клеточно-мезенхимальная реакция в печени. Жировая дистрофия гепатоцитов не была выявлена. У всех животных в этот срок исследования содержание гликогена в органе не отличалось от такового в печени интактных животных. Активность окислительно-восстановительных ферментов была такой же, как в интактном контроле.

Результаты морфологических исследований показали, что Калефлон повышал, по сравнению с контролем, в более ранние сроки функциональную активность гепатоцитов, способствовал более быстрому рассасыванию соединительнотканных тяжиков, обеспечивая в более короткие сроки нормализацию структуры органа.

Объект — *Гепатропин*. Гепатопротекторная активность комплексного растительного средства гранул Гепатропин изучена на

модели хронического гепатита, вызванного введением тетрахлорметана (50%-ного масляного раствора в дозе 0,2 мл/100 г массы тела крысы 3 раза в неделю в течение 28 дней) и этанола (5%-ный раствор вместо питьевой воды). Гранулы Гепатропин содержат нативные порошки цветков календулы, ромашки, корня солодки голой, листьев крапивы двудомной, корневищ с корнями валерианы лекарственной, плодов шиповника коричного, семян каштана конского и пшеничные отруби.

Гепатропин вводили в/ж в дозе 900 мг/кг один раз в день через час после применения $CC1_4$. В качестве препарата сравнения использовали таблетки Силибор, которые вводили в/ж в дозе 35 мг/кг один раз в день через час после тетрахлорметана. Результаты исследования гепатопротекторного действия данных препаратов представлены в табл. 68.

Таблица 68

Результаты изучения гепатопротекторного действия гранул Гепатропин в условиях хронического гепатита у крыс, вызванного тетрахлорметаном и этанолом

Показатели	Группа животных			
	1-я — интактный контроль	**2-я — контрольная патология**	**3-я — патология + Гепатропин, 900 мг/кг**	**4-я — патология + Силибор, 35 мг/кг**
МКП, %	2,77 + 4,27	3,82 + 5,24	3,24 + 4,00	3,10 + 3,70
Сыворотка крови				
АлАТ ммоль/ч·л	0,65 ± 0,03	1,23 ± 0,03*	0,87 ± 0,10**	0,70 ± 0,03**
АсАТ, ммоль/ч·л	±0,0	±0,0	±	±
ЩФ, мк/ммольсек·л	0,77 ± 0,04	2,19 ± 0,29*	1,7 ± 0,06*/**/***	1,46 ± 0,051*/**
Гомогенат печени				
ТБК-активные продукты, ммоль/ч	58,63 ± 2,30	101,68 ± 4,69*	55,95 ± 1,94**	59,94 ± 1,90**
ВГ, у. е.	57,72 ± 2,86	15,72 ± 2,36	59,49 ± 1,52**	59,34 ± 1,77**
Желчь				
Скорость секреции желчи, мг/мин/100	5,93 ± 0,35	3,02 ± 0,14*	6,80 ± 0,42**/***	4,30 ± 0,35**
Желчные кислоты, г%	887,92 ± 16,33	502,31 ± 29,36*	882,36 ± 9,90**/***	755,82 ± 21,91**
Холестерин, г%	31,67 ± 1,81	17,00 ± 1,35*	29,77 ± 1,13**/***	23,37 ± 0,82**

Примечания. * Отклонение показателя статистически достоверно относительно группы интактного контроля, $p \leq 0,05$. ** Отклонение показателя статистически достоверно относительно группы контрольной патологии, $p \leq 0,05$. *** Отклонение показателя статистически достоверно относительно группы животных, леченых таблетками «Силибор», $p \leq 0,05$.

В ходе эксперимента установлено, что гранулы Гепатропин и таблетки Силибор способствовали существенному снижению МКП (соответственно с 4,41 до 3,51 и 3,55 %) и активности ЩФ (соответственно в 1,28 и 1,5 раза), АлАТ и АсАТ (соответственно в 1,4; 1,75 раза и в 1,18; 1,28 раза) в сыворотке крови, ТБК-активных продуктов (соответственно в 1,82 и в 1,69 раза) и повышению уровня ВГ (соответственно в 3,8 раза) в гомогенате печени, а также повышению секреции желчи (соответственно на 125 и 42 %), содержания желчных кислот (соответственно на 75,7 и 50,5 %) и холестерина в желчи (соответственно на 75,1 и 37,5 %) относительно аналогичных показателей группы контрольной патологии (табл. 67).

Гепатопротекторное действие гранул Гепатотропин подтверждено ингибированием процессов ПОЛ, повышением активности АОС, устранением явлений цитолиза гепатоцитов, воспаления и некроза, положительным влиянием на образование и секрецию желчи.

2.7.7. Модель экспериментального гепатита, вызванного туберкулостатиками

Изониазид и рифампицин являются индукторами изоформ цитохрома CTP2E1 и CTP3A4. Активация CTP3A4 приводит к повышению метаболизма изониазида с образованием токсичных метаболитов, что объясняет потенцирование гепатотоксического эффекта при совместном введении этих препаратов. Рифампицин стимулирует также изониазид-гидролазы, что приводит к увеличению образования гидразина, особенно у пациентов с медленным ацетилированием, тем самым повышая токсический потенциал препаратов. Пиразинамид способен активировать ПОЛ, истощая антиоксидантные резервы, повреждая мембранные структуры гепатоцитов, потенцируя гепатотоксическое действие рифампицина и изониазида.

Моделирование гепатита проводят путем в/ж введения смесь туберкулостатиков (изониазид 50 мг/кг, рифампицин 500 мг/кг и пиразинамид 1500 мг/кг) в виде водной суспензии в течение 14 дней.

Исследуемое средство животные получают в/ж за неделю до введения смеси туберкулостатиков и за 1 час до них ежедневно в течение 14 дней.

Эффективность исследуемых средств определяют по следующим показателям: процент выживания животных, МКП, активность АлАТ, уровень ЩФ, концентрация холестерина и общих липидов

в сыворотке крови; содержание ТБК-активных продуктов, уровень ВГ в гомогенате печени и активность каталазы в сыворотке крови.

Объект — *Гепатропин*. На модели экспериментального гепатита, вызванного введением туберкулостатиков, изучали фармакологическую активность комплексного растительного средства Гепатропин, которое содержит нативные порошки цветков календулы, ромашки, корня солодки голой, листьев крапивы двудомной, корневищ с корнями валерианы лекарственной, плодов шиповника коричного, семян каштана конского и пшеничные отруби. В качестве препарата сравнения использовали экстракты дымянки лекарственной и плодов расторопши пятнистой (далее — ЭДР).

Эксперимент был проведен на 40 белых беспородных крысах массой 190–210 г. Животные были разделены на 4 группы по 10 животных в группе: 1-я группа — интактный контроль, 2-я — положительный контроль (нелеченая патология), 3-я группа — животные, которым вводили препарат сравнения, 4-я группа — животные, которым вводили исследуемое средство Гепатропин. Крысам 2, 3 и 4-й групп с целью моделирования гепатита в/ж вводили смесь туберкулостатиков (изониазид 50 мг/кг, рифампицин 500 мг/кг и пиразинамид 1500 мг/кг) в виде водной суспензии в течение 14 дней. Исследуемое средство гранулы Гепатропин в дозе 900 мг/кг и препарат сравнения ЭДР в дозе 88 мг/кг вводили в/ж за неделю до смеси туберкулостатиков и за 1 час до них ежедневно в течении 14 дней.

Гепатит, вызванный туберкулостатиками, характеризовался достоверными изменениями функционально-биохимических показателей у животных группы положительного контроля. Было зафиксировано 75%-ное выживание животных. Также наблюдали достоверное относительно интактного контроля повышение МКП, что свидетельствует о развитии инфильтрационно-воспалительных процессов в органе. Подтверждением этого является достоверное повышение содержания ЩФ. Следствием усиления процесса цитолиза как результата деградации мембранных структур является достоверное повышение активности в сыворотке крови внутриклеточного энзима АлАТ. Вследствие нарушений метаболической функции печени происходило достоверное относительно интактного контроля повышение уровня холестерина и общих липидов в сыворотке крови. Подтверждением патологических процессов в органе

являлись нарушения в про- и антиоксидантном балансе: отмечалось усиление процессов ПОЛ и снижение активности антиоксидантной защиты. Установлено достоверное повышение ТБК-активных продуктов на фоне снижения уровня ВГ и антиоксидантного фермента каталазы. Это свидетельствует об интенсификации процессов ПОЛ и о функциональной недееспособности глютатионовой и ферментной защиты (табл. 69).

Таблица 69

Влияние средства Гепатропин на показатели, которые характеризуют нарушение функции печени у крыс на модели гепатита, вызванного туберкулостатиками

Показатели	Группа животных			
	1-я — интактный контроль (n = 5)	**2-я — положительный контроль (n = 7)**	**3-я — патология + Гепатропин, 900 мг/кг (n = 6)**	**4-я — патология + ЭДР, 88 мг/кг (n = 6)**
Выживание, %	100	75	83	83
МКП, %	3,50 ± 0,15	4,02 ± 0,13*	3,66 ± 0,27**	3,61 ± 0,13**
Сыворотка крови				
АлАТ, мккат/л	0,38 ± 0,02	0,78 ± 0,02*	0,49 ± 0,02	0,55 ± 0,06*/**
ЩФ, мкмоль/с·л	7,22 ± 1,09	10,27 ± 0,51*	6,32 ± 0,70**	5,53 ± 0,61**
Холестерин, г/л	0,77 ± 0,07	1,90 ± 0,09*	0,53 ± 0,08**	0,78 ± 0,06**
Общие липиды, г/л	1,31 ± 0,10	2,41 ± 0,22*	1,08 ± 0,15**/***	1,89 ± 0,24
Каталаза, у. е.	36,97 ± 2,78	28,54 ± 1,56*	53,51 ± 4,46*	54,60 ± 9,08*
Гомогенат печени				
ТБК-активные продукты, мкмоль/г	0,74 ± 0,02	0,37 ± 0,03*	0,27 ± 0,04*/***	0,50±0,03*/**
ВГ, мкмоль/г	3,27 ± 0,08	2,20 ± 0,10*	3,64 ± 0,20**/***	2,65±0,09*

Примечания. * Статистически достоверные отличия относительно интактного контроля, $p < 0,05$. ** Статистически достоверные отличия относительного позитивного контроля $p < 0,05$. *** Статистически достоверные отличия относительно ЭДР, $p < 0,05$.

Под влиянием гранул Гепатропин в дозе 900 мг/кг, как и под влиянием препарата сравнения, наблюдалось снижение инфильтрационно-воспалительных процессов в печени, о чем свидетельствует достоверное снижение показателя МКП относительно группы положительного контроля на фоне 83%-ного выживания животных (табл. 69). Позитивное влияние гранул Гепатропин на цитолитиче-

ские процессы в печени отражалось в достоверном снижении маркерного фермента АлАТ в 1,7 раза относительно группы положительного контроля. В отличие от препарата сравнения, который достоверно снижал только повышенный уровень холестерина и не влиял на уровень общих липидов, средство Гепатропин способствовало снижению обоих показателей липидного обмена. Это свидетельствовало о более действенном нормализующем влиянии Гепатропина на функцию печени.

Гранулы Гепатропин проявили выраженные антиоксидантные свойства, статистически значимо снижая относительно группы положительного контроля уровень ТБК-активных продуктов и повышая уровень ВГ и активность каталазы в сыворотке крови. По выраженности нормализующего влияния на нарушенный про- и антиоксидантный баланс средство Гепатропин превосходило препарат сравнения.

Таким образом, средство Гепатропин обладает гепатопротекторным действием на модель гепатита, вызванного туберкулостатиками. По выраженности нормализующего влияния на нарушения уровня липидов в сыворотке крови, про- и антиоксидантного баланса средство Гепатропин превосходит действие референс-препарата, который содержит экстракты дымянки лекарственной и плодов расторопши пятнистой.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Гепатозащитное* действие экстракта володушки при экспериментальном тетрациклиновом гепатите / Л. Б. Стрелкова [и др.] // Патол. физиология и эксперим. терапия. 2019. Т. 63, № 1. С. 77–82.

2. *Губич, О. И.* Сравнительная оценка гепатопротекторных свойств растительных адаптогенов на экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени in vivo / О. И. Губич, Я. Ю. Дашкова, И. Н. Кривленя // Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология. 2019. № 1. С. 54–62.

3. *Доклінічні* дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. 528 с.

4. *Изучение* гепатопротекторного действия растительного экстракта коры березы при экспериментальном гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом / В. В. Иванова [и др.] // Фундам. исслед. 2013. № 3, Ч. 2. С. 277–279.

5. *Изучение* гепатопротекторного действия растительных экстрактов при экспериментальном повреждении печени [Электронный ресурс] / О. Н. Потеряева [и др.] // Медицина и образование в Сибири. 2012. № 4. Режим доступа: https://mos.ngmu.ru/article/pdf.php?id=782. Дата доступа: 13.04.2023.

6. *Исследование* влияния гранул «Гепатропин» на течение хронического экспериментального гепатита [Электронный ресурс] / Л. В. Яковлева [и др.] // Universum: медицина и фармакология. 2016. № 10 (32). Режим доступа: https://7universum.com/ru/med. Дата доступа: 12.04.2023.

7. *Калефлон* как стимулятор регенераторных процессов в печени белых крыс при хроническом CCl_4-гепатите / И. О. Убашеев [и др.] // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН. 2009. № 2 (66). С. 134–136.

8. *Лигостаева, Ю. В.* Фармакогностическое исследование бересты и перспективы ее использования в медицине : дис. … канд. фарм. наук : 14.04.02 / Ю. В. Лигостаева. Новосибирск, 2015. 192 с.

9. *Оценка* гепатопротекторной активности «Гексафита» при D-галактозаминовом гепатите, антиоксидантной активности препарата и его ингредиентов / Е. В. Ферубко [и др.] // Бутлеровские сообщения. 2020. Т. 64, № 11. С. 70–76.

10. *Салахелдин Абделхамид, Х. М.* Гепатопротекторные и антиоксидантные эффекты экстрактов лотоса орехоносного : автореф. дис. … канд. биол. наук : 03.03.01 ; 03.01.04 / Х. М. Салахелдин Абделхамид ; Астрах. гос. ун-т. Астрахань, 2015. 23 с.

11. *Сокольская, Т. А.* Экспериментальное и клиническое изучение фитопрепаратов из расторопши пятнистой / Т. А. Сокольская, Л. В. Крепкова, А. А. Шкаренков // Вопр. биол., мед. и фарм. химии. 2008. № 4. С. 3–6.

12. *Сравнительная* оценка гепатопротекторной активности экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого и его смесей с энтеросорбентами / Л. Г. Дворникова [и др.] // Фундам. исслед. 2012. № 10, Ч. 2. С. 393–396.

13. *Убеева, Е. А.* Влияние экстракта сухого «Гипелив» на течение экспериментального гепатита : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.03.06 / Е. А. Убеева ; Ин-т общ. и эксперим. биологии СО РАН. Улан-Удэ, 2019. 26 с.

14. *Hepatoprotective* activity of Terminalia paniculata against paracetamol induced hepatocellular damage in Wistar albino rats / B. R. Eesha [et al.] // Asian. Pac. J. of Trop. Med. 2011. Vol. 4, № 6. P. 466–469.

15. *Яковлева, Л. В.* Гепатопротекторное действие растительного средства в условиях экспериментального гепатита, вызванного туберкулостатиками / Л. В. Яковлева // Фармакология, клиническая фармакология. 2017. № 3.

3. МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ IN VITRO

3.1. ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ

В последнее время ученые уделяют большое внимание теме свободных радикалов и реакционно-способных кислородсодержащих частиц. Нарушение окислительно-антиоксидантного равновесия в организме приводит к развитию различных патологических состояний. Ухудшение экологической обстановки, потребляемая нами пища, увеличение числа стрессовых ситуаций оказывают существенное влияние на биологическое производство свободных радикалов, приводит к дисбалансу и снижению защитных сил организма человека. Это в свою очередь повышает риск сердечно-сосудистых заболеваний, провоцирует развитие различных воспалительных процессов, атеросклероза и других патологий.

Антиоксиданты — вещества, способные в малых дозах тормозить свободнорадикальное окисление. Они широко применяются в медицине для профилактики различных заболеваний, в пищевой промышленности для торможения процессов окислительной порчи жиров и в других областях. Основным требованием к антиоксидантам является их действие в низких концентрациях; они должны быть нетоксичными и дешевыми.

Антиоксиданты играют важную роль в регуляции свободнорадикальных превращений в организме, существенно влияя на его состояние, поэтому исследования антиокислительных свойств соединений в последнее время получили широкое распространение.

Свободные радикалы — это молекулярные частицы, имеющие неспаренный электрон на внешней электронной оболочке. Большинство радикалов, образующихся в организме человека, можно разделить на природные (образуются в процессе метаболизма) и чужеродные (образуются под воздействием ультрафиолетового или радиационного излучений, продуктов метаболизма ксенобиотиков). Природные радикалы можно в свою очередь разделить: на *первичные* (супероксид, убисемихинон и нитроксид) — образуются ферментативным путем и нужны для клетки, *вторичные* (гидроксилы и радикалы липидов) — повреждают клетки и *третичные* — радикалы антиоксидантов.

Известно, что свободные радикалы играют важную роль в патогенезе воспаления из-за своих высоких реактогенных свойств. В то время как образование свободных радикалов представляет собой физиологический ответ, их чрезмерное образование и высокие концентрации вызывают повреждения мембран клеток и субклеточных структур, что в свою очередь приводит к активации и поддержанию воспаления.

ПОЛ вызывает изменение липидного состава мембран вследствие удаления легко окисляющихся липидов: фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилинозита. При этом увеличивается вязкость мембран в результате уменьшения содержания жидких липидов в бислойных участках; возрастает скорость появления поперечных межмолекулярных сшивок и возрастания доли упорядоченных липидов с ограниченной подвижностью.

Окисление липидных молекул приводит к необратимому изменению или повреждению мембранных структур, нарушению их проницаемости для ионов, образованию перекисей и увеличению гидрофильности молекул. В результате окисления появляются молекулы, содержащие сопряженные двойные связи (диеновые конъюгаты), а также токсичные и мутагенные альдегиды.

Реакция окисления протекает в несколько стадий: инициирование, продолжение, разветвление и обрыв цепи.

Инициирование цепной реакции начинается с того, что в липидный слой мембран или липопротеинов внедряется свободный радикал. Чаще всего это радикал гидроксила. Являясь небольшой по размеру незаряженной частицей, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (которые принято обозначать как LH), входящими в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. При этом образуются липидные радикалы:

$$HO\bullet + LH = H_2O + L\bullet.$$

Липидный радикал (L•) вступает в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом, при этом образуется новый свободный радикал — радикал липоперекиси (LOO•):

$$L\bullet + O_2 = LOO\bullet.$$

Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида LOOH и нового радикала L•:

$$LOO\bullet + LH = LOOH + L\bullet.$$

Чередование двух последних реакций представляет собой цепную реакцию ПОЛ. Существенное ускорение ПОЛ наблюдается в присутствии небольших количеств ионов двухвалентного железа. В этом случае происходит разветвление цепей в результате взаимодействия Fe^{2+} с гидроперекисями липидов:

$$Fe^{2+} + LOOH = Fe^{3+} + OH^{-} + LO\bullet.$$

Образующиеся радикалы LO• инициируют новые цепи окисления липидов:

$$LO\bullet + LH = LOH + L\bullet;\ L\bullet + O_2 = LOO\bullet \text{ и т. д.}$$

В биологических мембранах цепи могут состоять из десятка и более звеньев. Цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами (InH), ионами металлов переменной валентности (например, теми же Fe^{2+}) или друг с другом:

$$LOO\bullet + Fe^{2+} + H^{+} = LOOH,$$

$$LOO\bullet + InH = In\bullet,$$

$$LOO\bullet + LOO\bullet = \text{молекулярные продукты.}$$

В норме окислительные процессы протекают по свободнорадикальному механизму с низкой скоростью, так как существуют специальные механизмы защиты: преобразование активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления под действием антиоксидантов и ферментов. В случаях нарушения защитных функций возникает необходимость восстановления антиоксидантного статуса организма в профилактических и терапевтических целях.

Предотвращение избыточной активации ПОЛ осуществляется благодаря наличию специальной системы антиоксидантной защиты, основу которой составляет комплекс веществ ферментативной и неферментативной природы.

3.1.1. Модельная система, генерирующая активные формы кислорода с использованием фосфатного буфера и люминола

В качестве модельной системы, где генерируются активные формы кислорода (АФК), используют 20 мл фосфатного буфера (20 мМ KH_2PO_4, 105 мМ KCl) с добавлением раствора люминола (10–5 М) и цитрата натрия (50 мМ). Величину pH полученного раствора доводят до 7,45 ед. титрованием насыщенным раствором едкого калия.

К 20 мл модельной системы добавляют исследуемые образцы в различных объемах. Для инициирования реакций, сопровождающихся образованием АФК, вводят 1 мл 50 мМ раствора солей Fe^{2+}. Регистрация свечения продолжается в течение 5 минут при постоянном перемешивании. Хемилюминесценцию регистрируют на установке типа ХЛМ-003 (Россия). Хемилюминесценция модельных систем характеризуется спонтанным свечением, быстрой вспышкой и развивающейся затем медленной вспышкой. Основными наиболее информативными характеристиками хемилюминесценции служат амплитуда максимального свечения и светосумма свечения, определяющаяся по интенсивности излучения.

Объект — *первоцвет весенний.* Оценку влияния средств на основе травы первоцвета весеннего на процессы свободнорадикального окисления проводили на модельных системах, генерирующих АФК.

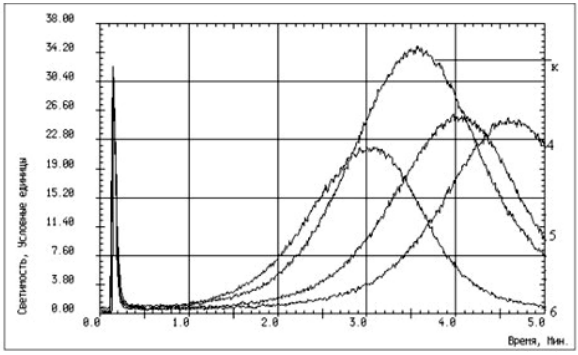
В 20 мл модельной системы вносили сиропы 1 и 2 первоцвета весеннего и сироп Гербион, содержащий экстракт первоцвета весеннего (KRKA), в объемах 0,01 и 0,1 мл. Сиропы 1 и 2 приготовлены двумя способами:

– 1 способ — густой экстракт травы первоцвета весеннего растворяли в воде очищенной. Затем прибавляли сахар, после растворения которого полученный раствор нагревали при постоянном помешивании до кипения. Полученный сироп фильтровали в горячем виде;

– 2 способ — сахар растворяли в воде очищенной, затем нагревали при постоянном помешивании до кипения. После охлаждения в полученном сиропе растворяли экстракт первоцвета.

При добавлении в модельную систему, генерирующую АФК, сиропов *P. veris L.*, уменьшалась амплитуда быстрой вспышки, удлинялся латентный период, медленная вспышка начиналась позже и угасала раньше, значение максимальной светимости снижалось. Вследствие этого самая показательная характеристика хемилюминесценции — светосумма свечения — была меньшей по сравнению с контролем (рис. 24).

В табл. 70 приведены данные влияния сиропов на хемилюминесценцию в модельной системе АФК.



К — контроль, 4 — сироп 1 (0,1 мл); 5 — сироп 2 (0,1 мл); 6 — сироп Гербион (0,1 мл)

Рис. 24. Влияние сиропов густого экстракта первоцвета на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе активной формы кислорода

Таблица 70

Влияние сиропов на светосумму хемилюминесценции модельной системы, генерирующей активные формы кислорода

Опыт	Добавляемый объем, мл	Хемилюминесценция в модели АФК, %
Контроль	–	100
Сироп 1	0,01 0,1	78,38 54,25*
Сироп 2	0,01 0,1	86,89 66,27*
Сироп Гербион	0,01 0,1	83,81 57,09*

Примечания. Интенсивность свечения модельных систем без добавления исследуемых веществ принята за 100 %. Приведены средние данные 6 измерений. * Достоверные отличия ($p < 0,05$).

3.1.2. Спектрофотометрический метод с реактивом DPPH

Метод основан на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) по схеме:

$$DPPH^* + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^*.$$

Источником получения свободных катионных радикалов — DPPH* служит 0,01%-ный метанольный раствор реактива DPPH. Раствор должен иметь оптическую плотность не выше 0,9 при 517 нм.

К 5 мл (4,2 мл) рабочего раствора DPPH добавляют 50 мкл (600 мкл) исследуемых экстрактов, перемешивают и регистрируют кинетику убыли оптической плотности раствора в течение 30 минут при длине волны 517 нм. В качестве раствора сравнения используют метанол. Антирадикальную активность определяют по формуле

$$X = \frac{(A_0 - A_1) \cdot 100}{A_0},$$

где A_0 — оптическая плотность раствора DPPH; A_i — оптическая плотность раствора DPPH после добавления извлечения.

Объекты — *ольха серая, ольха черная.* Для оценки антиоксидантной активности суммы биологически активных веществ из листьев ольхи черной и серой были приготовлены серии извлечений из сырья: 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья, просеянного сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, помещали в колбу вместимостью 100 мл, заливали 30 мл различных экстрагентов (H_2O, 10-, 20-, 30-, 40-, 50-, 60-, 70-, 80-, 96%-ный спирт этиловый) и кипятили на водяной бане с обратным холодильником в течение 40 минут при периодическом перемешивании. Полученные экстракты центрифугировали в течение 5 минут со скоростью 3000 об/мин. К 4,2 мл рабочего раствора DPPH добавляли 600 мкл исследуемых экстрактов.

На рис. 25 представлены результаты определения антиоксидантной активности извлечений из листьев ольхи черной и серой.

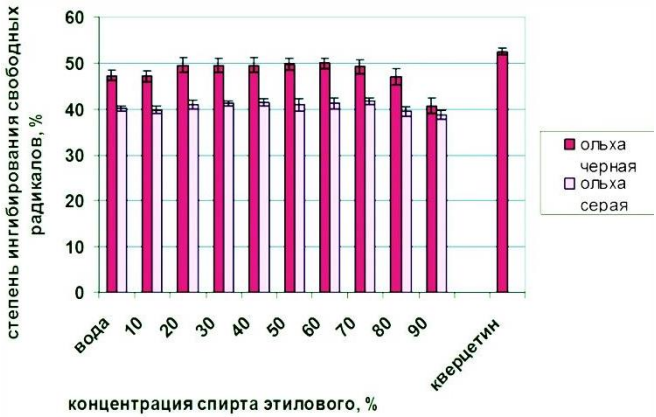


Рис. 25. Антиоксидантная активность извлечений из листьев ольхи серой и черной

Из рис. 25 видно, что степень ингибирования свободных катионных радикалов водными и спиртовыми извлечениями из листьев ольхи черной варьировала от 40,70 ± 1,77 до 49,86 ± 1,19 %, из листьев ольхи серой — от 38,55 ± 0,98 до 41,67 ± 0,80 %.

В качестве стандарта для сравнения антиоксидантной активности был использован 1%-ный спиртовой раствор кверцетина, который в аналогичных условиях и количествах вызывал снижение числа свободных катионных радикалов на 52,47 ± 0,65 %, что указывает на высокую степень антиоксидантной активности листьев ольхи черной и ольхи серой.

Объект — *сироп Фитотон.* Антирадикальная активность сиропа Фитотон, который содержит 15 % сухих экстрактов растений: стебли и листья лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria (L.) Maxim*), листья бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia (L.) Fritsch.*) и стебли и листья мяты перечной (*Mentha piperita L.*) в соотношениях 1 : 1 : 1, была доказана с использованием раствора реактива DPPH. Снижение содержания катионных радикалов DPPH* на 50 % происходило под действием сиропа Фитотон в дозе 23,05 мкг/мл. Для препарата сравнения — аскорбиновой кислоты — данный показатель составил 4,81 мкг/мл, что говорит о высокой антирадикальной активности растительного комплексного растительного сиропа.

Объект — *кипрей узколистный.* Степень влияния водного и водно-спиртовых экстрактов травы кипрея узколистного на свободные катион-радикалы DPPH представлена на рис. 26.

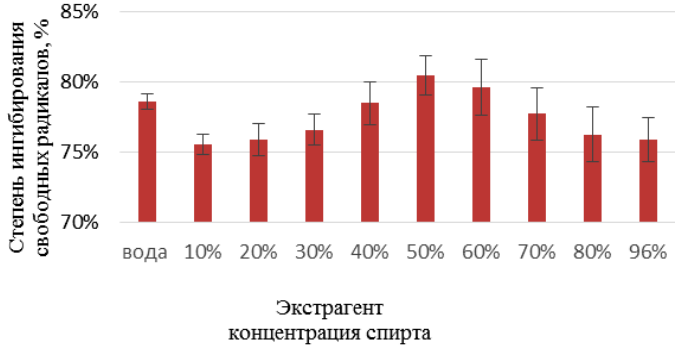


Рис. 26. Степень ингибирования свободных радикалов водным и водно-спиртовыми извлечениями травы кипрея узколистного

Степень ингибирования катион-радикалов DPPH исследуемыми препаратами варьировала в пределах от 75,5 ± 072 до 80,6 ± 1,39 %. В качестве стандарта для сравнения антиоксидантной активности был использован 1%-ный спиртовой раствор кверцетина, вызывающий снижение количества свободных катионных радикалов на 63,38 ± 0, 48 %. Максимальный эффект наблюдался у 50%-ного водно-спиртового экстракта, минимальный у 10%-ного водно-спиртового экстракта.

3.1.3. Модельная система с применением суспензии желточных липопротеидов

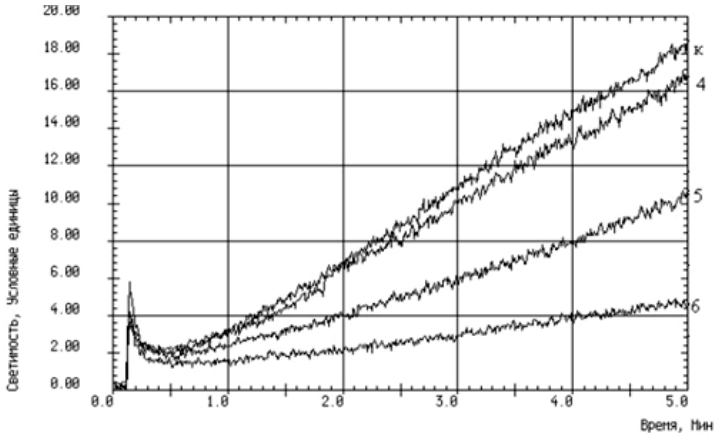
Модельная система, представляет собой суспензию желточных липопротеидов (ЖЛП) куриных яиц, помещенную в среду культивирования с оптимальной величиной pH (2,0) для проведения реакции ПОЛ. Желток куриных яиц содержит 2 типа липидно-белковых комплексов, соответствующих по липидному и белковому составу липопротеидам очень низкой и низкой плотности плазмы крови.

Липиды получают путем гомогенизирования куриного желтка в фосфатном буфере (40 мМ KH_2PO_4 + 105 мМ KCl, pH 7,5) в соотношении 1 : 5 и последующим разбавлением в 20 раз.

К 20 мл модельной системы добавляют экспериментальное количество исследуемого образца (от 0,01 до 0,5 мл), затем в систему добавляют 1 мл 50 мМ раствора Fe^{2+}, что приводит к инициированию окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, и образованию продуктов перекисного окисления. Данное явление в свою очередь сопровождается хемилюминесценцией. Уровень спонтанного свечения характеризует интенсивность ПОЛ до введения катализатора; амплитуда быстрой вспышки отражает скорость окисления ионов Fe^{2+} и образования АФК и гидроперекисей липидов; длительность латентного периода коррелирует с антиокислительной активностью изучаемого образца. Величина светосуммы свечения определяет способность липидов подвергаться окислению.

Объект — *первоцвет весенний.* Изучали влияние на ПОЛ сиропа на основе травы первоцвета весеннего. В модельную систему вносили образцы сиропов 1 и 2 (приготовление описано в 3.1.1) и сиропа Гербион с экстрактом первоцвета весеннего (KRKA) в объемах 0,01 и 0,1 мл.

Внесение в модельную систему ЖЛП сиропа травы *P. veris L.* сопровождалось уменьшением параметров светосуммы и амплитуды максимального свечения, наибольшую активность проявил сироп 2 (рис. 27).



К — контроль, 4 — сироп 1 (0,1 мл); 5 — сироп 2 (0,1 мл); 6 — сироп Гербион (0,1 мл)

Рис. 27. Влияние сиропов густого экстракта первоцвета весеннего на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе перекисного окисления липидов

В табл. 71 приведены данные о влиянии сиропов травы *P. veris L.* на хемилюминесценцию модельной системы, инициирующей реакции ПОЛ.

Таблица 71

Влияние сиропов на светосумму хемилюминесценции модельной системы перекисного окисления липидов

Опыт	Добавляемый объем, мл	Хемилюминесценция в модели ПОЛ, %
Контроль	–	100
Сироп 1	0,01 0,1	91,46 75,83
Сироп 2	0,01 0,1	70,53* 67,58*
Сироп Гербион	0,01 0,1	50,77* 29,73*

Примечание. Интенсивность свечения модельных систем без добавления исследуемых веществ принята за 100 %. Приведены средние данные 6 измерений. * Достоверные отличия ($p < 0,05$).

Объект — *лекарственное средство Пентафитон.* Лекарственное средство Пентафитон — 40%-ная настойка, полученная из сырья следующих видов растений: пион уклоняющейся (*Paeonia anomala L.*), купена душистая (*Poligonatum odoratum Mill.*), спаржа лекарственная (*Asparagus officinalis L.*), горичник Морисона (*Peucedanum morisonii Bess.*) и якорцы стелющиеся (*Tribulus terrestris L.*).

Оценка антиоксидантной активности настойки Пентафитон с использованием модельной системы ЖЛП показала выраженное ингибирующее влияние на кинетику Fe^{2+} индуцированной хемилюминесценции, о чем свидетельствует уменьшение амплитуды быстрой вспышки, а также снижение скорости хемилюминесценции на начальной экспоненциальной стадии медленной вспышки. Установлен дозозависимый эффект: при увеличении концентрации лекарственного средства в инкубируемой среде его антирадикальное действие повышалось.

3.1.4. Спектрофотометрическое определение ингибирования супероксидрадикала в щелочном растворе диметилсульфоксида

Супероксидрадикал генерируется в щелочном растворе диметилсульфоксида (ДМСО), 1 мл которого содержит 0,1 мл 5 мМ раствора натрия гидроксида. К 3 мл щелочного раствора ДМСО прибавляют 50 мкл исследуемых экстрактов и 0,2 мл 0,001%-ного раствора нитросинего тетразолия. После инкубации при комнатной температуре в течение 5 минут измеряют оптическую плотность при длине волны 560 нм. Антирадикальную активность рассчитывают по формуле

$$\%\ \text{ингибирования} = \frac{\text{Ах}}{\text{Астандарта}} \cdot 100\ \%. \qquad (3.1)$$

Объект — *морошка приземистая.* Методом ингибирования супероксидрадикала в щелочном растворе ДМСО была изучена антирадикальная активность 4 образцов морошки приземистой (*Rubus chamaemorus L.*), произрастающей в различных заказниках Республики Беларусь: «Лонно» (образец № 1), «Ельня» (образец № 2), «Большой мох» (образец № 3), «Жада» (образец № 4). Результаты представлены в табл. 72.

Таблица 72

Антирадикальная активность экстрактов морошки приземистой

Образец	Пол	Ингибирование гидроксильных радикалов (OH), %	Ингибирование супероксидрадикала в щелочном растворе ДМСО, %	NO ингибирующая активность, %
1	♂	84,08 ± 2,75	98,12 ± 1,19	10,71 ± 0,36
	♀	71,32 ± 3,12	121,34 ± 2,02	6,87 ± 0,17
2	♂	75,88 ± 1,97	103,24 ± 1,65	42,34 ± 1,65
	♀	40,60 ± 0,65	98,68 ± 1,34	44,57 ± 1,23
3	♂	85,08 ± 2,06	123,65 ± 2,14	8,52 ± 0,21
	♀	92,20 ± 1,80	149,28 ± 2,50	4,67 ± 0,11
4	♂	65,68 ± 1,24	96,37 ± 1,58	37,33 ± 1,13
	♀	66,08 ± 1,37	99,95 ± 1,36	43,18 ± 1,58

Максимальную ингибирующую активность в отношении гидроксильных радикалов и супероксидрадикалов проявили экстракты растений популяции заказника «Большой мох», которая расположена в пределах послепожарной трансформации растительного сообщества. Наименьшую ингибирующую активность проявили экстракты листьев *Rubus chamaemorus L.* к азотоксидному радикалу.

3.1.5. Спектрофотометрический метод измерения NO-ингибирующей активности

Противорадикальную активность экстрактов оценивают по степени гашения NO-радикала, сгенерированного нитропруссидом натрия, по реакции Грисса–Илосвая.

Реакционную смесь, состоящую из 0,3 мл 5 мМ раствора нитропруссида натрия в фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4) и 0,5 мл исследуемого экстракта (разведение 1 : 10) инкубируют при температуре 25 °С в течение 5 часов. Параллельно аналогичным образом готовят контрольный образец, но без добавления экстракта. После инкубирования к реакционной смеси добавляют 0,5 мл раствора реактива Грисса–Илосвая (1%-ный сульфаниламид и 0,1%-ный ^1-нафтилэтилендиамин дигидрохлорид в 2,5%-ной фосфорной кислоте). Через 30 минут измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 540 нм. Антирадикальную активность рассчитывали по формуле (3.1).

Объекты — *вздутоплодник сибирский, родиола розовая, родиола северная, ряска малая.* Ингибирующая активность NO-радикалов была изучена для спиртовых извлечений с использованием 40- и 70%-ного спирта следующих видов растений: вздутоплодника сибирского (*Phlojodicarpus sibiricus Steph. Ex Spreng.*), родиолы розовой (*Rhodiola rosea L.*), родиолы северной (*Rhodiola borealis Boriss.*) и ряски малой (*Lemna minor*) (табл. 73).

Таблица 73

Сравнительная антирадикальная и антиоксидантная активность экстрактов

Образец/экстракция	Ингибирование				
	$ABTS^+$, %	**$DPPH^+$, %**	**O_2^-, %**	**NO^-, %**	**ПОЛ, %**
Вздутоплодник сибирский					
Корни / 70 %	94,4 ± 4,5	91,3 ± 4,6	21,9 ± 1,1[1]	50,3 ± 2,5[4]	14,7 ± 0,8[1]
Корни / 40 %	95,5 ± 4,6	90,9 ± 4,5	44,9 ± 2,3[3]	56,5 ± 2,6[4]	34,2 ± 1,5[3]
Надземная биомасса / 70 %	98,6 ± 4,6	93,5 ± 4,5	32,4 ± 1,5[2]	56,9 ± 2,6[4]	21,6 ± 1,1[2]
Каллус / 70 %	98,3 ± 4,6	94,4 ± 4,7	90,9 ± 4,5[4]	51,7 ± 2,6[4]	21,8 ± 1,1[2]
Родиола северная					
Корни / 70 %	99,2 ± 5,0	97,1 ± 4,9	92,8 ± 4,6[4]	18,9 ± 0,9[2]	33,0 ± 1,7[3]
Корни / 40 %	99,2 ± 5,1	95,9 ± 4,8	97,7 ± 4,9[4]	28,8 ± 1,4[3]	36,3 ± 1,8[3]
Родиола розовая					
Корни / 70 %	99,9 ± 5,0	99,9 ± 5,0	99,9 ± 5,0[4]	57,0 ± 2,7[4]	46,8 ± 2,3[4]
Корни / 40 %	99,9 ± 4,9	99,9 ± 4,8	99,7 ± 4,8[4]	57,5 ± 2,8[4]	54,4 ± 2,7[3]
Надземная биомасса / 70 %	99,9 ± 5,0	99,9 ± 5,0	99,6 ± 4,9[4]	58,9 ± 2,9[4]	33,5 ± 1,7[3]
Коммерческие аптечные препараты					
Родиола розовая, корни / 40 %	99,9 ± 5,0	99,9 ± 4,8	99,9 ± 4,7[4]	24,4 ± 1,2[3]	59,3 ± 3,0[3]
Женьшень, корни / 70 %	99,0 ± 4,9	99,9 ± 5,0	0	24,8 ± 1,3[3]	38,1 ± 1,9[3]
Ряска малая					
Биомасса / 70 %	99,1 ± 4,7	99,0 ± 4,9	0	7,6 ± 0,4[1]	21,9 ± 1,1[2]

Примечание. Значения с одинаковыми надстрочными цифрами статистически значимо не различались при $p < 0,05$.

У *Phlojodicarpus sibiricus* значения антиоксидантной активности экстрактов надземной части, корней, вне зависимости от используемой концентрации экстрагента, находились в пределах 50–57 %.

Ингибирующая активность экстрактов из *Rhodiola rosea*, произрастающей в Якутии, составляла 57–59 %. Сравнение антиоксидантной активности экстрактов корней и корневищ *Rhodiola rosea*

и *Rhodiola borealis* (19–29 %) показало видозависимость в отношении ингибирования NO-радикала, что, вероятно, может обусловливать различающиеся фармакологические и лечебные свойства у разных видов родиолы.

3.1.6. Спектрофотометрический метод, основанный на изучении кинетики реакции ингибирования аутоокисления адреналина

Об антиоксидантной активности исследуемого растительного сырья судят по его способности ингибировать аутоокисление адреналина in vitro и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода. Антиоксидантную активность исследуемых препаратов выражают в процентах ингибирования аутоокисления адреналина. Величина антиоксидантной активности более 10 % свидетельствует о ее наличии.

Исследуемые экстракты смешивают с экстрагентом в соотношении 1 : 100. После этого 10 мкл полученного раствора добавляют к 4 мл карбонатного буфера (pH 10,65) и прибавляют 200 мкл 0,1%-ного раствора адреналина. Измеряют прирост оптической плотности раствора при 347 нм в течение 10 минут. В качестве контрольной пробы используют образец экстракта в карбонатном буфере без адреналина. Антиоксидантную активность экстрактов рассчитывают по формуле

$$\text{АОА} = \frac{\text{Аконтр} - \text{Ах}}{\text{Аконтр}} \cdot 100\ \%.$$

3.1.7. Спектрофотометрическое определение ингибирования гидроксильных радикалов

Гидроксильные радикалы были получены с помощью реакции Фентона (Fe^{2+} — ЭDTA-H_2O_2-системы). Антирадикальную способность по отношению к гидроксильным радикалам измеряют с помощью дезоксирибозного метода. Модельная система содержит: 0,5 мл 2-дезоксирибозы (2,8 мМ), 0,5 мл фосфатного буфера (PBS, pH 7,4), 0,15 мл раствора железа сульфата в ЭDTA (10 мМ $FeSO_4$, 10 мМ ЭDTA) и 0,15 мл перекиси водорода (10 мМ).

К реакционной смеси добавляют 50 мкл исследуемых экстрактов, окончательный объем реакционной смеси составляет 1 мл.

Смесь инкубируют в течение 4 часов при 37 °С. После инкубации реакцию останавливают с помощью 0,8 мл 2,8%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, затем добавляют 0,8 мл раствора тиобарбитуровой кислоты (1%-ный раствор в 50 мМ гидроксида натрия). Нагревают 10 минут на водяной бане, после охлаждения измеряют оптическую плотность при 520 нм. В качестве стандартного используют 0,05%-ный раствор галловой кислоты. Антирадикальную активность рассчитывают по формуле

$$\% \text{ ингибирования} = \frac{\text{Аконтр} - \text{Ах}}{\text{Аконтр}} \cdot 100\ \%. \qquad (3.2)$$

3.1.8. Антиоксидантная активность методом ABTS

ABTS-радикал генерируют смешиванием аликвот 7,0 мМ водного раствора 2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) и 2,45 мМ раствора персульфата калия при температуре 37 °С в течение 12–16 часов.

Для проведения реакции к 0,15 мл растительного экстракта добавляют 2,85 мл подготовленного раствора катион-радикала ABTS+. Оптическую плотность измеряли при 734 нм после инкубации смеси в течение 15 минут при 37 °С в темноте (UV-3600, Shimadzu, Япония). В качестве контроля использовали пробу без экстракта. Антирадикальную активность рассчитывали по формуле (3.2).

Объект — *пажитник греческий.* Антиоксидантная активность по способности улавливать свободные радикалы $ABTS^+$ была изучена для водно-спиртового экстракта семян пажитника греческого (*Trigonélla foenum-graecum L.*). Экстракцию семян пажитника греческого проводили 70 % по этанолу на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 часов. Затем 70–200 мкл водно-этанольного экстракта семян пажитника греческого добавляли к 2,0 мл раствора $ABTS^+$ в стеклянной кювете и при температуре 25 °С измеряли поглощение смеси при 734 нм в течение 6 минут (спектрофотометр Agilent 8453) при постоянном перемешивании. Для характеристики антиоксидантной активности использовали значение оптической плотности спустя 1 и 6 минут после смешивания. Активность экстрактов реакции с $ABTS^{+}$• определялась относительно тролокса как стандарта. Сравнительная оценка антиоксидантной активности велась по величине антиоксидантного парамет-

ра, который рассчитывался как тангенс угла наклона прямых зависимостей D_0–D от количества сухого вещества в граммах, используемого для реакции, и тролокса в мкмоль, а также по параметру антиоксидантной активности, представляющей собой величину, показывающую количество мкмоль эквивалента тролокса / г сухой массы семян. Результаты рассчитывали в эквивалентах тролокса.

Антиоксидантная активность семян пажитника греческого, измеренная при помощи $ABTS^{+}$•, варьировала в пределах от 13,15 до 17,84 мкмоль тролокса / г сухих семян (после 1 минуты проведения эксперимента) и от 16,50 до 21,61 мкмоль тролокса / г сухих семян (после 6 минут проведения эксперимента). Антиоксиданты пажитника греческого реагировали с катион-радикалами в течение первой минуты, обеспечивая 80–91 % вклада антиоксидантной активности, а затем протекала более медленная стадия, на протяжении которой, возможно, проходила реакция с катион-радикалами продуктов окисления антиоксидантов, образовавшихся на начальной стадии процесса.

Объект — *кипрей узколистный.* Результаты определения антиоксидантной активности водного и водно-спиртовых экстрактов из травы кипрея узколистного представлены на рис. 28.

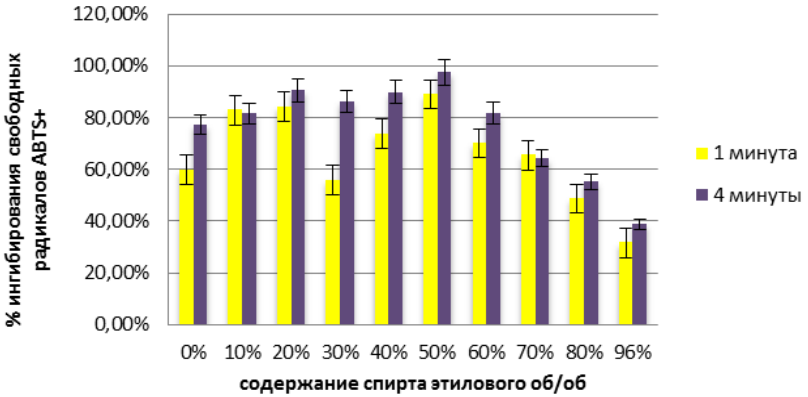


Рис. 28. Зависимость степени ингибирования свободных радикалов от концентрации спирта этилового, использованного для экстракции травы кипрея узколистного

Ингибирование катион-радикалов $ABTS^{+}$• через одну минуту после добавления экстракта варьировало в пределах от 31,66 до 89,02 %, на 4 минуте измерения — от 38,89 до 99,56 %. Максимальное ингибирование катион-радикалов $ABTS^{+}$• наблюдалось при добавлении

извлечения из травы кипрея узколистного, приготовленного с использованием в качестве экстрагента 50%-ного спирта этилового.

Интенсивное снижение катион-радикалов $ABTS^{+}$• на 1-й минуте измерения свидетельствует о присутствии в экстрактах травы кипрея узколистного высокоактивных антиоксидантов, которые действуют уже в течение 1-й минуты.

В качестве стандарта для сравнения антиоксидантной активности извлечений был использован 0,1%-ный спиртовой раствор кверцетина, который ингибировал 98,60 % катионов на 1-й минуте исследования и 99,41 % — на 4-й минуте.

3.1.9. Оценка антиоксидантной активности с использованием культуры клеток Paramecium caudatum, находящихся в активной фазе роста

Культура клеток *Paramecium caudatum* используется в качестве биологической модели для определения антиоксидантного (регулирующего ПОЛ) действия. *Paramecium caudatum* обладает морфологическими признаками клетки и реагирует на внешнюю среду подобно многоклеточным организмам. Клетки *Paramecium caudatum* инкубируют до 30 суток при температуре 21 ± 1 °С.

Одним из механизмов токсического действия различных соединений (например, металлов, 3%-ной перекиси водорода) является изменение внутриклеточных условий из-за нарушения проницаемости мембраны. Предварительное внесение в среду антиоксидантного соединения способствует выживаемости клеток.

В качестве фактора, вызывающего 100%-ную гибель культуры клеток *Paramecium caudatum* в течение 5 минут, применяют 3%-ный раствор водорода пероксида. Используют культуру инфузорий, содержащую в экспоненциальной фазе не менее 2500–3000 особей в мл среды, а в стационарной не менее 6500–7500 особей.

В опытах к 1 мл среды с инфузориями добавляют 1 мл антиоксиданта и 1 мл токсиканта. При оценке выживаемости контролем являются интактные клетки инфузорий. Для регистрации числа инфузорий использовали счетную камеру Горяева. Контроль гибели клеток ведут под микроскопом с помощью секундомера. Опыт проводят в пяти повторностях и для расчетов итогового индекса биологической активности используют среднюю арифметическую величину.

Объект — *крапива двудомная.* На данной модели была изучена антиоксидантная активность для измельченного сырья листьев крапивы двудомной (*Urticae dioicae*) в фильтр-пакетах, из которых готовили извлечение путем нагревания лекарственного растительного средства с экстрагентом в соотношении 1,5 : 100 на водяной бане с обратным холодильником в течение 20 минут. Полученные извлечения декантировали с остатка сырья и фильтровали через бумажный фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата. Было установлено, что настой листьев крапивы двудомной проявляет активность в концентрациях от $1 \cdot 10^{-1}$–$1 \cdot 10^{-4}$, повышая устойчивость клеток к воздействию процессов свободнорадикального окисления примерно на 20–30 %.

Объект — *кровохлебка лекарственная.* На различных моделях было доказано, что экстракты надземной части кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis L.*), собранной в разные фазы развития, проявляют выраженные антиоксидантные свойства и антирадикальную активность по отношению к поглощению АФК, «гашению» свободных радикалов, ингибированию процессов ПОЛ и обладают выраженной железо-хелатирующей активностью (табл. 74).

Таблица 74

Антиоксидантная активность экстрактов травы кровохлебки лекарственной

Методы определения антиоксидантной активности	Антиоксидантная активность экстрактов травы кровохлебки в разные фазы развития, %			
	начало вегетации	бутонизация	цветение	плодоношение
Метод ингибирования ПОЛ	68,01 ± 0,56	70,11 ± 0,91	71,25 ± 0,35	70,20 ± 1,02
Метод ингибирования гидроксил-радикала	65,43 ± 0,89	64,56 ± 1,06	76,60 ± 0,97	64,92 ± 1,21
Метод ингибирования супероксид-радикала	24,93 ± 0,98	73,31 ± 1,34	100,01 ± 0,59	66,39 ± 1,13
Метод ингибирования NO-радикала	7,44 ± 2,88	37,78 ± 2,01	31,29 ± 2,48	25,87 ± 1,99
DPPH-метод	85,98 ± 2,43	88,91 ± 2,13	89,41 ± 1,53	87,46 ± 1,28
ABTS-метод	76,42 ± 2,64	90,85 ± 2,07	85,77 ± 2,12	64,63 ± 2,36
Fe^{2+}-хелатирующая активность	37,49 ± 1,95	60,19 ± 1,95	54,76 ± 1,73	40,21 ± 2,04
Аутоокисление адреналина	23,75 ± 0,78	48,89 ± 1,13	31,57 ± 0,57	36,09 ± 1,89

Примечания. DPPH — антирадикальная активность в отношении ДФПГ-радикала, Fe^{2+} — Fe^{2+}-хелатирующая активность, O_2^- — связывание супероксид-анион радикала, ЖЛП-метод — антиоксидантная активность в отношении накопления ТБК-активных продуктов, NO — связывание молекул оксида азота (II). * Вещество сравнения.

Максимальной антиоксидантной и антирадикальной активностью обладали экстракты травы кровохлебки, собранной в период бутонизации и цветения. Данный факт обусловлен особенностями состава и количественного содержания полифенольного комплекса травы кровохлебки, который участвует в процессах нейтрализации влияния свободных радикалов и оказывает воздействие на различные этапы окислительных процессов с участием АФК.

Объекты — *ломатогониум каринтийский, гипекоум прямой.* В табл. 75 представлены результаты оценки антиоксидантной активности ломатогониума каринтийского (*Lomatogonium carinthiacum*) и гипекоума прямого (*Hypecoum erectum*) различными методами.

Таблица 75

Антиоксидантная активность экстрактов сухих ломатогониума каринтийского и гипекоума прямого

Объект	DPPH-метод, IC_{50}, мкг/мл	Fe^{2+} IC_{50}, мкг/мл	O_2^- IC_{50}, мкг/мл	ЖЛП-метод IC_{50}, мкг/мл	NO IC_{50}, мкг/мл
L. carinthiacum	65,01 ± 1,97	1100,0 ± 12,01	422,50 ± 17,37	346,00 ± 11,21	> 5000
H. erectum	97,12 ± 2,34	180,00 ± 8,27	81,31 ± 3,19	85,00 ± 2,07	> 5000
Аскорбиновая кислота*	4,81 ± 0,15	150,00 ± 0,01	101,00 ± 3,21	7,01 ± 0,25	1140,0 ± 34,21
Кверцетин*	9,90 ± 0,21	> 5000	32,00 ± 1,12	12,07 ± 0,92	150,00 ± 4,15

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Агабалаева, Е. Д.* Антиоксидантная активность водо- и жирорастворимых соединений семян *Trigonella foenum graecum L.* / Е. Д. Агабалаева // Тр. Белорус. гос. ун-та. 2013. Т. 8, Ч. 2. С. 28–32.

2. *Антиоксидантная* и антирадикальная активность in vitro экстрактов травы *Sanguisorba officinalis (L.)*, собранной в различные фазы развития / Е. М. Мальцева [и др.] // Медицина в Кузбассе. 2017. Т. 16, № 2. С. 32–38.

3. *Антиоксидантная* и мембраностабилизирующая активность экстрактов *Lomatogonium carinthiacum (Wulf.) Reichenb*. и *Hypecoum erectum L.* в модельных системах / А. А. Торопова [и др.] // Acta Biomed. Scientifica. 2012. № 6. С. 94–97.

4. *Антирадикальная* и антиоксидантная активность экстрактов трех видов лекарственных растений и ряски малой / И. В. Воронов [и др.] // Природ. ресурсы Арктики и Субарктики. 2019. Т. 24, № 4. С. 127–135.

5. *Владимиров, Ю. А.* Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соросов. образоват. журн. 2000. Т. 6, № 12. С. 13–19.

6. *Возможность* использования клеточных тест-систем для скрининга на противовоспалительную активность новых 5-(S)-ментилоксипроизводных-2-(5H)-фуранона / Х. Х. Конг [и др.] // Эксперим. медицина. 2017. Т. 98, № 2. С. 211–217.

7. *Изучение* антиоксидантной и мембранопротекторной активности настоя цветков каштана конского обыкновенного / А. Д. Дунилин [и др.] // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : сб. тр. 8-й Междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование-2022», Воронеж, 31 марта – 02 апр. 2022 г. Воронеж, 2022. С. 181–185.

8. *Исследование* антиоксидантной активности средства «Фотон» в модельных системах in vitro / Т. Б. Смагулова [и др.] // Вестн. Бурят. гос. ун-та. 2012. Спецвып. С. С. 156–159.

9. *Мушкина, О. В.* Фармакогностический анализ листьев ольхи : дис. … канд. фарм. наук : 15.00.03 / О. В. Мушкина. Витебск, 2008. 172 с.

10. *Новый* подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина / Е. И. Рябинина [и др.] // Химия раст. сырья. 2011. № 3. С. 117–121.

11. *Петунова, А. Н.* Адаптогенные свойства и механизм действия растительного средства «Пентафитон» : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.00.25 / А. Н. Петунова ; Ин-т общ. и эксперим. биологии сиб. отд. РАН. Улан-Удэ, 2004. 28 с.

12. *Страх, Я. Л.* Антиоксидантная и антирадикальная активность in vitro экстрактов из листьев *Rubus chamaemoru L. (Rosacaea)* / Я. Л. Страх, О. С. Игнатовец // Химия раст. сырья. 2021. № 4. С. 319–325.

13. *Тринеева, О. В.* Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации / О. В. Тринеева // Разработка и регистрация лекарств. средств. 2017. Т. 4, № 21. С. 180–197.

14. *Уткина, Е. А.* Зависимость антиоксидантной активности флавоноидов от их физико-химических характеристик в различных системах : дис. … канд. хим. наук : 02.00.10 / Е. А. Уткина. Москва, 2005. 101 с.

15. *Химический* состав сока каллизии душистой (*Callisia fragrans Wood*.) и его антиоксидантная активность (in vitro) / Д. Н. Оленников [и др.] // Химия раст. сырья. 2008. № 4. С. 95–100.

16. *Шевчук, С. В.* Антиоксидантная активность травы кипрея узколистного (Иван-чая) / С. В. Шевчук, Н. С. Гурина // Мед. журн. 2021. № 1. С. 116–120.

17. *Шевчук, С. В.* Определение антиоксидантной активности извлечений из травы кипрея узколистного / С. В. Шевчук, Н. С. Гурина // Современные проблемы фармакогнозии : сб. материалов III Межвуз. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию Самар. гос. мед. ун-та, Самара, 27 окт. 2018 г. / ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России ; под ред. В. А. Куркина. Самара, 2018. С. 61–63.

18. *Madhu, C. S.* New-vista in finding antioxidant and anti-inflammatory property of crude protein extract from Sauropus androgynus leaf / C. S. Madhu, H. M. Manukumar, B. Puttalingaiah // Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. 2014. Vol. 13, № 4. P. 375–383.

19. *Studies* on the antioxidant activities of *Desmodium gagenticum /* R. Govindarajan [et al.] // Biol. Pharm. Bull. 2003. Vol. 26, № 10. P. 1424–1427.

3.2. ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

Несмотря на высокий уровень стандартов оказания медицинской помощи, наличие современных синтетических лекарственных средств и передовых методов исследования и диагностики, инфекционные заболевания (бактериальные, вирусные, грибковые) остаются второй по значимости причиной смерти во всем мире. Перспектива применения лекарственного растительного сырья в микробиологии и терапии заболеваний грибковой и бактериальной этиологии обусловлена прежде всего тем, что традиционные противогрибковые и антибактериальные препараты токсичны. Возникновение побочных эффектов, в том числе связанных с химиотерапевтическим действием (суперинфекция), а также наличие многочисленных противопоказаний ограничивает применение данных лекарственных средств у ряда пациентов. Наряду с этим, важным преимуществом фитотерапии в сравнении с использованием традиционных химиотерапевтических препаратов является широкий спектр оказываемого действия и пролонгированный лечебный эффект растительных компонентов, благоприятное иммуномодулирующее действие лекарственных растений и положительное действие на состояние микробиоценозов различных биотопов макроорганизма человека. Установлено, что биологически активные соединения, такие как терпены или терпеноиды, эфирные масла, фенолы и феноловые кислоты, флавоноиды, танины, кумарины, лектины и полипептиды оказывают выраженное антимикробное действие.

Среди перспективных соединений лекарственных растений наибольшую группу веществ, обладающих антимикробными и противогрибковыми свойствами, представляют фенольные соединения. Существует ряд теорий механизмов антимикробного действия полифенолов: повреждение цитоплазматической мембраны клеток, нарушение функций пенициллинсвязывающего белка, ингибирование β-лактамазы, ДНК-гидразы бактерий и цитоплазматических топоизомераз I и II и др. Однако достоверно неизвестно, какие именно биологически активные соединения обусловливают терапевтический эффект того или иного лекарственного растения, так как используемые экстракты содержат комплекс действующих веществ.

3.2.1. Метод диффузии в агар

Для исследования применяют чистые культуры микроорганизмов, которые предварительно выращивают при температуре 37 °С в течение 24 часов на скошенном мясо-пептонном агаре (МПА). Стандартную бактериальную суспензию готовят на стерильном 0,9%-ном растворе натрия хлорида. Для этого бактериологической петлей вносят исследуемую культуру в стерильный флакон со стерильным физраствором и доводят концентрацию микроорганизмов до оптической плотности 10 единиц по стандарту мутности МакФарланда. Расплавленный и остуженный до 56 °С МПА разливают в чашки Петри. На застывший агар с помощью автоматической пипетки в стерильных условиях наносят по 1 мл соответствующей взвеси микроорганизмов. После распределения микроорганизмов стерильным шпателем по всей поверхности агара чашки Петри инкубируют при комнатной температуре в течение 5–10 минут. Избыток культуры сливают в дезраствор. Затем на чашке с микроорганизмами делают 5 лунок диаметром 6 мм. Далее с помощью автоматической микропипетки в 4 лунки вносят по 20 мкл исследуемого препарата, в 5-ю лунку в качестве контроля вносят растворитель.

Пробы инкубируют при температуре 37 °С в течение 24 часов и оценивают рост микроорганизмов. Учет результатов проводят по наличию или отсутствию роста бактерий вокруг лунок.

Объекты — *ольха серая, ольха черная.* Антимикробную активность суммы биологически активных веществ из листьев ольхи исследовали на четырех видах микроорганизмов: *Escherichia coli* (АТСС 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (АТСС 27853), *Bacillus subtilis* (АТСС 6633) и *Staphylococcus aureus* (АТСС 25923). Результаты представлены в табл. 76 и 77.

Таблица 76

Антимикробная активность экстрактов из листьев ольхи черной, n = 5

Экстрагент	Диаметр задержки роста *E. coli*, мм
Водный отвар	12,0 ± 0,5
Хлороформная фракция	Сплошной рост
Эфирная фракция	19,0 ± 1,0
Этилацетатная фракция	13,0 ± 0,5
50%-ный спирт этиловый	16,0 ± 0,5
96,5-ный спирт этиловый	10,0 ± 0,2
Контроль	Сплошной рост

Таблица 77

Антимикробная активность суммы биологически активных веществ из листьев ольхи черной и ольхи серой, n = 5

Исследуемый объект	Диаметр задержки роста микроорганизмов, мм			
	Escherichia coli	***Staphylococcus aureus***	***Pseudomonas aeruginosa***	***Bacillus subtilis***
Водное извлечение из листьев ольхи черной	18,0 ± 0,5	9,0 ± 1,0	Сплошной рост	Сплошной рост
Водное извлечение из листьев ольхи серой	8,0 ± 0,5	10,0 ± 0,5	Сплошной рост	Сплошной рост
Контроль	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост	Сплошной рост

Из водного настоя листьев ольхи черной получали фракции последовательной обработкой хлороформом, диэтиловым эфиром, этилацетатом. Сухие остатки, полученные после отгонки органических растворителей, растворяли в воде. Параллельно получали спиртовые извлечения из листьев ольхи путем их экстрагирования 50%-ным и 96,5%-ным спиртом в соотношении 1 : 60 в течение 40 минут, затем спирт отгоняли досуха, а сухие остатки растворяли в воде.

Объект — *кипрей узколистный.* Антимикробная и противогрибковая активность водного извлечения (соотношение «сырье : экстрагент» 1 : 100), отвара (соотношение «сырье : экстрагент» 1 : 10) и 50%-ное (об/об) спиртового извлечения травы кипрея узколистного изучалась в отношении пяти тест-культур методом диффузии в агар: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. Для спиртового извлечения предварительно проводилась очистка от спирта этилового, так как этанол обладает выраженной антимикробной активностью, что может привести к искажению результатов эксперимента. В результате исследования выявлена достаточно высокая активность в отношении всех изученных штаммов (табл. 78).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии антимикробной активности практически у всех исследуемых извлечений травы *Epilobium angustifolium L.* в отношении взятых в опыт тест-культур. Отвар травы кипрея узколистного ингибирует рост *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, водное (1 : 100) и 50%-ное

(об/об) спиртовое извлечения — всех штаммов бактерий. Наиболее выраженная активность выявлена у 50%-ного (об/об) спиртового извлечения в отношении всех изучаемых штаммов бактерий.

Таблица 78

Зона задержки роста микроорганизмов при использовании различных извлечений травы кипрея узколистного, мм

Тест-культура	Контроль	Водное извлечение 1 : 100	Отвар	50%-ное (об/об) спиртовое извлечение
Escherichia coli	Сплошной рост	9,25 ± 0,94	Сплошной рост	15,00 ± 0,8
Staphylococcus aureus	Сплошной рост	11,5 ± 0,98	2,13±0,22	19,00 ± 0,8
Salmonella enterica	Сплошной рост	8,5 ± 0,94	Сплошной рост	13,00 ± 1,39
Pseudomonas aeruginosa	Сплошной рост	8,75 ± 0,94	12,00±0,8	17,25 ± 1,23

Исследование извлечений, полученных при экстракции водой очищенной, установило, что при использовании соотношения «сырье : экстрагент» 1 : 100 антимикробная активность была более выражена в отношении всех исследуемых культур, чем в случае применения водного отвара, однако значительно уступала спиртовому извлечению. Отвар травы кипрея узколистного (1 : 10) в отношении штаммов культур кишечной палочки и сальмонеллы не проявляет антимикробную активность, а в отношении синегнойной палочки наблюдалась незначительная зона задержки роста (2,13 ± 0,22 мм).

В ходе исследования противогрибковой активности различных извлечений травы кипрея узколистного в отношении грибов рода *Candida* было установлено, что все извлечения обладают противогрибковой активностью, но наибольший ингибирующий эффект характерен для отвара иван-чая (16,00 ± 0,022 мм) (рис. 29).

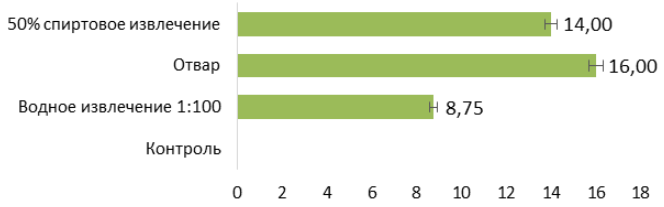


Рис. 29. Зона задержки роста грибов рода *Candida* при использовании различных извлечений травы кипрея узколистного

Объект — *растительные экстракты.* Определение антимикробного действия различных растительных экстрактов проводили методом последовательных серийных разведений 1 : 25, 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1:400, используя в качестве растворителя фосфатный буферный раствор с pH 7,0 и пептон. В качестве тест-микроорганизмов использовали 5 штаммов патогенных и условно-патогенных бактерий*: Staphylococcus aureus, Escherihia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris*. Оценку антимикробной активности производили по величине минимальной подавляющей концентрации (МПК), которую определяли как самое низкое разведение, подавляющее микробный рост. Испытания проводили в трех повторностях (табл. 79, 80). В качестве контроля использовали такое же количество растворителя и вносили тест-культуры в таком же объеме, что и в опыте. После окончания сроков инкубации отмечали рост использованных тест-культур или его отсутствие на питательном агаре с различным разведением препаратов. Эффект оценивали путем сравнения степени роста микроорганизмов в соответствующем разведении препарата с контролем и препаратом сравнения.

Таблица 79

Характеристика бактериостатической активности растительных экстрактов

Объект исследования	*Staphylococcus aureus*	*Escherihia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Proteus vulgaris*
Экстракт травы душицы	1/50	1/400	1/400	1/50	1/100
Экстракт травы мелиссы	1/400	1/400	1/100	1/200	1/200
Экстракт листьев крапивы	1/100	1/200	1/100	1/100	1/100
Экстракт травы горца птичьего	1/200	1/400	1/200	1/200	1/200
Экстракт травы полыни	1/100	1/200	1/100	1/200	1/200
Экстракт побегов багульника	1/50	1/200	1/400	1/200	1/200
Экстракт травы чабреца	1/50	1/400	1/50	1/100	1/100
Экстракт шишек хмеля	1/100	1/100	1/200	1/100	1/100
Экстракт травы тысячелистника	–	1/100	1/50	1/50	1/400

Окончание табл. 79

Объект исследования	*Staphylococcus aureus*	*Escherihia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Proteus vulgaris*
Экстракт листьев эвкалипта	1/50	1/200	1/100	1/100	–
Экстракт цветков пижмы	1/50	1/100	1/50	1/200	1/100
Экстракт корня ревеня	–	1/100	1/200	1/50	1/100
Экстракт травы эхинацеи	1/50	1/200	1/400	1/100	1/200
Экстракт листьев мяты	–	1/400	1/200	1/200	1/200
Экстракт листьев земляники	–	1/400	1/400	1/100	1/200

Таблица 80

Характеристика бактерицидной активности растительных экстрактов

Объект исследования	*Staphylococcus aureus*	*Escherihia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Proteus vulgaris*
Экстракт травы душицы	–	1/200	1/50	–	1/50
Экстракт травы мелиссы	–	1/100	1/50	1/50	1/50
Экстракт листьев крапивы	–	1/50	–	1/50	1/50
Экстракт травы горца птичьего	1/50	1/100	1/50	1/100	1/50
Экстракт травы полыни	–	1/100	1/50	1/50	1/50
Экстракт побегов багульника	–	1/50	1/200	1/50	1/50
Экстракт травы чабреца	–	1/200	–	–	1/50
Экстракт шишек хмеля	–	1/50	1/100	–	1/50
Экстракт травы тысячелистника	–	1/50	1/50	–	1/50
Экстракт листьев эвкалипта	–	1/100	1/50	1/50	–
Экстракт цветков пижмы	–	1/200	–	–	1/50
Экстракт корня ревеня	–	1/50	1/100	–	–

Окончание табл. 80

Объект исследования	*Staphylococcus aureus*	*Escherihia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Proteus vulgaris*
Экстракт травы эхинацеи	–	–	1/100	–	1/50
Экстракт листьев мяты	–	1/100	1/50	–	1/50
Экстракт листьев земляники	–	1/200	1/200	1/50	1/50

Объект — *дурман индийский.* Антимикробную активность этанольных экстрактов различных частей растительного сырья и гексановых экстрактов растительного масла из семян дурмана индийского (*Datura metel L.*) изучали на следующих видах микроорганизмов: *S. aureus, E. coli, P. aeruginosa, B. anthracoides, K. pneumoniae, C. albicans*. Активность экстрактов определяли методом диффузии на агаре (для бактерий — МПА; для *C. albicans* — Сабуро) с диском. Образцы для анализа (по 0,025 мл) добавляли на диски, обработанные микробами, выдерживали их в термостате в течение 24–48 часов (37 °С для бактерий, 28 °С для грибов). Результаты были рассчитаны на основе диаметра области, где рост микробной культуры был ингибирован соединениями экстрактов в этой среде (табл. 81).

Таблица 81

Антимикробная активность этанольных экстрактов и масел семян дурмана индийского

Микроорганизмы	Диаметры задержки роста тест-штаммов микроорганизмов, мм						
	Корень	Стебель	Листья	Цветок	Плоды	Семена	Масло семян
S. aureus	0	6	35	0	0	0	0
E. coli	0	8	0	0	0	0	0
P. aeruginosa	0	0	0	0	0	0	0
C. albicans	0	8	6	0	15	20	8
B. anthracoides	0	20	33	0	0	0	0
K. pneumoniae	0	0	0	0	0	0	0

Из табл. 81 видно, что максимальную антимикробную активность проявил экстракт из листьев дурмана индийского в отношении *S. aureus,* а также в отношении *B. anthracoides*. Не обладают антимикробной активностью в отношении изучаемых штаммов микроорганизмов экстракты из корней и цветков дурмана индий-

ского. Незначительную антимикробную активность проявили биологически активные вещества, содержащиеся в стеблях. Экстракты плодов и семена проявили активность в отношении *C. albicans*.

Объект — *стевия Ребо.* Индикация антимикробного эффекта нативного клеточного сока, водных и спиртовых экстрактов из лекарственного сырья стевии Ребо (*Stevia rebaudiana*) проводилась путем диффузии в агар на питательной среде для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам (среда АГВ), питательном агаре, коринебакагаре без теллурита калия, стафилококк-агаре, среде Эндо и агаре Сабуро. В эксперименте использовали 10 чистых культур микроорганизмов различного таксономического происхождения: *Sarcina flava, Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*), *Escherichia coli, Bacillus species* (*anthracoides*), *Staphylococcus species* (*albus*), *Myxococcus species, Candida species, Penicillium species, Aspergillus terreus, Fusarium solani*. Посев в опытах осуществляли прямыми радиальными штрихами и (или) сплошным газоном, количество вносимого в чашки Петри материала находилось на уровне 10^2–10^3 колониеобразующих единиц (КОЕ).

Определение антимикробного действия проводили в сравнении с интенсивностью роста изучаемых культур в присутствии и в отсутствии нестерильных лекарственных форм из стевии (рис. 30).

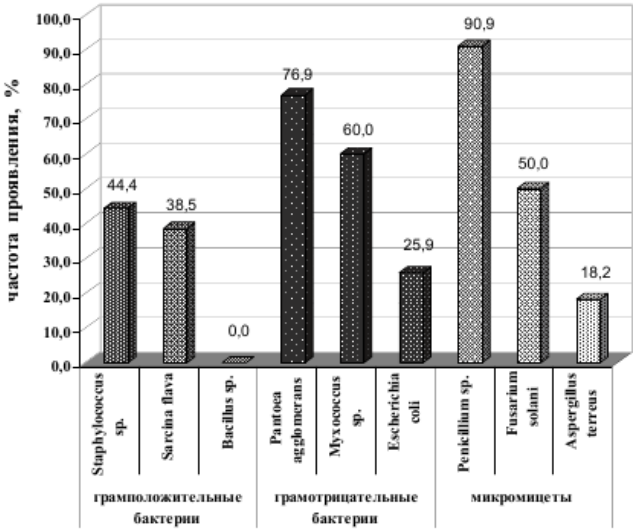


Рис. 30. Антимикробный эффект стевии Ребо

Наибольшее антибактериальное действие оказывал настой (в 40 % случаев) и водорастворимые вещества этанольного экстракта (в 40 % случаев), при этом клеточный сок оказывал антибактериальное действие в 26,7 % случаев.

3.2.2. Метод двукратных серийных разведений в среде Мюллера–Хинтона

Из суточных культур исследуемых штаммов готовят взвеси по стандарту мутности МакФарланда, доводя их до концентрации $2 \cdot 10^6$ КОЕ на 1 мл. В каждую пробирку с исследуемым раствором вносят по 0,1 мл бактериальной взвеси. Опыт сопровождается контрольным посевом культуры без экспозиции исследуемого раствора. Как в опытных, так и в контрольных пробирках количество КОЕ составляет $2 \cdot 10^2$. Из контрольных пробирок до начала инкубации производят мерный высев на плотные питательные среды. Опытные и контрольные посевы инкубируют в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов, после чего учитывают результаты опыта, отмечая последнюю пробирку с отчетливо выраженной задержкой роста. Количество вещества в этой пробирке расценивается как МПК. Для оценки характера антимикробного действия из опытных пробирок производят мерный высев на плотные питательные среды с последующим подсчетом количества выросших колоний в сравнении с контролем. Эксперимент проводится в четырех повторностях для подтверждения стабильности наблюдаемого результата.

Объекты — *очиток большой, очиток пурпурный.* Антимикробную активность определяли в отношении трех стандартных штаммов: *Staphylococcus aureus* АТСС 6538Р, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27835, *Escherichia coli* АТСС 25922. Готовили ряд последовательных разведений экстрактов, содержащих от 50 до 0,7 мг экстрактивных веществ в 1 мл.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии антимикробной активности водного раствора спиртовых экстрактов очитков большого (*Sedum maximum L.*) и пурпурного (*Sedum purpureum*) в отношении всех взятых в эксперимент культур. При учете роста на плотных питательных средах экстракты обоих видов проявили бактерицидное действие в отношении всех 3 штаммов. Были установлены значения МПК для всех исследованных образцов экстрактов двух видов очитка (табл. 82).

Таблица 82

Количество колоний исследуемых культур микроорганизмов под влиянием экстракта очитка большого и пурпурного в разных концентрациях

Культура	Концентрация экстракта, мг/мл						
	50	**25**	**12,5**	**6,2**	**3,1**	**1,5**	**0,7**
Очиток большой							
S. aureus	0	0	0	61 МПК	СР	СР	СР
E. coli	0 МПК	СР	СР	СР	СР	СР	СР
P. aeruginosa	0	0	0	0	4 МПК	СР	СР
Очиток пурпурный							
S. aureus	0	0	0	0 МПК	1256	СР	СР
E. coli	0	1036 МПК	СР	СР	СР	СР	СР
P. aeruginosa	0	0	0	1100 МПК	СР	СР	СР

Примечание. СР — сплошной рост микроорганизмов на питательной среде.

3.2.3. Метод стекающей капли

На чашку Петри с МПА вносят взвесь 10^9 КОЕ суточной культуры музейных штаммов *S. aureus* АТСС 25923, *Bacillus subtillis* АТСС 6633, *E. coli* АТСС 026, *P. aeruginosa* АТСС 27853, клинических изолятов *P. vulgaris*.

После подсыхания чашек Петри с микробной взвесью в термостате при 37 °С в течение 30 минут на их поверхность наносят стерильной пипеткой 0,1 мл испытуемых образцов. Контролем служат чашки Петри с высеянной тождественной культурой микроорганизмов, в которые вносят 0,1 мл физиологического раствора, а в случае с настойками — спирта этилового. Контрольные и опытные чашки помещают в термостат (t = 37 °С) под углом 75° и через сутки проводят учет антимикробной активности в отношении возбудителей (по ширине дорожки от стекающей капли).

3.2.4. Метод двойных серийных разведений

Метод двойных серийных разведений, по сравнению с диффузионными методами, позволяет качественно оценить наличие антимикробного эффекта путем визуальной оценки в сравнении со

стандартом и определения МПК изучаемого образца, которая обеспечивает замедление роста исследуемых штаммов микроорганизмов. В качестве питательной среды используют бульон Мюллера–Хинтона.

Тестирование исследуемых образцов проводят в объеме 1 мл каждого разведения водно-спиртового извлечения образца и препарата сравнения.

Для определения чувствительности питательный бульон разливают по 0,5 мл в каждую пробирку. Помимо количества пробирок, необходимых для разведения образца, одна пробирка используется для постановки отрицательного контроля. Рабочий раствор тестируемого образца готовят из основного раствора с использованием жидкой питательной среды (питательный бульон Мюллера–Хинтона). Концентрацию рабочего раствора рассчитывают, исходя из необходимой максимальной концентрации в ряду серийных разведений, с учетом фактора разбавления препарата при последующей инокуляции.

Рабочий раствор в количестве 0,5 мл при помощи микропипетки со стерильным наконечником вносят в первую пробирку, содержащую 0,5 мл бульона. Затем тщательно перемешивают и новым стерильным наконечником переносят 0,5 мл раствора тестируемого образа в бульоне во вторую пробирку, содержавшую первоначально 0,5 мл бульона. Процедуру повторяют до тех пор, пока не будет приготовлен весь необходимый ряд разведений. Из последней пробирки 0,5 мл бульона удаляют. Таким образом, получают ряд пробирок с растворами тестируемых образцов водно-спиртовых извлечений, концентрации которых отличаются в соседних пробирках в 2 раза. Одновременно готовят дополнительные ряды серийных разведений образцов для тестирования контрольных штаммов.

Для инокуляции используют стандартную микробную взвесь, эквивалентную 0,5 Ед по стандарту МакФарланда, разведенную в 100 раз на питательном бульоне, после чего концентрация микроорганизма в ней составляет примерно 10^6 КОЕ/мл. По 0,5 мл инокулюма вносят в каждую пробирку, содержащую по 0,5 мл соответствующего разведения тестируемого образца и в одну пробирку с 0,5 мл питательного бульона без образца (отрицательный контроль). Конечная концентрация микроорганизмов в каждой пробирке должна составлять около $5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл. Инокулюм вносится в пробирки с разведениями образца не позднее 15–30 минут с момента его приготовления.

Пробирки закрывают стерильными ватно-марлевыми пробками, и все пробирки с тестируемыми штаммами, кроме той, в которой находится отрицательный контроль, инкубируют при температуре 35 °С в течение 20–24 часов. Пробирку с отрицательным контролем помещают в холодильник при 4 °С, где она хранится до учета результатов.

Для определения наличия роста микроорганизмов пробирки с посевами просматривают в проходящем свете. Рост культуры в присутствии тестируемого образца проводят при сравнении с пробиркой отрицательного контроля, содержащей исходный инокулюм и хранившейся в холодильнике. МПК определяют по наименьшей концентрации тестируемого образца, которая подавляет видимый рост микроорганизма.

Объект — *чернушка посевная.* Проведение скрининга антимикробной активности водно-спиртовых извлечений из травы чернушки посевной, а также их сравнение с настойкой эвкалипта (препарат сравнения) позволило получить следующие данные.

При тестировании 40%-ного водно-спиртового извлечения (1 : 30) травы чернушки посевной наблюдалась антимикробная активность в отношении штаммов *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* при четырехкратном разведении, а также в отношении микроорганизмов *P. aeruginosa* при восьмикратном разведении. При сравнении 40%-ного водно-спиртового извлечения с отрицательным контролем (МПК для спирта этилового 40%-ного) наблюдалось небольшое различие антимикробной активности между исследуемым образцом и отрицательным контролем, который проявил чуть большую активность в отношении *E. coli* и *C. albicans*. Данный факт позволяет утверждать об отсутствии существенного вклада комплекса биологически активных соединений экстракта в фармакологический эффект при данной концентрации извлечения.

Для 70%-ного водно-спиртового извлечения (1 : 30) травы чернушки антимикробная активность была выраженной в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* в восьмикратном разведении; в отношении *P. aeruginosa* — при разведении в 16 раз. При сравнении с отрицательным контролем спирта этилового в концентрации 70 % отмечается усиление антимикробных свойств и подавление роста микроорганизмов *P. aeruginosa*.

Водно-спиртовое извлечение на спирте этиловом 96%-ном (1 : 30) травы чернушки показало антимикробную активность, ана-

логичную 70%-ному водно-спиртовому извлечению: в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* — при разведении в 8 раз, в отношении к *P. aeruginosa* — при разведении в 16 раз. При сравнении с отрицательным контролем спирта этилового в концентрации 96 % отмечается усиление антимикробных свойств и подавление роста микроорганизмов *P. aeruginosa*. Соответственно, для концентраций 70 и 96 % водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной отмечается значительное подавление роста микроорганизмов *P. aeruginosa* (табл. 83).

Таблица 83

Результаты тестирования извлечений травы чернушки посевной и препарата сравнения

Объект	Кратность разведения						
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128
Staphylococcus aureus							
Трава чернушки, 40 %	–	–	+	+	+	+	+
Трава чернушки, 70 %	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки, 96 %	–	–	–	+	+	+	+
Настойка травы чернушки, 70 %	–	–	+	+	+	+	+
Настойка эвкалипта, 70 %	–	–	–	–	+	+	+
Escherichia coli							
Трава чернушки, 40 %	–	–	+	+	+	+	+
Трава чернушки, 70 %	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки, 96 %	–	–	–	+	+	+	+
Настойка травы чернушки, 70 %	–	–	–	–	+	+	+
Настойка эвкалипта, 70 %	–	–	–	–	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa							
Трава чернушки, 40 %	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки. 70 %	–	–	–	–	+	+	+
Трава чернушки, 96 %	–	–	–	–	+	+	+
Настойка травы чернушки, 70 %	–	–	–	–	+	+	+
Настойка эвкалипта, 70 %	–	–	+	+	+	+	+
Candida albicans							
Трава чернушки, 40 %	–	–	+	+	+	+	+
Трава чернушки, 70 %	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки, 96 %	–	–	–	+	+	+	+
Настойка травы чернушки, 70 %	–	–	–	–	+	+	+
Настойка эвкалипта, 70 %	–	–	–	+	+	+	+

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Антимикробная* активность экстрактов очитков (*Sedum maximum (L.) Hoffm., Sedum telephium L.*), полученных разными методами / С. В. Райкова [и др.] // Саратов. науч.-мед. журн. 2017. Т. 13, № 2. С. 213–216.

2. *Изучение* неалкалоидной природы биологически активных соединений *Datura Innoxia* / Э. А. Гараев [и др.] // Химия раст. сырья. 2021. № 2. С. 163–172.

3. *Марьин, А. А.* Лекарственные растения и биологически активные вещества противогрибкового действия / А. А. Марьин, Н. Э. Коломиец // Фундам. и клин. медицина. 2017. Т. 2, № 4. С. 45–55.

4. *Насрулаева, Х. Н.* Основные аспекты фармакотерапии грибковых заболеваний кожи и стоп / Х. Н. Насрулаева // Медицина. Социология. Философия. Прикл. исслед. 2019. № 5. С. 40–43.

5. *Семёнова, Е. Ф.* О микрофлоре и микробиологической активности стевии (*Stevia Rebaudiana Bertoni*) / Е. Ф. Семёнова, А. С. Веденеева // Изв. вузов. Поволж. регион. мед. науки. 2009. № 3 (11). С. 61–68.

6. *Солёнова, Е. А.* Флавоноиды. Перспективы применения в антимикробной терапии / Е. А. Солёнова, Л. Н. Величковска // Acta Medica Eurasica. 2017. № 3. С. 50–57.

7. *Федько, И. В.* Скрининговое исследование антимикробной активности некоторых растений из флоры Сибири / И. В. Федько, Р. Р. Китапова, Л. С. Муштоватова // Мед. вестн. Башкортостана. 2016. Т. 11, № 5 (65). С. 118–119.

8. *Фитохимические* и микробиологические аспекты изучения травы чернушки посевной (*Nigella sativa L.*) / А. Р. Мубинов [и др.] // Фармация и фармакология. 2022. Т. 10, № 3. С. 244–254

9. *Фролова, А. В.* Сравнительный анализ антимикробной активности лекарственных растений / А. В. Фролова, А. Н. Косинец, Г. Н. Бузук // Вестн. фармации. 2006. № 4 (34). С. 54–61.

10. *Хотим, Е. Н.* Некоторые аспекты современной фитотерапии / Е. Н. Хотим, А. М. Жигальцов, А. Кумара // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. 2016. № 3. С. 136–140.

11. *Шев*чук, С. В. Антимикробная и противогрибковая активность травы кипрея узколистного Epilobium angustifolium L. / С. В. Шевчук, Т. Г. Адамович // Рецепт (Recipe). 2021. Т. 24, № 2. С. 203–209.

ГЛОССАРИЙ

ABTS-радикал — катион-радикал 2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты).

Агар Сабуро — питательная среда для выделения и культивирования дрожжеподобных и плесневых грибов при проведении бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии.

Адъювант Фрейнда — водно-жировая эмульсия, содержащая БЦЖ или мурамилдипептид, вазелиновое масло, ланолин и эмульгатор.

Апоневроз — широкая сухожильная пластинка, сформированная из плотных коллагеновых и эластических волокон. Апоневрозы имеют блестящий, бело-серебристый вид. По гистологическому строению апоневрозы сходны с сухожилиями, однако практически лишены кровеносных сосудов и нервных окончаний.

Бентонитовая глина — уникальный редкий вид глины, сформированный из вулканического пепла, с высокой абсорбирующей способностью.

Бефунгин — препарат на основе чаги, который применяется в качестве симптоматического средства при хронических гастритах, дискинезиях ЖКТ с явлениями атонии, при язвенной болезни желудка и онкологических заболеваниях.

Биуретовый метод определения содержания общего белка — один из колориметрических методов количественного определения белков в растворе. Разработан в 1949 году Горналлом, Бардавиллом и Дэвидом, ныне мало используется в биохимической лабораторной практике (за исключением медицинских анализов на белок) из-за низкой чувствительности.

Гепатропин — новое комплексное фармакологическое средство, содержащее нативные порошки цветков календулы, ромашки, корня солодки голой, листьев крапивы двудомной, корневища с корнями валерианы лекарственной, плодов шиповника коричного, семян каштана конского и пшеничные отруби.

Гипералгезия — повышенная болевая чувствительность воспалительных тканей.

Депривация — психическое состояние, возникновение которого обусловлено жизнедеятельностью в условиях продолжитель-

ного лишения или существенного ограничения возможностей удовлетворения жизненно важных потребностей.

D-галактозамин гидрохлорид — гексозамин, полученный из галактозы с молекулярной формулой $C_6H_{13}NO_5$. Этот аминосахар входит в состав некоторых гликопротеиновых гормонов, таких как фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ).

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) — 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил, кристаллический порошок темного цвета, состоящий из стабильных свободно-радикальных молекул. DPPH имеет два основных применения в лабораторных исследованиях: одно — это мониторинг химических реакций с участием радикалов, как правило, это обычный антиоксидантный анализ, а другое — стандарт положения и интенсивности сигнала электронного парамагнитного резонанса.

Индекс Паулса — интегральный показатель количества деструкции слизистой оболочки желудка.

Калефлон — экстракт календулы лекарственной.

Каолин — глина белого цвета. Горная порода, состоящая из минерала каолинита.

Капсаицин — алкалоид, содержащийся в различных видах стручкового перца *Capsicum.*

Карбоксиметилцеллюлоза — производное целлюлозы, в которой карбоксилметильная группа (–CH2–COOH) соединяется гидроксильными группами глюкозных мономеров. Используется в качестве загустителя в фармацевтической и парфюмерно-косметической продукции.

Каррагенан — линейный сульфатный полисахарид, получаемый из красных морских водорослей.

Коэффициент де Ритиса — соотношение активности сывороточных АсАТ и АлАТ.

Минимальная подавляющая концентрация (МПК) — это показатель действия вещества на бактериальную культуру, равный его минимальной концентрации, при которой происходит полное угнетение роста бактерий в течение 24 часов инкубации.

Мясо-пептонный агар (МПА) — среда общего назначения, неселективная, пригодная для культивирования большого спектра нетребовательных микроорганизмов. Может использоваться для

подсчета колоний в санитарии, медицинской и промышленной микробиологии.

Онкометр — прибор для измерения объема крови, циркулирующей в одной из конечностей.

Офтальмогерпес — поражение глазного яблока или придатков глаза, вызванное инфицированием вирусом простого герпеса (ВПГ) 1-го, реже 2-го типа.

Пироген — продукты распада патогенных и непатогенных бактерий и лейкоцитов, а также вещества другого происхождения, вызывающие повышение температуры тела при парентеральном введении.

Пирогенал — высокоактивный неспецифический иммуномодулятор широкого спектра действия. Пирогенал вызывает целый комплекс сложных иммунологических и физиологических сдвигов в организме, главными из которых являются активация ретикулоэндотелиальной, гипоталамо-гипофизарной и фибринолитической систем.

Питательный бульон Мюллера–Хинтона — среда для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным средствам диско-диффузионным методом. Бульон Мюллера–Хинтона используют для определения МПК антимикробных средств в отношении аэробных бактерий.

Среда Эндо — дифференциально-диагностическая питательная среда, предназначенная для выделения энтеробактерий.

ТБК-активные продукты — активные продукты тиобарбитуровой кислоты как маркеры ПОЛ, витаминов Е и С — как антиоксидантов и холестерина в плазме крови.

Флогоген — любой фактор, способный вызвать повреждение тканей.

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений 3

Введение 4

1. Требования к лабораторным животным и условиям их содержания 5

Список использованной литературы 9

2. Моделирование патологических процессов in vivo 10

2.1. Воспаление как патологический процесс 10

2.1.1. Генерализованное воспаление, индуцированное каррагенаном 12

2.1.2. Локальное воспаление, индуцированное каррагенаном 15

2.1.3. Модель декстранового отека 20

2.1.4. Воспалительный отек лапы, индуцированный формалином 21

2.1.5. Воспалительный отек лапы, индуцированный гистамином 24

2.1.6. Воспалительный отек лапы, индуцированный каолином 25

2.1.7. Модель пролиферативного воспаления 29

2.1.8. Хроническое иммунное воспаление 33

2.1.9. Модель вирусного воспаления конъюнктивы 37

2.1.10. Модель экспериментального перитонита 41

2.1.11. Модель экспериментального гингивита 42

Список использованной литературы 51

2.2. Раны как патологическое состояние 53

2.2.1. Модель плоскостной кожной раны 55

2.2.2. Модель линейной кожной раны 58

2.2.3. Модель термической раны (ожог) 61

2.2.4. Модель ультрафиолетовой эритемы 63

2.2.5. Модель инфицированной раны 64

Список использованной литературы 65

2.3. Язва желудка 66

2.3.1. Язва желудка, индуцированная этанолом 69

2.3.2. Язва желудка, индуцированная уксусной кислотой 75

2.3.3. Язва желудка, индуцированная нестероидными противовоспалительными препаратами 80

2.3.4. Модель стресс-язвы 94

2.3.5. Резерпиновая язва 97

2.3.6. Атофановая язва 98
2.3.7. Травматическая язва 98
Список использованной литературы 98
2.4. Изучение гипогликемической активности 100
2.4.1. Химические модели сахарного диабета 103
2.4.2. Модель пероральной сахарной нагрузки 117
2.4.3. Модель развития инсулинорезистентности под влиянием свежевыжатого лимонного сока 120
Список использованной литературы 123
2.5. Изучение жаропонижающего действия 124
2.5.1. Пирогеналовая модель 124
2.5.2. Лихорадка, индуцированная дрожжами 126
2.5.3. Лихорадка, индуцированная раствором формалина 126
Список использованной литературы 128
2.6. Изучение анальгезирующего действия 128
2.6.1. Модель «уксусных корчей» 129
2.6.2. Тест термоболевой чувствительности 131
2.6.3. Модель экспериментальной воспалительной гипералгезии 131
2.6.4. «Капсаициновый тест» 132
2.6.5. Тест «Горячая пластина» 132
Список использованной литературы 133
2.7 Изучение гепатопротекторной активности 134
2.7.1. Модель повреждения печени парацетамолом 136
2.7.2. Острое токсическое повреждение печени четыреххлористым углеродом 140
2.7.3. Модель повреждения печени D-галактозамина гидрохлоридом 147
2.7.4. Модель тетрациклинового гепатита 152
2.7.5. Модель хронической алкогольной интоксикации 154
2.7.6. Хроническое токсическое повреждение печени четыреххлористым углеродом 158
2.7.7. Модель экспериментального гепатита, вызванного туберкулостатиками 162
Список использованной литературы 165

3. Моделирование патологических процессов in vitro 167
3.1. Изучение антиоксидантной активности 167
3.1.1. Модельная система, генерирующая активные формы кислорода с использованием фосфатного буфера и люминола 169
3.1.2. Спектрофотометрический метод с реактивом DPPH 171
3.1.3. Модельная система с применением суспензии желточных липопротеидов 174
3.1.4. Спектрофотометрическое определение ингибирования супероксид-радикала в щелочном растворе диметилсульфоксида 176
3.1.5. Спектрофотометрический метод измерения NO-ингибирующей активности 177
3.1.6. Спектрофотометрический метод, основанный на изучении кинетики реакции ингибирования аутоокисления адреналина 179
3.1.7. Спектрофотометрическое определение ингибирования гидроксильных радикалов 179
3.1.8. Антиоксидантная активность методом ABTS 180
3.1.9. Оценка антиоксидантной активности с использованием культуры клеток Paramecium caudatum, находящихся в активной фазе роста 182
Список использованной литературы 184
3.2. Изучение антимикробной активности 186
3.2.1. Метод диффузии в агар 187
3.2.2. Метод двукратных серийных разведений в среде Мюллера–Хинтона 194
3.2.3. Метод стекающей капли 195
3.2.4. Метод двойных серийных разведений 195
Список использованной литературы 199
Глоссарий 200

Научное издание

Мушкина Ольга Владимировна

НЕКЛИНИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Ответственная за выпуск О. В. Мушкина
Редактор Ю. В. Киселёва
Компьютерная вёрстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 18.03.2024. Формат 60×84 1/16.
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать ризографическая.
Усл. печ. л. 12,09. Уч.-изд. л. 10,3 Тираж 50 экз. Заказ .

Издатель: учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 24.11.2023.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.

Изготовитель: учреждение образования «Белорусский государственный технологический университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/227 от 20.03.2014.
ЛП № 02330/12 от 30.12.2013
Ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск.