

ЧАСТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «РЕАВИЗ»

На правах рукописи

Кузина Екатерина Юрьевна

**ПЕРЕКИСНЫЕ И АНТИПЕРЕКИСНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ
ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПЕРОКСИДАЦИИ
И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ЭКСТРАКТАМИ**

1.5.5. Физиология человека и животных

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
Ольга Николаевна Павлова

Самара

2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ НА ФОНЕ ГИПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ НАГРУЗКЕ АНТИОКСИДАНТАМИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	16
1.1 Свободно-радикальные процессы в организме в норме	16
1.2 Патогенетический механизм воздействия свободных радикалов	18
1.3 Влияние антиоксидантов на свободно-радикальные процессы в организме при гипероксидации	19
1.4 Функциональные нарушения печени при гипероксидации.....	25
1.5 Растительные экстракты как комплекс природных антиоксидантов.....	26
ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1 Организация исследования	31
2.2 Методы исследования	33
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
3.1 Исследование перекисных и антиперекисных процессов в ткани печени крыс в норме, при нагрузке растительными антиоксидантами и модельной гипероксидации.....	42
3.2 Изучение перекисных и антиперекисных процессов в ткани печени здоровых половозрелых крыс и при внутрижелудочной нагрузке антиоксидантами.....	43
3.3 Реактивные изменения перекисных и антиперекисных процессов в ткани печени крыс при внутрижелудочной нагрузке антиоксидантами на фоне экспериментальной гипероксидации	47
3.4 Коэффициенты окислительного стресса как способ интегральной оценки окислительно-восстановительного гомеостаза в норме, при нагрузке растительными антиоксидантами и при моделировании гипероксидации	54

3.5 Исследование гистоморфологической структуры печени крыс в норме, в условиях нагрузки растительными экстрактами и при моделировании гипероксидации в условиях нагрузки растительными экстрактами	64
3.6 Реактивные приспособления морфологического состава крови крыс к гипероксидации на фоне нагрузки антиоксидантами	77
3.7 Гематологические лейкоцитарные индексы на фоне нагрузки растительными экстрактами при индуцированной гипероксидации	82
3.8 Реактивные приспособления биохимического состава крови крыс к гипероксидации при нагрузке антиоксидантами	87
3.9 Исследование гепатозащитного действия растительных экстрактов	96
3.10 Исследование репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени и плазме крови крыс при нагрузке растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации	102
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	115
ВЫВОДЫ	139
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	142
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	143
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Патологии печени, вызванные воздействием токсических веществ, являются широко распространенной проблемой, так как печень выполняет барьерную функцию и играет важную роль в обезвреживании и выводе отравляющих веществ из организма [59, 131]. Причинами и факторами, способствующими развитию заболеваний печени, могут быть вирусы, токсические вещества, гормональные и метаболические нарушения, неправильное питание, хронические болезни пищеварительной системы и другие. Важная роль в этиологической структуре нарушений функционального состояния печени принадлежит лекарственным средствам и алкоголю. Скорость обработки ядов в организме ограничена и не может пропорционально увеличиваться в соответствии с растущими потребностями. Нарушение функций печени приводит к серьезным расстройствам метаболизма, иммунного ответа, детоксикации, антимикробной защиты организма и активизации процессов свободнорадикального окисления, что влечет значительное увеличение концентрации продуктов пероксидации и их метаболитов. Эти вещества также негативно влияют на обмен веществ и энергии в организме, вызывая морфофункциональные изменения в гепатоцитах [2, 63, 81].

В целом свободнорадикальное окисление составляет основу биоэнергетики живых организмов, и в результате этих реакций в биологических системах образуются, помимо конечных продуктов, активные формы кислорода (АФК), которые выполняют функции вторичных мессенджеров в процессах жизнедеятельности клеток [28, 69, 85]. С другой стороны, свободнорадикальное окисление можно назвать универсальным физиологическим явлением, которое обнаруживается при различных патологических состояниях, так как в результате образуются первичные и вторичные радикалы, и если первичные радикалы организм специально производит для выполнения жизненно важных функций, то вторичные радикалы обладают цитотоксическим эффектом и наносят организму значительный вред [52, 83, 109].

Патологическое действие свободных радикалов (СР) связано с их воздействием на структурное состояние и функцию биологических мембран и функциональные свойства ферментов, углеводов и нуклеиновых кислот [109].

В норме уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) остается низким в крови и тканях. Для предотвращения токсического действия АФК используется сложная саморегулирующаяся система антиоксидантной защиты. В состав этой системы входят специализированные ферменты, которые проявляют специфичность по отношению к определенным АФК, а также низкомолекулярные биоантиоксиданты [27, 40]. Увеличение содержания АФК в клетках приводит к нарушению системы антиоксидантной защиты, прежде всего за счет инактивации антиоксидантных ферментов, что, в свою очередь, может привести к истощению антиоксидантной системы и гибели клетки. В этом случае развивается явление гипероксидации – состояния, при котором окислительные процессы превышают возможности антиоксидантных защитных систем организма [30, 79, 90, 137]. Исходя из вышеизложенного, детальное изучение биохимии и патогенеза свободнорадикальных процессов приобретает важное значение в современной физиологии.

Для повышения эффективности работы тканевых антиоксидантов в отношении ПОЛ и нормализации функций печени требуется дополнительное введение в организм антиоксидантов – гепатопротекторов [8, 22, 24].

Гепатопротекторы – препараты, направленные на восстановление гомеостаза в печени, повышение устойчивости органа к действию патогенных факторов, нормализацию функциональной активности и стимуляцию репаративно-регенерационных процессов в печени [50, 77].

В настоящее время отдается предпочтение гепатопротекторам преимущественно растительного происхождения (54%), сочетающих мягкое терапевтическое действие с минимумом побочных эффектов [131].

Поэтому необходимость изучения фармакологических средств, эффективно корректирующих биохимические функции печени и иммунологическую

реактивность организма, нарушенные экотоксикантами, остается актуальной проблемой [20, 21, 22, 50].

Проведенный нами анализ литературных данных показал, что биологически активные соединения экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной делают целесообразным использование данных объектов в качестве эффективных гепатопротекторов.

Уникальное сочетание БАС (хлорогеновая кислота, гликозиды кемпферола и кверцетина, свободные и конденсированные катехины, проантоцианидины) обуславливают позитивное влияние экстракта ежевики на организм человека [70, 110].

Экстракт пижмы обыкновенной, в свою очередь, содержит биологически активные фенольные соединения (апигенин, лютеолин, цинарозид и яцеидин) и имеет богатый набор минеральных компонентов [39, 120]. Суммарное сочетание этих растительных объектов в соотношении 1:1 взаимно обогащает и усиливает позитивное действие на организм.

Степень разработанности темы

В настоящее время перекисные и антиперекисные механизмы в тканях печени при моделировании гипероксидации CCl_4 являются достаточно изученными [2, 8, 17, 63, 133, 135, 145, 151, 157, 166, 170]. Установлено, что при введении CCl_4 в организм происходит выраженная активация процессов образования свободных радикалов с последующим увеличением интенсивности перекисного окисления липидов и одновременным истощением активности антиоксидантной системы. В связи с этим возникают патологические изменения в тканях печени, и это нарушает нормальную жизнедеятельность организма [5, 14, 19, 20, 50, 76, 147]. В литературе имеются данные о купировании гипероксидации с помощью природных и синтетических антиоксидантов различного происхождения, отражающие оптимизацию функционирования антиоксидантной системы [6, 20, 41, 50, 77, 140, 159, 168]. Но устранение дисбаланса активных форм кислорода и продуктов их образования возможны только при определении мишени наиболее чувствительной к гипероксидации. В связи с этим актуальным и

обоснованным является продолжение изучения влияния различных антиоксидантов на систему «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» (ПОЛ-АО), а также на физиологическое состояние и иммунный статус организма.

Комплексный подход к исследованию состояния организма, на фоне дисбаланса перекисных и антиперекисных механизмов при нагрузке природными антиоксидантами, включающий не только исследование системы ПОЛ-АО печени, но и реактивных изменений гистоморфологической структуры органа, морфологического и биохимического состава крови животных и скорости монооксигеназных реакций позволит получить более полные сведения о специфике антиоксидантного статуса организма на фоне гипероксидации, влекущих интенсификацию свободнорадикальных процессов в организме, а соответственно послужит основой для разработки современных, перспективных методов защиты окислительного гомеостаза.

Цель исследования – выявить влияние модельной гипероксидации на перекисные и антиперекисные процессы в тканях печени крыс и показать роль растительных экстрактов в процессах регуляции перекисного окисления.

Задачи исследования:

1. Изучить перекисные и антиперекисные процессы в тканях печени крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и при модельной гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами в сравнительном аспекте и провести интегральную оценку окислительно-восстановительного гомеостаза.

2. Исследовать гистоморфологическую структуру печени крыс в норме, в условиях нагрузки растительными экстрактами и при моделировании гипероксидации в условиях нагрузки растительными экстрактами в сравнительном аспекте.

3. Выявить реактивные приспособления к гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами морфологического состава крови крыс и состояние их иммунной системы с помощью гематологических лейкоцитарных индексов в сравнительном аспекте.

4. Выявить особенности изменения биохимического состава крови крыс в условиях моделирования гипероксидации при регуляции перекисного окисления растительными экстрактами.

5. Исследовать эффективность гепатозащитного действия экстракта ежевики, пижмы обыкновенной, их смеси в соотношении 1:1 и экстракта расторопши.

6. Изучить в условиях индуцированной гипероксидации репаративные процессы и изменения иммуногенной реактивности в тканях печени и плазме крови крыс на фоне ингибирования перекисного окисления растительными экстрактами.

Научная новизна результатов исследования

В работе впервые:

- показано, что в норме внутрижелудочная нагрузка водными экстрактами ежевики, пижмы обыкновенной, их смеси в соотношении 1:1 и экстрактом расторопши характеризовалась разной степенью выраженности снижения интенсивности перекисных процессов в тканях печени, а при моделировании гипероксидации – способствовала восстановлению нарушенного окислительного гомеостаза и наилучшей эффективностью характеризуется смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1;
- произведена интегральная оценка окислительного гомеостаза в тканях печени крыс при нагрузке экстрактом пижмы обыкновенной, ежевики, их смесью в соотношении 1:1 и экстрактом расторопши и при гипероксидации на фоне нагрузки антиоксидантами;
- установлено, что в норме нагрузка крыс растительными экстрактами не оказывает влияние на гистоморфологическую структуру печени крыс, а на фоне гипероксидации – минимизирует количество гепатоцитов в состоянии жирового гепатоза и другие их дистрофические изменения, а также нарушения балочной структуры печени за счет снижения интенсивности перекисных и повышения активности антиперекисных процессов и наибольшей эффективностью отличается смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1;

- показано, что в норме нагрузка крыс растительными экстрактами приводит к увеличению числа эритроцитов и лейкоцитов и концентрации гемоглобина в крови в пределах физиологической нормы, а гипероксидация – к снижению количества эритроцитов и лимфоцитов, концентрации гемоглобина и увеличению лейкоцитов, но в условиях моделирования гипероксидации при регуляции перекисного окисления растительными экстрактами установлено снижению этих негативных последствий и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси растительных экстрактов в соотношении 1:1;

- выявлены на фоне неуравновешанности перекисных и антиперекисных процессов функциональные изменения иммунной системы крыс и дисбаланс между специфическим и неспецифическим компонентами иммунитета, отражающий динамику иммунокомпетентных клеток крови крыс в условиях стрессовых воздействий;

- установлено, возрастание концентрации биохимических параметров крови крыс (ЩФ, амилаза, глюкоза, креатинин, мочевины) на фоне гипероксидации, но нагрузка растительными экстрактами нивелировала негативное воздействие CCl_4 и наибольшей эффективностью обладает смесь растительных экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1;

- установлено, что изучаемые экстракты в условиях модели гипероксидации у крыс обладают в разной степени гепатопротекторными и детоксицирующими свойствами, и наиболее выраженный эффект установлен при использовании смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1;

- выявлено, что нагрузка растительными экстрактами подавляет активацию тканевого и системного воспаления, предотвращает развитие дистрофического и воспалительного процессов в печени, а также стимулирует регенерацию печеночной ткани и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной в соотношении 1:1.

Теоретическая значимость

Исследование вносит вклад в развитие представлений о дисбалансе перекисных и антиперекисных процессов в тканях печени крыс при моделировании гипероксидации и ее отражении в изменениях гистоморфологической структуры органа, морфологического и биохимического состава крови, скорости монооксигеназных реакций, репаративных и иммунных механизмах в тканях животных, что обогащает данные об окислительном гомеостазе и его роли в обеспечении функционирования организма.

Применяемый комплексный подход оценки состояния организма, на фоне дисбаланса перекисных и антиперекисных процессов при нагрузке природными антиоксидантами, включающий биохимические, гематологические и гистологические аспекты вносит новый вклад в понимание механизмов развития гипероксидации в тканях и способах купирования ее негативных последствий, что относится к области фундаментальных знаний.

Таким образом, полученные результаты расширяют теоретические основы физиологии и формируют предпосылки для проведения дальнейших разработок по данной проблеме.

Практическая значимость

Полученные данные в ходе экспериментального исследования имеют потенциальную практическую значимость. Установлено, что применение смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1 эффективно способствует восстановлению баланса перекисных и антиперекисных процессов при моделировании гипероксидации, нивелированию дегенеративных изменений гистоморфологической структуры печени, морфологического и биохимического состава крови животных и скорости монооксигеназных реакций, а также репаративных и иммунных механизмов в тканях крыс, что свидетельствует о ее выраженном гепатопротекторном действии.

В работе получено новое экспериментально обоснованное знание о возможности использования экстрактов пижмы обыкновенной, ежевики, их смеси

в соотношении 1:1 для создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения с целью профилактики и лечения токсических, в том числе лекарственных, поражений печени, так как они обладают выраженным гепатопротекторным эффектом.

Данные, полученные в ходе исследования, могут быть использованы в лекционных курсах и на практических занятиях в преподавании медико-биологических дисциплин (биология, физиология, биохимия, патологическая физиология).

На основании полученных данных разработана «Программа для определения оксидативного стресса в тканях». Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023686110, 04.12.2023. Заявка от 21.11.2023 г.

Теоретико-методологическая основа исследования

Теоретическую основу диссертации составили следующие научные представления:

- о понятии организма, как целостной функциональной системы (Анохин П.К., 1975; Орбели Л.А., 1982);
- о понятии оксидативного стресса, как дисбаланса перекисных и антиперекисных процессов в организме (Селье Г, 1970 г., 1982 г.; Амелина, И.П., Соловьева Э.Ю. 2019; Волощук О.Н., Стус Ю.В., Копыльчук Г.П., 2020; Гуреева В.С., Корнякова В.В. 2022; Vona R., Gambardella L., Cittadini C. 2019; Kehrer J.P., Klotz L.O. 2015; Mladenov M., Lubomirov L., Grisk O. 2023);
- о понятии окислительный гомеостаз (Газнюк Л.М., Липич Т.И., Липич В.В., 2022; Пятин В.Ф., Еськов В.В., Филатова О.Е., 2019; Limón-Pacheco J., Gonsebatt M.E. 2009);
- о механизмах токсического воздействия CCl_4 на ткани печени и организм в целом (Алекберова С.А., 2019; Тюменцева Н.В., Храмцова Ю.С., Арташян О.С., 2019; Габдрахманова И.Д., Мышкин В.А., Еникеев Д.А., 2020; Хабриев Р.У. 2005 г.; Корча V.S., Koshak Y.F. 2023;)

- о роли природных антиоксидантов в восстановлении баланса перекисных и антиперекисных процессов при оксидативном стрессе (Мусаева Д.М., Самадов Б.Ш., Дубинина Н.В., 2022; Гизингер О.А., Дадали В.А., 2021; Кузьминова Е.В., Семененко М.П., Василиади О.И., 2020; Dubey S., Singh E. 2023; Xiang X., Kwame A.W., Qing Y. 2023; Rasmus P., Kozłowska E. 2023).

Методологическая основа исследования поставлена в соответствии с целью и задачами. В работе использовались системный научный подход, научные принципы объективности, принцип единства теории и практики, принципы доказательной медицины, практической реализуемости, принципы контролируемого исследования и статистического анализа.

В работе использованы физиологические, биохимические, гематологические и гистологические методы. Для реализации поставленных целей и задач был проведен анализ современных литературных данных отечественных и зарубежных авторов. Разработан дизайн исследования на основе анализа отечественной и зарубежной литературы.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Экстракты пижмы обыкновенной, ежевики, их смесь в соотношении 1:1 и экстракт расторопши эффективны в защите организма от избыточной активации ответа на стрессорное воздействие CCl_4 , так как способствуют восстановлению нарушенного окислительного гомеостаза, при этом наилучшей эффективностью характеризуется смесь экстрактов благодаря синергизму их биологически активных соединений.

- Интегральная оценка окислительного гомеостаза у крыс в норме и при индуцированной гипероксидации с помощью коэффициентов оксидативного стресса в тканях печени позволяет достоверно оценить невысокие отклонения в антиоксидантном статусе организма.

- Внутрижелудочная нагрузка растительными антиоксидантами позволяет уменьшить негативное влияние CCl_4 на гистоморфологическую структуру печени,

и наиболее выраженный положительный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1.

- На фоне гипероксидации у крыс наблюдаются значительные патологические изменения морфологических и биохимических параметров крови, а внутрижелудочная нагрузка экстрактами пижмы обыкновенной, ежевики, их смесью в соотношении 1:1 и экстрактом расторопши способствует в разной степени снижению этих негативных последствий, и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси растительных экстрактов в соотношении 1:1.

- Расчет гематологических лейкоцитарных индексов позволяет оценить реакцию иммунной системы организма и выявить проявление, развитие, течение и тяжесть воспалительных процессов и экзогенной интоксикации, а также дисбаланс между специфическим (адаптивным) и неспецифическим (врожденным) компонентами иммунитета.

- Экстракты пижмы обыкновенной, ежевики, их смесь в соотношении 1:1 и экстракт расторопши в условиях модели гипероксидации обладают в разной степени гепатопротекторными, детоксицирующими и репаративными свойствами, которые обусловлены различными в их составе и наибольшую эффективность демонстрирует смесь растительных экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре «Физиология» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, на кафедрах «Эпизоотология, патология и фармакология» (акт внедрения от 8.10.2024) и «Биоэкология и физиология сельскохозяйственных животных» (акт внедрения от 19.11.2024) ФГБОУ ВО СамГАУ, а также на кафедре «Медико-биологические дисциплины» Медицинского университета «Реавиз» (акт внедрения от 3.12.2024).

Степень достоверности результатов исследования

Высокий уровень достоверности экспериментального исследования обеспечивается анализом современной отечественной и иностранной литературы по

теме исследования, что позволило разработать дизайн исследования, сравнить и интерпретировать полученные собственные результаты с имеющимися литературными данными, а также проведением анализов в аккредитованных лабораториях, посредством использования современных научных методов (физиологические, биохимические, гематологические и гистологические); использованием достаточного количества лабораторных животных, методикой формирования групп сравнения, размером выборки и использованием адекватных поставленным задачам методов статистической с помощью пакета программ STATISTICA Application 10.0.1011.0. В соответствии с поставленными задачами исследования выполнялся расчет частотных таблиц, как одномерных, так и многоуровневых и расчет элементарных статистик: среднее значение (M), ошибки средних (m), стандартное отклонение (σ), расчет долей (%); сравнительный анализ качественных параметров в исследуемых группах с применением непараметрических методов анализа. Критическое значение уровня значимости – 0,05.

Апробация результатов исследования

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Межвузовской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Научная весна» (Самара, 2022); I Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Научная весна» (Самара, 2024); Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы физиологии животных» (Москва, 2024); XVII International Scientific and Practical Conference «State and Development Pro-spects of Agribusiness» (INTERAGROMASH 2024).

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности

Направление диссертационного исследования соответствует п. 1 – закономерности и механизмы поддержания постоянства внутренней среды организма; п. 2 – молекулярная и интегративная организация физиологических функций; п. 3 – закономерности и механизмы нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, биохимических процессов, определяющих динамику

и взаимодействие физиологических функций.; п. 4 – закономерности функционирования основных систем организма (нервной, внутренней секреции, иммунной, сенсорной, двигательной, крови, кровообращения, лимфообращения, дыхания, выделения, пищеварения, репродуктивной и др.) при различных состояниях организма. паспорта специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки).

Публикации результатов диссертационного исследования

По теме диссертации опубликовано 5 научных работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России (К2), 1 статья в журнале, индексируемом базой данных Scopus и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен анализ фундаментальной современной литературы по теме диссертации; сформированы группы крыс для исследования в количестве, достаточном для получения статистически достоверных результатов; определен дизайн исследования и все необходимые манипуляции с животными по ходу запланированных экспериментов; проведена аналитическая и статистическая обработка полученных данных, на основе которых сделаны достоверные и обоснованные обобщения и выводы; оформлены автореферат и диссертация.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 168 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц, иллюстрирована 20 рисунками. Состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов, заключения и списка литературы. Список литературы включает 194 источника: 131 отечественных и 63 иностранных.

ГЛАВА 1

СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ НА ФОНЕ ГИПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ НАГРУЗКЕ АНТИОКСИДАНТАМИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Свободно-радикальные процессы в организме в норме

Свободные радикалы – это частицы, содержащие один или несколько неспаренных электронов на внешней электронной оболочке. Понятие свободных радикалов в физиологию было привнесено из фотохимии в 1900 году М. Гомбергом, но серьезное изучение их началось в двадцатых годах прошлого столетия. Отечественный ученый А. Гурвич говорил о роли свободных радикалов в действии митогенетических лучей, а чуть позднее А. А. Красновский доказал, что свободные радикалы могут быть первичными продуктами фотобиологического процесса (фотосинтеза). В пятидесятых годах Д. Харман доказал участие свободных радикалов в старении организма [105].

Жизнедеятельность всех аэробных организмов связана с кислородом, который участвует во всех энергетических процессах, не являясь токсическим агентом для клеток. Однако при протекании реакции неполного восстановления кислорода образуются продукты его неполного окисления – перекисные соединения, супероксидные радикалы, синглетный кислород, перекись водорода, которые имеют высокую химическую активность и называются активными формами кислорода. На синтез радикальных форм расходуется примерно 2–4 % поглощенного клеткой кислорода, но при воздействии неблагоприятных факторов объем затрат может возрастать. Избыточное образование АФК может вызывать функциональные нарушения широкого спектра.

Обычно концентрация АФК в живых тканях не велика – 10^{-8} – 10^{-11} М. АФК инициируют синтез органических гидропероксидов (ROOH) ДНК, белков, липидов, т.е. процесс перекисного окисления [74].

Окислительные процессы приобретают самоускоряющийся характер, при этом образуются радикалы, моно и димерные, циклические, полимерные перекиси, гидроперекиси липидов. В свою очередь гидроперекиси трансформируются в спирты, альдегиды и другие соединения. При этом в ходе перекисного окисления липидов снижается содержание ненасыщенных жирных кислот и образуются такие метаболиты, как малоновый диальдегид, этан, кетоны, альдегиды, предельные углеводороды [72, 104].

Процесс образования АФК является естественным следствием метаболических процессов и происходит в следующих биологических системах: дыхательной цепи митохондрий, электронно-транспортной цепи микросом, при переходе оксигемоглобина в метгемоглобин, в процессах метаболизма арахидоновой кислоты, в реакции гипоксантин-ксантинооксидаза, при биосинтезе и окислении катехоламинов. АФК имеют несомненно важное значение для функционирования организма, так как принимают участие в защитных реакциях, например, при действии патогенов, участвуют в катаболизме старых и синтезе новых молекул (лейкотриенов, тромбоксанов, простагландинов), в процессе естественной деструкции липидов и белков, а также служат вторичными посредниками в передаче сигналов. В целом АФК способствуют адаптации клеток к изменяющимся условиям среды за счет обновления мембранных фосфолипидов и белков.

АФК участвуют в жизненно важном процессе метаболизма соединительной ткани – пролиферации фибробластов, синтезе и распаде коллагена, метаболизме железа. В регуляции сосудистого тонуса путем ингибирования эндогенного оксида азота используется как кислород, так и АФК. Радикалы кислорода принимают участие в иммунных реакциях, обеспечивая реализацию бактерицидного, цитотоксического и иммунорегуляторного действия нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов. Супероксиданион радикал участвует в образовании хемотаксических факторов, вызывающих активацию и миграцию лейкоцитов в очаг воспаления. Процессы клеточного фагоцитоза связаны с генерацией АФК [72]. Таким образом, АФК – участники разнообразных метаболических реакций клеток организма, без которых невозможно поддержание гомеостаза организма.

1.2 Патогенетический механизм воздействия свободных радикалов

Под воздействием эндо- и экзогенных факторов АФК накапливаются в организме в не физиологическом объеме и становятся токсичными для всех биологических систем. Свободные радикалы вызывают деградацию белков и липидов клеточных мембран, ингибирование ферментов, модифицируют свойства гормонов и их рецепторов. АФК индуцируют увеличение уровня свободного кальция и соответственно меняют динамику кальцийзависимых процессов. Накопление АФК приводит к разрушению компонентов антиоксидантной защиты и индукции апоптоза [153, 157, 166, 170, 178, 179].

Основным следствием избытка АФК является неконтролируемое усиление процессов перекисного окисления липидов. При этом фосфолипиды мембран деградируют, мембраны становятся ригидными. Следовательно, снижается функциональная активность мембранных ферментов, рецепторов и каналобразующих белков, препятствуя удалению ионов кальция из саркоплазмы и способствуя повреждению органелл [181, 169].

Совокупность избыточного количества АФК и продуктов ПОЛ стимулирует перепроизводство и высвобождение провоспалительных цитокинов фактора некроза опухолей, интерлейкина-1, интерлейкина-6) и медиаторов воспаления (гистамина, брадикинина, серотонина), производных арахидоновой кислоты (лейкотриенов, простагландинов и тромбоксанов) [81].

В результате повреждения плазматических, митохондриальных и ядерных мембран, ядерного и митохондриального генома, липопротеинов крови нарушается целостность сосудов и гистогематических барьеров, увеличивая возможность развития большого количества заболеваний воспалительной, токсической и аутоиммунной природы (ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, ишемические и перфузионные поражения головного мозга и почек, атеросклероз, нейродегенеративные заболевания мозга – рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, хорея Геттингтона, болезнь Альцгеймера, эмфизема, бронхиальная астма, хронический бронхит, хронические заболевания печени) [36, 40, 70, 71, 113, 119].

Многими исследователями отмечено участие свободных радикалов в интенсификации мутагенеза и протеолитической активности вируса гриппа, цитолитического эффекта вирусной инфекции, деструкции капиллярной сети и стенок капилляров, развития отека легких. Соответственно АФК имеет основополагающее значение как для физиологических процессов в норме, так и для патогенетических процессов. В свете вышесказанного весьма актуальными являются исследования, посвященные методам нормализации уровня свободных радикалов в организме [3, 17, 50, 74, 160, 185].

1.3 Влияние антиоксидантов на свободно-радикальные процессы в организме при гипероксидации

Гипероксидация развивается под воздействием неблагоприятных факторов различной этимологии:

- отрицательное действие факторов окружающей среды (табачный дым, загрязнение воздуха выбросами транспорта и промышленных предприятий, радиационное и ультрафиолетовое излучение, ксенобиотики, в том числе лекарства, анестетики, пестициды, промышленные растворители и др.);

- избыточные физические нагрузки, стресс, переутомление сопровождаются увеличением образования свободных радикалов;

- отсутствие адекватного питания.

В адекватных условиях антиоксидантная система организма способна регулировать концентрацию АФК [15, 118, 136, 173]. В условиях продолжительного состояния гипероксидации защитные резервы истощаются за счет расхода антиоксидантной емкости крови и окислительной модификации компонентов АОС [130, 146, 161].

Антиоксидантная система нашего организма представлена различными ферментами и низкомолекулярными антиоксидантами. Выделяют ферментативное и неферментативное звено АОС. Ферментативное звено включает в себя глутатионпероксидазу, супероксиддисмутазу, каталазу [24]. Центральным звеном

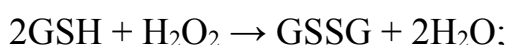
АОС является система глутатиона, состоящая из собственно глутатиона (гамма-глутамил-цистеинил-глицин, GSH) и метаболических ферментов – каталазы, глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ), глутатионпероксидазы (ГП). Они выполняют следующие функции: супероксиддисмутаза восстанавливает супероксид; ГПО и каталаза восстанавливают H_2O_2 ; ГПО и ГТ восстанавливают органические гидропероксиды свободных жирных кислот, нуклеотидов, нуклеиновых кислот; ГТ, глиоксалаза и формальдегиддегидрогеназа обезвреживают вторичные продукты пероксидации и другие окисленные соединения [139, 150, 156].

Глутатион является трипептидом, включающим в себя глутаминовую кислоту, цистеин, глицин. Защищает клетки от свободных радикалов и определяет редокс-статус внутриклеточной среды, основная масса его содержится в цитозоле и около 15 % – в митохондриях [35].

Глутатион выполняет ряд фундаментальных функций:

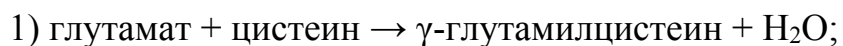
- 1) является антиоксидантом;
- 2) поддерживает в восстановленном состоянии SH ферментов других белков и мембран;
- 3) участвует в редокс-регуляции;
- 4) участвует в биосинтезе ДНК, пролиферации;
- 5) участвует в синтезе лейкотриенов;
- 6) участвует в обмене простагландинов;
- 7) участвует в метаболизме ксенобиотиков;
- 8) повышает резистентность клеток к негативным воздействиям;
- 9) связывает тяжелые металлы;
- 10) содержит резерв цистеина [168].

Глутатион присутствует в организме в двух формах: окисленная (GSSG) и восстановленная (GSH):



Именно в восстановленной форме глутатион оказывает свою основную защитную функцию за счет группы SH. Концентрация восстановленного глутатиона в норме в 20–100 раз выше, чем окисленного [182, 184].

Большая часть глутатиона (около 90 %) синтезируется в печени и далее транспортируется в другие органы и ткани [165]. При ингибировании синтеза глутатиона в печени и организме в целом уменьшается концентрация глутатиона в плазме крови. В печени обнаружено наличие двух пулов глутатиона – лабильного и стабильного. Синтезируется GSH в две стадии с участием гамма-глутамилцистеин синтетазы для первой реакции и глутатионсинтетазы – для второй [165, 155].



Обе реакции осуществляются при участии АТФ и ионов Mg^{++} .

Доступность цистеина в печени зависит от присутствия его в пище, степени активности переноса трех аминокислот через мембраны и нормального функционирования цистатионинового пути. В случае подавления транспорта цистеина в клетку происходит снижение концентрации глутатиона в клетке [193].

Вторым важным источником GSH является ГР, которая восстанавливает GSSG с участием НАДФН + H^+ : $\text{GSSG} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{GSH} + \text{NADP}^+$.

С помощью этой реакции поддерживается высокий внутриклеточный уровень GSH/GSSG. ГР является ключевым ферментом поддержания тиолового редокс-статуса клетки [100].

Изменения в организме на клеточном уровне, приводящие к нарушению синтеза глутатиона, вызывают ряд серьезных заболеваний и патологических состояний, таких как атеросклероз, сахарный диабет, неалкогольная жировая болезнь печени, инфаркт миокарда, болезни нервной системы [143, 145, 159, 190].

Нарушения в физиологической активности антиоксидантной системы характеризуются дестабилизацией в работе ферментов и накоплением продуктов перекисного окисления липидов в клетке и органах [16, 73, 103, 149, 151].

Неферментативное звено включает в себя соединения низкомолекулярной и белковой природы: витамины группы E (токоферолы), убихинон, витамины группы A (ретинолы) и провитамины группы A (α -, β -, γ -каротины), витамины группы D (кальциферолы), витамины группы K (филохиноны и менахинон), липоевую кислоту, некоторые стероидные гормоны, мелатонин и др. [135, 152].

Не менее важное место в антиоксидантной защите занимают таурин, мочева кислота, мочевины, полиамины, билирубин.

Мочевина обеспечивает защиту центральной нервной системы (ЦНС), тканей легких, крови, препятствуя образованию метгемоглобина. Мочевая кислота восстанавливает метгемоглобин, образуя малоактивный радикал урат, подавляет процессы ПОЛ, высвобождаясь при стрессовых состояниях, защищает клетки крови.

Гликопротеин церулоплазмин является внеклеточным антиоксидантом крови, инактивирует супероксидный радикал, оказывая противовоспалительное действие, транспортирует медь, тем самым способствуя синтезу цитохрома-C-оксидазы, регулирует активность биогенных аминов и, в целом, стимулирует функциональность крови. Синтезируется в гепатоцитах [24, 75].

Высокая антиоксидантная активность представленных соединений обеспечивается их донорскими свойствами и возможностью восстановления липидных радикалов. Их совокупная антиоксидантная активность также связана с возможностью образованного в ходе жизнедеятельности радикала антиоксиданта не только образовывать стабильные молекулы, но и инициировать новые цепи свободнорадикального окисления [23].

Антиоксиданты, способные образовывать минимально активные радикалы, обладают повышенной антиоксидантной активностью. Среди них наибольшее значение имеют токоферолы. В 1953 году Tappel A.L. опубликовал концепцию антиоксидантного действия токоферола. Боковая изопреновая цепь токоферолов соответствует по длине жирнокислотным остаткам фосфолипидов, что позволяет встраиваться в мембрану, образуя комплексы между метильными группами боковой цепи и двойными связями жирных кислот, тем самым обеспечивая

средство к α -токоферолам фосфолипидов митохондрий и эндоплазматического ретикулума мембран [154, 174].

Наибольшей антирадикальной активностью обладает α -токоферол, обеспечивая 60 % антирадикального действия эндогенных жирорастворимых антиоксидантов, усиливая стойкость мембран, а антиоксидантная активность наиболее выражена у γ -токоферола [140].

В целом токоферол (витамин E) способен повышать уровень природных липидных антиоксидантов, инактивировать синглетный кислород, супероксидные и липидные радикалы, защищать от действия озона, активизировать синтез гемоглобина, миоглобина, каталаз, пероксидаз, цитохромов, коэнзима Q, интенсифицировать бласттрансформацию Т-лимфоцитов, тем самым воздействовать на клеточный и гуморальный иммунитет [123].

Убихинон синтезируется клетками организма и может регенерироваться из окисленной формы, является переносчиком электронов в дыхательной цепи и улучшает состояние при множестве патологий (ишемическая болезнь сердца, атеросклероз и его осложнения, артериальная гипертензия, анемии, гипоиммунные состояния, астенический синдром и синдром хронической усталости, хронические интоксикации, гипоксические состояния любого происхождения) [90, 125, 167].

Следующий жирорастворимый витамин – витамин A, совместно с другими каротиноидами выполняет защитную функцию биологических мембран от АФК. На данный момент известно несколько разновидностей витамина A. Более значимыми физиологическими проявлениями обладает витамин A₁, синтезируемый из предшественников с высокой антиоксидантной активностью – α -, β - и γ -каротиноидов. Воздействие витамина A заключается в интенсификации обменных процессов тиоловых соединений, ингибировании трансформации сульфгидрильных групп в дисульфидные и оптимизации свойств биомембран. Проникая в гидрофобную зону мембран ретинол взаимодействует с лецитино-холестериновыми монослоями на границе раздела фаз, вызывая перестройку мембран клетки, лизосом и митохондрий [123].

Аскорбиновая кислота (витамин С) является одним из активнейших элементов антиоксидантной защиты, не синтезируемых организмом. Находясь в межклеточной жидкости и являясь водорастворимой, аскорбиновая кислота легко проникает во все ткани, взаимодействуя с целым рядом витаминов и антиоксидантов. При взаимодействии с собственным метаболитом – дегидроаскорбиновой кислотой – транспортирует ионы водорода. Инактивирует АФК, органические пероксиды, защищает липопroteины низкой плотности от окислительного повреждения, перехватывая свободные радикалы до мембран. Витамин С способен восстанавливать окисленную форму витамина Е. Принимает участие в синтезе коллагена, гиалуроновой кислоты, стероидных гормонов, норадреналина, карнитина, способствует абсорбции железа из кишечника и продуцированию гема. Активирует металлоферменты, способствует метаболизму витамина D, увеличивает количество оксида азота в эндотелии, тем самым стимулируя его синтез. Является основным компонентом в защите центральной нервной системы [191]. Влияет на активность цитохрома P-450, который является основным ферментом гидроксилирования и перекисного окисления. В форме аскорбата-иона, эндогенного антиоксиданта плазмы крови, препятствует перекисным радикалам окислять липиды, разрушать витамины А и Е.

Значимые концентрации аскорбиновой кислоты обнаруживаются в метаболически активных органах и тканях: надпочечниках, хрусталике, роговице, почках, головном мозге, поджелудочной железе, а также в тромбоцитах и лейкоцитах [164].

Синергистом и спутником витамина С является система физиологически активных фенольных соединений. На данный момент известно более 20 000 подобных соединений, встречающихся в живых растениях. Наиболее значимы по биологической активности соединения с двумя и более гидроксильными группами в бензольном ядре, способные образовывать буферную окислительно-восстановительную систему. Их гидроксильные группы легко отдают атом водорода, взаимодействуя со свободными радикалами и становясь для них ловушками. При этом радикалы фенольных соединений малоактивны.

Биофлаваноиды – это вещества растительного происхождения с ярко выраженной антиоксидантной активностью. Они снижают артериальное давление, пропульсивную активность мускулатуры кишечника, устраняют бронхоспазм, оказывают укрепляющее действие на капилляры.

К группе биофлаваноидов относятся флавононы (гесперидин, эриодиктин), флаванолы (рутин, кверцетин, кверцитрин), халконы (гесперидин – метилхалкон), дегидрохалконы (флоридин), катехины (1-эпикатехин, 1-эпигалокатехин, 1-эпигалокатехингаллат) антоцианидины (цианидин), лейкоантоцианы, кумарины (эскулин), бензофеноны (маклурин и галловая кислота)

1.4 Функциональные нарушения печени при перекисной окислительной модификации

В системе желудочно-кишечного тракта самой объемной полифункциональной железой является печень – центр синтеза веществ, химической обработки соединений, вырабатываемых в результате жизнедеятельности, элемент антиоксидантной защиты организма. При любых отклонениях от гомеостатического равновесия в организме (воспалительные заболевания, токсические, дисметаболические, лекарственные воздействия) печень несет дополнительную нагрузку, на фоне которой развиваются хронические патологические состояния. Патологии печени находятся на одном из первых мест Всемирной организации здравоохранения как причина тяжелых заболеваний более 2 млрд человек – это вирусные заболевания, лекарственные поражения печени, цирроз и алкогольный стеатоз, неалкогольная жировая болезнь печени [11, 22, 93, 147, 175].

В основе большей части патологий лежит явление жировой дистрофии гепатоцитов, происходящее в результате серьезных нарушений липидного обмена на фоне постоянно действующих экзо- и эндофакторов. В результате происходит рост свободных жирных кислот в гепатоцитах, увеличение тиреоглобулина и холестерина, тем самым уменьшается устойчивость клеток к вредным воздействиям [14, 117]. В случае интенсификации окислительных реакций идет мобилизация свободных ионов

железа, что влечет к увеличению количества свободных радикалов, которые, в свою очередь, инициируют процессы ПОЛ, продукцию цитокининов, TNF- α , интерлейкина-6 и интерлейкина-8. Эта цепь последовательных реакций заканчивается некрозом гепатоцитов и воспалением печеночных долей [124, 142]. Начинается синтез реактивной формы кислорода, NO, цитокинов, эйказаноидов. На этом фоне гепатоциты продуцируют прооксиданты, что, в конечном итоге, приводит к формированию стеатогепатита. Подобная последовательность реакций называется «печеночный континуум», итогом которого является развитие гепатоцеллюлярной карциномы. На данный момент разработка способов изменения данной последовательности является актуальным вопросом, в свете которого рассматриваются ряд лекарственных препаратов и биологически активных веществ [8].

1.5 Растительные экстракты как комплекс природных антиоксидантов

Экстракт ежевики кустистой как комплекс природных антиоксидантов

Царство Растения (Plantae)

Отдел Цветковые (Angiospermae)

Класс Двудольные (Magnoliopsida)

Порядок Розоцветные (Rosales)

Подкласс Розиды (Rosidae)

Семейство Розовые (Rosaceae e Luss. s.str.)

Подсемейство Розановые (Rosoidae)

Род Рубус (Rubus L.)

Подрод Ежевика (Eubatus)

Вид Ежевика кустистая (Rubus fruticosus)

Ежевика кустистая, также известная как *Rubus fruticosus*, это плодовой кустарник, принадлежащий к семейству розовых (Rosaceae). Она является родственницей малины и других растений семейства Rubus. Ежевика обыкновенная имеет густые колючки и плоды, называемые ежевикой, которые обладают сладким вкусом и ароматом. Это популярное растение в садоводстве, так

как его плоды могут быть использованы для приготовления варенья, джемов, пирогов и других вкусных блюд. Кроме того, ежевика обладает высоким содержанием антиоксидантов и полезных веществ, что делает ее ценным источником питательных веществ. Ягоды являются очень питательными продуктами, богатыми полиненасыщенными жирами, пищевыми волокнами и различными биологически активными веществами – фенольные соединения ежевики включают в себя флавоноиды (2-фенил), изофлавоноиды (3-фенил), и неофлавоноиды и эллаговую кислоту, дубильные вещества, эллагитаннины, кверцетин, галловую кислоту, антоцианы и цианидины.

Установлено, что антоцианы и флавоноиды, содержащиеся в плодах ежевики, обладают способностью замедлять действие свободных радикалов, укреплять иммунную систему, снижать воспалительные процессы и ингибировать рост опухолевых клеток толстой кишки [61, 70, 107, 110, 128, 186, 192].

Экстракт пижмы как комплекс природных антиоксидантов

Царство Растения (Plantae)

Отдел Цветковые (Angiospermae)

Класс Двудольные (Magnoliopsida)

Порядок Астроцветные (Asterales)

Семейство Астровые (Asteraceae)

Подсемейство Астровые (Asteroideae)

Триба Пупавковые (Anthemideae)

Подтриба Пупавковые (Anthemidinae)

Род Пижма (Tanacetum)

Вид Пижма обыкновенная (Tanacetum vulgare L.)

Во время цветения в соцветиях пижмы содержатся алкалоиды (0,04–0,5 %), полисахариды, белки, гликозиды, органические кислоты (танацетовая и галлусовая), дубильные и горькие вещества, витамины (аскорбиновая кислота, рутин, каротин), оксифлавононгликозид; в семенах – жирное масло. Пижма обладает способностью накапливать марганец.

В цветках и листьях содержится эфирное масло, количество которого зависит от времени сбора и от места произрастания. Наибольшее содержание эфирного масла (от 1,5 до 2 %) наблюдается в период цветения. Выход эфирного масла из свежих цветущих растений в среднем 0,1–0,2 %, из сухих – 0,2–0,3 %. Эфирное масло из цветков и листьев – жидкость желтого или зеленовато-желтого цвета. Основным компонентом эфирного масла является β -туйон. Кроме того, в масле содержится α -туйон, пинен, L-камфора и борнеол, а также бициклический сесквитерпеновый непредельный диоксилактонтанацетин. Содержание в сибирских растениях кетонов (туйона и камфоры) колеблется от 0 до 61 %. Если растения произрастают на сухом возвышенном месте, содержание кетонов в масле значительно больше, чем в случае, когда растения произрастают в густых зарослях, на низменных и затененных местах.

Растение токсично из-за наличия туйона, поэтому не следует допускать его передозировки [120].

Пижма обыкновенная широко используется в кулинарии, фитотерапии и производстве алкогольных напитков, таких как ликеры и водка. Ее семена, корни и листья используются для добавления аромата и вкуса различным блюдам, а также в качестве приправы для кондитерских изделий.

Экстракты из пижмы обладают широким спектром биологической и фармакологической активности. Были установлены их антиоксидантная [138], противовирусная (герпес HSV-1 и HSV-2), антитромбиновая и противоопухолевая активности [172]. Ингибирование роста раковых клеток шейки матки HeLa при действии препаратов из пижмы достигало 77,68 % [144]. В ряде исследований обнаружены антигельминтные, гепатопротекторные, антимикробные, противогрибковые свойства пижмы [132].

Предполагается, что биологическая активность препаратов из пижмы связана с присутствием в них фенольных соединений [1]. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в экстрактах были идентифицированы флавоны и их гликозиды (лютеолин, апигенин, ориентин, хризоэриол, гиспидулин, акацетин, непетин, диосметин, 6-гидроксилютеолин,

акацетин-7-гликозид, 7-О-глюкозид апигенина и лютеолина, 7-О-глюкуронид апигенина и лютеолина), а также флавонолы и их гликозиды (рутин, изорамнетин, гиперозид, кемпферол и кверцетин 5-О-глюкозид) [180]. Кроме флавоноидов в экстрактах из пижмы обнаружено высокое содержание фенольных кислот: хлорогеновой, неохлорогеновой, 3,5- и 4,5-дикофеоилхинных кислот [39].

Экстракт расторопши как природный антиоксидант

Царство Растения (Plantae)

Отдел Цветковые (Angiospermae)

Класс Двудольные (Magnoliopsida)

Порядок Астроцветные

Семейство Астровые (Asteraceae)

Подсемейство Астровые (Asteroideae)

Род: Расторопша (*Silybum*)

Вид: Расторопша пятнистая (*Silybum marianum*)

Растение широко применяется на территории РФ. В Государственную Фармакопею Российской Федерации XIII издания в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) включены плоды данного растения.

В медицине применяется масло расторопши, отжимаемое из семян, шрот расторопши, спиртовой и водный экстракты расторопши, фиточай на основе плодов расторопши, сироп расторопши. В качестве лекарственного сырья используют зрелые плоды расторопши пятнистой. Заготовку проводят скашивая, высушивая и обмолачивая надземную часть. Плоды досушивают в сушилках и очищают от примесей [86].

Данное ЛРС нашло широкое применение в медицине в форме источника гепатопротекторных и антиоксидантных пероральных лекарственных препаратов (Легалон, Карсил, Силимар, Сибектан, Фосфонциале, Гепабене). Основное фармакологическое действие обусловлено силимарином (*Silymarin*), природной композицией биологически активных веществ, состоящей из семи флавоноидов и одного флаволигнана: силибин А, силибин В, изосилибин А, изосилибин В,

силикристин, изосиликристин, силидианин, таксифолин. Известны его антиоксидантные, противовоспалительные, гепатопротективные, иммуностимулирующие, антидепрессивные свойства. Его используют в качестве холеретического, гепатопротекторного и желчегонного средства. Выявлены противоопухолевые и антидиабетические свойства силимарина, а также нейропротективные, гастропротективные, нефропротективные, антитоксические и противовирусные свойства [94].

Препараты расторопши пятнистой, как предполагается, улучшают образование и выведение желчи и обладают гепатопротекторным действием [49].

Шрот расторопши содержит 5 % силимарина (смесь флавоноидов и флавонолигнанов расторопши). Применяется для лечения болезней печени (гепатита, цирроза, токсических нарушений печени), селезенки, при желчных камнях, желтухе, хроническом кашле и других заболеваниях.

Проверенная эффективность силимарина у пациентов с острыми нарушениями работы печени имеется при отравлении ядом бледной поганки и родственными ей грибами, а также некоторыми лекарственными средствами, такими как такрин и цитостатики, ведутся исследования пользы при хронической вирусной инфекции (гепатит С) [54, 68, 101, 129].

Прием плодов расторопши увеличивает концентрацию пролактина в крови особой женского пола вследствие воздействия на дофаминовые D2-рецепторы. Расторопша использовалась исторически для облегчения симптомов менструации и менопаузы, она оказывает положительное воздействие на когнитивные нарушения, вызванные дефицитом эстрогена во время менопаузы и дальнейшего старения [189].

Для нормализации прооксидантноантиоксидантного баланса организма активно применяются антиоксиданты растительного происхождения. Выраженные антиокислительные свойства отмечены у экстракта расторопши. Антиоксиданты помогают защищать клетки организма от вредного воздействия свободных радикалов, которые могут привести к повреждению ДНК, гипероксидации и различным заболеваниям [127].

ГЛАВА 2

ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Организация исследования

Основная часть экспериментальной работы выполнена на кафедре медико-биологических дисциплин Медицинского университета «Реавиз». Исследование одобрено Этическим комитетом при Медицинском университете «Реавиз» №393 от 3 октября 2022 г.

Эксперименты проведены на 300 белых беспородных крысах – самцах массой 240–260 г. Исследования выполнены в соответствии с правилами лабораторной практики в Российской Федерации: приказ Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г.; приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.; закон «О защите животных от жестокого обращения» гл. V, ст. 104679-ГД от 01.12.1999 г.

Схема экспериментов представлена на рисунке 1.

Исследование системы ПОЛ-АО печени крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и при экспериментальном моделировании гипероксидации проводили на 300 беспородных белых крысах-самцах массой 240–260 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище [80]. Все крысы были разделены на 10 экспериментальных групп (таблица 1) по 30 животных в каждой группе в соответствии с применяемым объектом исследования.

Таблица 1 – Группы экспериментальных животных

Объект исследования	Номер группы									
	1 интактные	2 контроль	3	4	5	6	7	8	9	10
Вода	+	+								
CCl ₄		+		+		+		+		+
Экстракт пижмы лекарственной			+	+						
Экстракт ежевики					+	+				
Масло расторопши							+	+		
Смесь водных экстрактов ежевики и пижмы									+	+

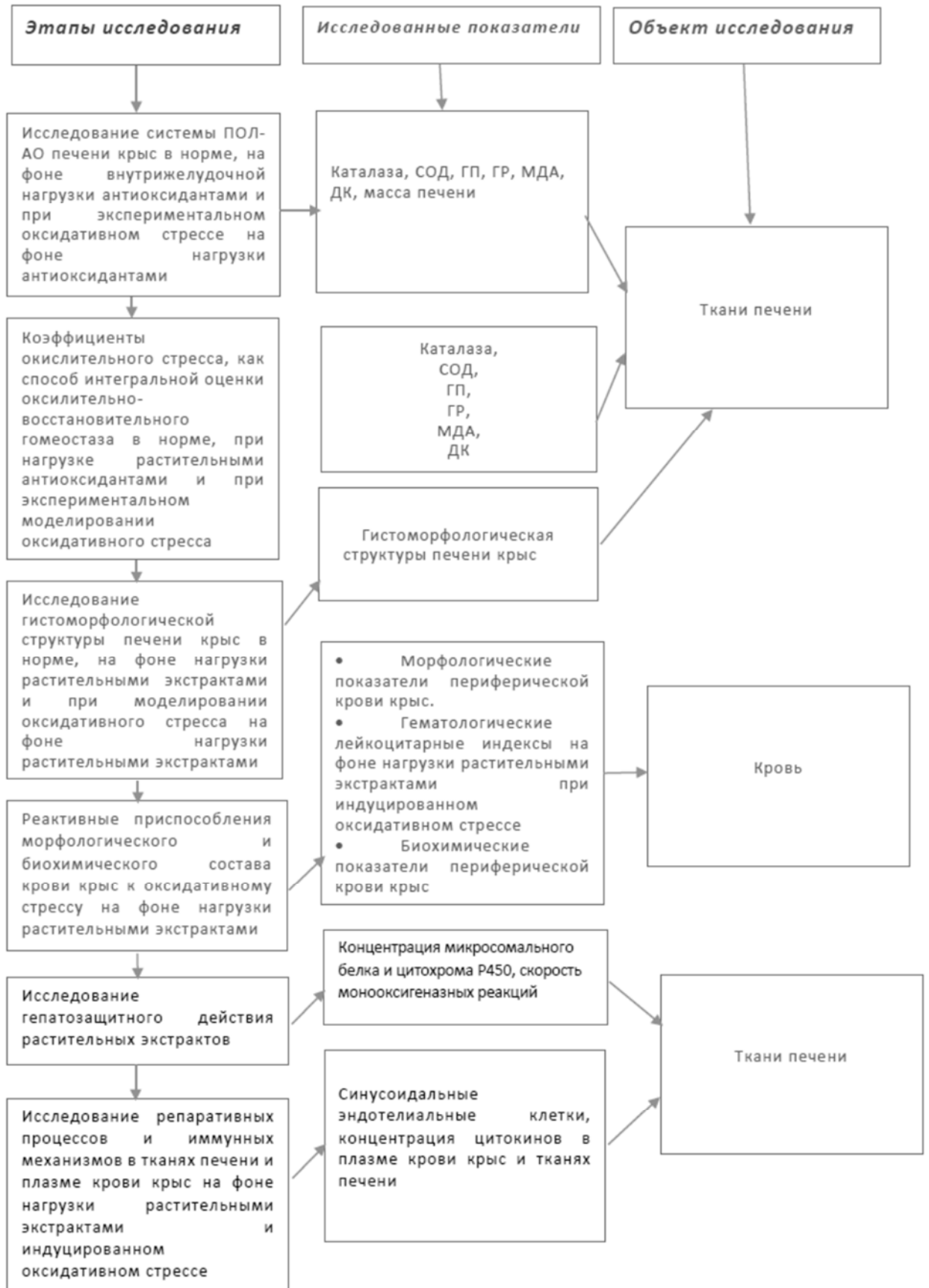


Рисунок 1 – Дизайн исследования.

В исследовании использовали водные экстракты пижмы лекарственной, ежевики и масляный экстракт расторопши производства ООО «КоролевФарм» с концентрацией действующих веществ 3,5–4,0 %, а смесь экстрактов пижмы лекарственной и ежевики в соотношении 1:1 готовили самостоятельно из готовых экстрактов.

Основные действующие вещества экстракта ежевики: хлорогеновая кислота, гликозиды кемпферола и кверцетина, свободные и конденсированные катехины, проантоцианидины.

Основные действующие вещества экстракта пижмы обыкновенной: апигенин, лютеолин, цинарозид и яцеидин.

Основные действующие вещества экстракта расторопши: таксифолин, кверцетин, кемпферол, силибин, силимарин, силикристин.

Приготовление смеси экстрактов пижмы лекарственной и ежевики обусловлено тем, что каждый из них содержит широкий спектр биологически активных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами и их совместное применение будет проявлять синергетический эффект.

Экстракты животным вводили ежедневно однократно в желудок с помощью зонда в дозе 50 мг/100 г массы животного, объемом 1,5 мл в течение 30-ти дней, а крысы 1 и 2 группы получали дистиллированную воду тем же объемом ежедневно внутрижелудочно. Нагрузка крыс экстрактами в указанной дозе обусловлена расчетом суточной потребности в биологически активных соединениях, содержащимися в экстрактах и рекомендуемыми нормами их потребления, а длительность приема – клиническим опытом [41].

2.2 Методы исследования

Физиологические методы

Моделирование гипероксидации происходило через 30 суток введения животным растельных экстрактов согласно схеме опыта таким образом: параллельно с введением растительных экстрактов и воды, животным производили введение четыреххлористого углерода (CCl₄) внутримышечно в виде 50 %

масляного раствора на абрикосовом масле в дозе 2 г/кг веса животного в течение 6 дней [102]. Выживаемость животных составляла 100 %. На 37-й день опыта крыс выводили из эксперимента в соответствии с этическими нормами под эфирным наркозом методом декапитации, затем проводили извлечение печени и забор крови на исследование.

Биохимические методы

Для определения активности каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и концентрации малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК) в тканях печени, ее промывали физиологическим раствором и сразу замораживали. Гомогенат печени готовили механическим измельчением ткани массой 1 г с 9 мл трис-буфера (рН 7,4) со скоростью 5000 об/мин в сосуде с двойными стенками, постоянно охлаждаемым проточной водой. Определение активности каталазы в тканях печени проводили по стандартной методике Королюка М.А. [55], супероксиддисмутазы – по методу В.А. Костюк и соавт. [56], глутатионпероксидазы – по методу В.М. Мойн, глутатионредуктазы – по накоплению окисленного глутатиона [71]. Определение концентрации малонового диальдегида (МДА) осуществляли по методике Рогожина В.В. [97], а концентрацию диеновых конъюгатов – спектрометрическим методом [33, 53]. Ферменты определяли в гомогенатах печени с использованием тестовых наборов фирмы Cloud-Clone Corp (USA) для лабораторных животных. Также исследовали массу печени [53, 102].

Для интегральной оценки окислительно-восстановительного гомеостаза в норме при нагрузке растительными антиоксидантами и при экспериментальном моделировании гипероксидации у крыс использовали коэффициенты оксидативного стресса: коэффициент, выражающий отношение активности каталазы к активности СОД; антиоксидантно-прооксидантный индекс (АПИ), выражающий соотношение активности каталазы к концентрации МДА; коэффициент отношения концентрации МДК к концентрации диеновых конъюгатов (ДК) и локальный антиоксидантный индекс (ЛАИ), представляющий

собой отношение произведения активностей каталазы и СОД к концентрации МДА, а также общий антиоксидантный индекс (АОИ_{общ}) [37, 43, 44, 48]. Использовали животных 1, 2, 4, 6, 8 и 10 группы.

Все эти коэффициенты рассчитывались по показателям ферментов печени интактных животных, крыс в состоянии гипероксидации и животных, которые получали растительные экстракты на фоне индуцированного оксидативного стресса.

АОИ_{общ} рассчитывали по формуле:

$$\begin{aligned} \text{АОИ} = \text{АОИ}_1 - \text{АОИ}_2 = & [(\text{ГП}_{\text{оп}}/\text{ГП}_{\text{контр.}} + \text{ГР}_{\text{оп}}/\text{ГР}_{\text{контр.}} + \\ & + \text{СОД}_{\text{оп}}/\text{СОД}_{\text{контр.}} + \text{КАТ}_{\text{оп}}/\text{КАТ}_{\text{контр.}})/4] - \\ & - [(\text{ДК}_{\text{оп}}/\text{ДК}_{\text{оп. контр.}} + \text{МДА}_{\text{оп.}}/\text{МДА}_{\text{контр.}})/2], \end{aligned}$$

где АОИ – антиоксидантный индекс;

АОИ₁ – суммарное значение для основных ферментов АОС-системы;

АОИ₂ – суммарное значение для продуктов ПОЛ;

ГП_{оп}, ГР_{оп}, СОД_{оп}, КАТ_{оп}, ДК_{оп} и МДА_{оп} – активность или концентрация соответствующего фермента у животных с индуцированной гипероксидацией;

ГП_{контр.}, ГР_{контр.}, СОД_{контр.}, КАТ_{контр.}, ДК_{контр.} и МДА_{контр.} – активность или концентрация соответствующего фермента у животных до индуцирования гипероксидации.

Индекс АОИ может быть выражен как в процентах, так и в долях. В первом случае контрольным значением считается 100 %, во втором – 0.

Гистоморфологические методы

Исследование гистоморфологической структуры печени крыс в норме на фоне нагрузки растительными экстрактами и при моделировании гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами проводили на 300 беспородных белых крысах (таблица 1).

Материалом морфологического исследования служила печень крыс исследуемых групп, взятая на 37-й день опыта, после выведения животных из первой серии эксперимента. Из печени каждого животного подгруппы получали по

одному блоку для микроморфологического исследования. При макроморфологическом исследовании осуществляли взвешивание органа, расчет его относительной массы, описывали визуальную картину, включающую форму, размер, цвет, внешнее состояние печеночной капсулы и краев органа, наличие видимых патологических изменений как на поверхности, так и на срезе.

Фрагменты из центральных участков печени животных размером до 1 см³ забирали и фиксировали в нейтральном забуференном 10 % растворе формалина на протяжении не менее, чем 24 и не более, чем 48 часов. Гистологическую проводку биологического материала осуществляли в автоматическом режиме с использованием автоматической станции марки «STP-120» (типа «Карусель», производства Германии), последующую парафинизацию блоков также проводили автоматически, применяли систему «ЕС350» (производства Германии). Для приготовления микропрепаратов использовали ротационный микротом марки «НМ340Е» производства компании «Microm Laborgerate GmbH» (Германия). Из каждого парафинового блока изготавливали по 6–10 срезов толщиной 4–5 мкм, проводили наклеивание их на предметные стекла влажным способом и высушивали при температуре 37 °С не менее 48 часов в термостате. Для последующего гистологического окрашивания гематоксилином и эозином осуществляли депарафинирование и регидратацию препаратов в колонке реагентов в следующей последовательности:

- ксилол – 2 смены по 7 мин.;
- абсолютный этиловый спирт – 5 мин.;
- этиловый спирт 96 % – 5 мин.;
- вода дистиллированная – от 5 до 10 мин.

Окрашивание гематоксилином и эозином. Проводили окрашивание по Хеллендахелю, для чего депарафинированные предметные стекла с препаратами печени крыс помещали в емкость, содержащую квасцовый гематоксилин Караци (время экспозиции 1,5–2,0 мин) с последующей промывкой в проточной водопроводной воде. После проведения окрашивания эозином (время экспозиции – 0,5 мин) препараты промывали дважды дистиллированной водой, обезвоживали с

использованием 96 % этилового спирта (экспозиция 1 мин) и просветляли (использовали ксилол в течение 0,5 мин). После проведения описанных манипуляций препарата накрывали покровным стеклом с канадским бальзамом.

Визуализацию изображений осуществляли с использованием светового микроскопа марки «OLYMPUSBX51» (Япония). Морфометрию срезов печени анализировали с помощью программы анализа изображений «ImageScopeColor» и «cellSensStandart» (Россия). С этой целью проводили микрофотосъемку случайных полей зрения гистологических препаратов цифровой камерой «OLYMPUSXCOLYMPUSXC-30» (Япония) на базе микроскопа «OLYMPUSBX51» (Япония) при увеличении окуляра SWH×10 и объективов UPLanFL ×200, ×400 (не менее 10 полей зрения в каждом гистологическом срезе). Определяли среднюю площадь гепатоцитов и их ядер в мкм^2 , а также вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Осуществляли подсчет двухъядерных гепатоцитов, производили расчет митотического индекса [9, 58, 98].

Гематологические методы

Реактивные приспособления морфологического и биохимического состава крови крыс к гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами изучали на крысах-самцах 2, 4, 6, 8 и 10 групп. Крысы, согласно групповой принадлежности, получали как описано в первом опыте растительные экстракты, а животные 2 группы – дистиллированную воду в течение 30-ти суток и параллельно с введением экстрактов, начиная с 30-х суток, масляный раствор тетрахлорметана в течение 6 суток. Морфологический и биохимический состав крови крыс анализировали на 30-е и 37-е сутки опыта.

При исследовании морфологического состава крови определяли: количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, содержание гемоглобина определяли в гемометре Сали, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – в аппарате Панченко. Подсчет клеток лейко-, граммы проводили в окрашенных по Романовскому – Гимзе мазках крови [4, 84].

На основе полученных данных об изменениях лейкоцитарной формулы у животных на фоне нагрузки растительными антиоксидантами и индуцированной гипероксидации производили расчет лейкоцитарных индексов:

- ИСНМ – индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов;
- ИСЛМ – индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов;
- ИСЛЭ – индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов;
- индекса Бредекка – соотношение лимфоцитов к палочкоядерным нейтрофилам;
- индекса Кребса – соотношение общего количества нейтрофилов к лимфоцитам [57, 47, 48, 60, 62].

Биохимические показатели периферической крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами при экспериментальной гипероксидации оценивали на 37-е сутки с помощью исследования таких параметров, как щелочная фосфатаза (ЩФ), амилаза, альбумин, общий белок, глюкоза, креатинин, мочевины, аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), билирубин общий, гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ).

Концентрацию АСТ, АЛТ, ГГТ, ЩФ, общего белка, общего билирубина определяли сухим способом на автоматическом ветеринарном биохимическом экспресс-анализаторе FUJI-DRI-CHEM 4000ie производства компании FUJI-FILM (Япония) производительностью 77 тестов в час с использованием диагностических слайд-систем «FUJIDRI-CHEM» (Япония).

Приготовление образцов сыворотки крови: 2,5–3,0 мл крови, взятой из полости левого желудочка крыс, помещали в пластиковые гепаринизированные пробирки и после многократного перемешивания и выдерживания в холодильнике при 4 °С в течение 1 часа центрифугировали при 1000g в течение 15 мин. Надосадочную жидкость сливали и с помощью микропипетки заливали 0,1 мл в специальный одноразовый пластиковый контейнер от биохимического анализатора.

Концентрацию амилазы, альбумина, креатинина и мочевины в сыворотке крови определили после разморозки на автоматическом биохимическом

анализаторе Sapphire 400 с использованием коммерческих наборов в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя.

Концентрацию глюкозы в крови крыс определяли с помощью глюкометра (Contour TS, Bayer).

Исследование гепатозащитного действия растительных экстрактов

Производили на крысах 1, 2, 4, 6, 8 и 10 групп. Крысы, согласно групповой принадлежности, получали как описано растительные экстракты, а животные 1 и 2 группы – дистиллированную воду в течение 30 суток и параллельно с введением экстрактов, начиная с 30-х суток, масляный раствор тетрахлорметана в течение 6-ти суток. На 37-е сутки опыта крыс выводили из эксперимента в соответствии с этическими нормами под эфирным наркозом методом декапитации, затем проводили извлечение печени. Из печени животных выделяли микросомальную фракцию с применением метода дифференциального центрифугирования [18]. В микросомальных фракциях печени экспериментальных групп животных определяли содержание микросомального белка [80] и цитохрома P450 [163], а также показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P450 – р-гидроксилирования анилина, N-деметилирования диметиланилина (ДМА) и скорости реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы (ГТФ), отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени [21].

Исследование репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени и плазме крови крыс

Исследование репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени и плазме крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации изучали на крысах 1, 2, 4, 6, 8 и 10 групп. Крысы, согласно групповой принадлежности, получали как описано выше растительные экстракты, а животные 1 и 2 группы – дистиллированную воду в течение 30-ти

суток и параллельно с введением экстрактов, начиная с 30-х суток, масляный раствор тетрахлорметана в течение 6-ти суток. На 37-е сутки опыта крыс выводили из эксперимента в соответствии с этическими нормами под эфирным наркозом методом декапитации, затем проводили извлечение печени. Образцы ткани печени погружали в 10 % нейтральный формалин на 24 часа при комнатной температуре. Подготовку образцов для гистологического исследования осуществляли с использованием автоматического процессора Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин [148]. Со срезов толщиной 3–4 мкм удаляли парафин, для этого стекла помещались последовательно в ксилол, в 100 % спирт и в растворы с постепенным снижением концентрации спирта до полностью водного раствора. Срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе Leica Application Suite (V4). Подсчет количества синусоидальных клеток осуществляли в единице площади в 20-ти полях зрения при увеличении микроскопа $\times 400$. Данный показатель позволяет охарактеризовать вклад синусоидальных клеток в регенерацию печени при токсическом повреждении. Для анализа содержания цитокинов в плазме крови экспериментальных животных производили забор периферической крови, центрифугировали при 3000 об/мин на холоде в течение 15 мин. Подготовка гомогената печени крыс включала гомогенизацию образцов, ресуспендирование с физиологическим раствором (0,85 % р-р хлорида натрия) и центрифугирование при 5000 об/ мин на холоде в течение 30 мин [6, 142]. Содержание цитокинов в плазме крови и гомогенатах печени крыс определяли методом иммуноферментного анализа с использованием прибора Lazurite Automated ELISA System. Для оценки уровня цитокинов в плазме крови использовали наборы для ИФА (иммуноферментный анализ) фирмы Thermo Scientific: Rat TNF-alpha Platinum ELISA BMS622 TWO/ BMS622TEN, Rat IL-6 ELISA Kit BMS625/ BMS625 TWO/BMS625 TEN, Rat IL-10 Platinum ELISA BMS629/BMS629 TEN, Rat IL-18 ELISA Kit KRC2341, а для гомогенатов печени, кроме вышеперечисленных, – Rat TGF- β 1 Platinum ELISA

BMS623/3/BMS623/3TEN, Rat IFN gamma Platinum ELISA BMS621 TWO/BMS621TEN, Rat IL-1 alpha Platinum ELISA BMS627/ BMS627TEN [6].

Статистические методы

Цифровой материал всех экспериментов подвергали статистической обработке с помощью пакета программ STATISTICA Application 10.0.1011.0. В работе использовались непараметрические методы анализа.

Проверку на соответствие нормальному распределению активности и концентраций ферментов проводили с использованием одновыборочного критерия Колмогорова – Смирнова.

С целью установления достоверности различий в изучаемых группах использовали критерий Манна – Уитни [25, 31, 96].

При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости 5 % ($p < 0,05$).

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Исследование перекисных и антиперекисных процессов в ткани печени крыс в норме, при нагрузке растительными антиоксидантами и модельной гипероксидации

Печень играет важную роль в обмене веществ и имеет отношение почти ко всем органам и системам организма. Одной из основных функций печени является барьерная, благодаря которой происходит обезвреживание различных токсических веществ, попадающих в организм. Гарантией возможности выполнения данной функции является структурная организация и функциональное состояние клеточных мембран, а также фосфолипидный состав клеточных мембран. Установлено, что все фосфолипиды в составе мембран выполняют определенные функции, среди которых обеспечение проницаемости мембраны, способность связывать и транспортировать ионы, стимулирование активности мембраносвязанных ферментов и участие в сопряжении электроно-транспортных процессов. В патогенезе нарушений функций печени важную роль играет чрезмерная продукция активных форм кислорода. В целом они необходимы для ряда таких физиологических процессов, как образование ферментов, функционирование иммунной системы организма и активация транскрипционных факторов, участвующих в экспрессии генов. Интенсивная продукция АФК стимулирует образование свободных радикалов, и вследствие прооксидантных воздействий, а также несостоятельности антиоксидантной защиты организма развивается гипероксидация, сопровождающийся повреждением фосфолипидов мембран и развитием ПОЛ. Известно, что окислительно-восстановительные процессы протекают в организме постоянно, являясь основой биохимического синтеза. Митохондриальный аппарат клеток успешно разлагает 95 % кислорода, поступающего в организм, до воды, а 5 % остаются в виде прооксидантов (свободные радикалы). При оптимальном функционировании организма и

нормальной активности антиоксидантной защиты свободные радикалы являются жизненно важным элементом метаболизма, так как регулируют состояние мембран, сосудов, участвуют в транспорте электронов в дыхательной цепи, инициируют процессы экспрессии генов и деление клеток, обладают микробицидным действием, активируют процессы белкового синтеза и т.д. Однако, экзо- и эндогенные неблагоприятные факторы среды усиливают процессы свободно-радикального окисления, инициируя повышенный синтез прооксидантов, которые дестабилизируют механизм антиоксидантной защиты, становясь патогенетическими агентами. В результате развивается гипероксидация, являющаяся одной из главных причин формирования многих патологических процессов в организме. Центральным защитным звеном от экспонентного роста свободных радикалов является система глутатиона, включающая в себя глутатион и ферменты его метаболизма: каталазу, глутатионредуктазу, глутатионтрансферазу, глутатионпероксидазу. Нарушения процесса синтеза глутатиона приводит к ряду патогенетических состояний. В частности, существует ряд теорий, связывающих гипероксидацию и заболевания печени. Так, накопление липидов в гепатоцитах нарушает работу митохондрий, стимулируя пероксисомальный и микросомальный пути оксидации при ожирении, а также провоцирует выделение воспалительных цитокинов и, следовательно, развитие воспаления и процессов фиброза.

3.2 Изучение перекисных и антиперекисных процессов в ткани печени здоровых половозрелых крыс и при внутрижелудочной нагрузке антиоксидантами

В ходе эксперимента оценивали такие компоненты системы ПОЛ-АО печени крыс, как концентрация малонового диальдегида, концентрация диеновых конъюгатов, активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансфераза здоровых половозрелых крыс, и крыс, подвергшихся дополнительной нагрузке природными антиоксидантами, в качестве которых были использованы экстракты

ежевики и пижмы обыкновенной, их смесь в соотношении 1:1 и масло расторопши. Также оценивалась масса печени животных.

Результаты оценки массы печени здоровых половозрелых крыс после 30 суток нагрузки антиоксидантами представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Масса печени здоровых крыс после 30 суток внутрижелудочной нагрузки природными антиоксидантами

Группа животных	Масса печени, г
Интактные (1 группа)	8,06 ± 0,22
Экстракт пижмы обыкновенной (3 группа)	8,15 ± 0,26
Экстракт ежевики (5 группа)	7,99 ± 0,29
Масло расторопши (7 группа)	8,02 ± 0,31
Смесь водных экстрактов ежевики и пижмы (9 группа)	8,18 ± 0,36

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии влияния внутрижелудочной нагрузки водными экстрактами ежевики и пижмы обыкновенной, их смесью и маслом расторопши на динамику массы печени крыс, так как масса органа в экспериментальных группах не отличалась от интактных животных.

В таблице 3 приведены результаты изучения ферментов системы ПОЛ-АО в тканях печени интактных крыс и крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки внутрижелудочно природные антиоксиданты.

Дополнительное поступление в организм экзогенных антиоксидантов в составе растительных экстрактов, способствует снижению интенсивности работы эндогенных антиоксидантных ферментов организма. Согласно представленным данным внутрижелудочная нагрузка в течение 30 суток экстрактом пижмы обыкновенной способствует снижению активности каталазы в тканях печени по сравнению с интактными животными на 9,6 % ($U = 225,600$, $Z = -2,698875$ при $p = 0,002237$), нагрузка экстрактом ежевики снижает активность фермента на 6,7 %, нагрузка экстрактом расторопши – снижает на 5,8 %, а нагрузка смесью экстрактов пижмы и ежевики – снижает на 14,2 % ($U = 168,900$, $Z = -3,655852$ при $p = 0,000196$).

Таблица 3 – Функциональные показатели ферментов ситсемы ПОЛ-АО в тканях печени крыс на фоне нагрузки природными антиоксидантами

Показатель, M ± m	Интактные	Экстракт пижмы обыкновенной	Экстракт ежевики	Экстракт расторопши	Смесь экстрактов ежевики и пижмы
Активность каталазы, мкат/л?	59,6 ± 1,91	53,9 ± 1,91 ¹	55,6 ± 2,11 ¹	56,1 ± 2,12	51,2 ± 1,77 ¹
Активность СОД, ус.единиц/мг белка печени	203,55 ± 7,33	172,69 ± 6,89 ¹	189,12 ± 6,37	180,91 ± 6,93 ¹	155,44 ± 5,52 ¹
Глутатион- пероксидаза, нмоль/мин на 1 мг белка	1375,21 ± 50,37	1158,67 ± 47,81 ¹	1233,12 ± 42,57 ¹	1105,67 ± 48,12 ¹	987,39 ± 29,47 ¹
Глутатионре- дуктаза, нмоль/мин на 1 мг белка	105,47 ± 3,58	94,11 ± 3,25 ¹	101,11 ± 3,79	105,17 ± 3,97	89,43 ± 3,34 ¹
МДА, нмоль/г	14,2 ± 0,49	13,6 ± 0,43	13,9 ± 0,45	13,7 ± 0,39	14,0 ± 0,41
ДК, нмоль/г	32,1 ± 0,99	31,4 ± 1,03	29,3 ± 1,12 ¹	30,4 ± 1,05	27,1 ± 0,93 ¹

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных.

Внутрижелудочная нагрузка в течение 30 суток экстрактом пижмы способствует снижению активности СОД в тканях печени по сравнению с интактными животными на 15,2 % ($U = 206,700$, $Z = -3,452254$ при $p = 0,0000$), нагрузка экстрактом ежевики снижает активность СОД на 7,1 %, нагрузка экстрактом расторопши – на 11,1 % ($U = 197,000$, $Z = -4,454474$ при $p = 0,0021$), а нагрузка смесью экстрактов – на 23,6 % ($U = 176,9000$, $Z = -3,121141$ при $p = 0,002455$).

Внутрижелудочная нагрузка экстрактом пижмы способствует снижению активности ГП в тканях печени по сравнению с интактными животными на 15,7 % ($U = 187,400$, $Z = -3,687774$ при $p = 0,0012$), нагрузка экстрактом ежевики снижает активность ГП на 10,3 % ($U = 117,800$, $Z = -2,722511$ при $p = 0,0$), нагрузка экстрактом расторопши – снижает на 19,6 % ($U = 205,100$, $Z = -4,733251$ при

$p = 0,003411$), а нагрузка смесью экстрактов – на 28,2 % ($U = 163,0000$, $Z = -3,874774$ при $p = 0,004714$).

Внутрижелудочная нагрузка в течение 30 суток экстрактом пижмы способствует снижению активности ГР в тканях печени по сравнению с интактными животными на 10,8 % ($U = 162,000$, $Z = -5,122141$ при $p = 0,0145$), нагрузка экстрактом ежевики снижает активность ГР на 4,1 %, нагрузка экстрактом расторопши не оказывает влияния на активность ГР в тканях печени, а нагрузка смесью экстрактов снижает активность ГР на 15,3 % ($U = 187,3000$, $Z = -4,244541$ при $p = 0,004112$).

Установлено, что внутрижелудочная нагрузка в течение 30 суток природными антиоксидантами не оказывает влияние на концентрацию МДА в тканях печени крыс экспериментальных групп.

Внутрижелудочная нагрузка в течение 30 суток экстрактом пижмы способствует снижению концентрации ДК в тканях печени по сравнению с интактными животными на 2,2 %, нагрузка экстрактом ежевики снижает концентрацию ДК на 8,7 % ($U = 101,000$, $Z = -2,632271$ при $p = 0,0$), нагрузка экстрактом расторопши – на 5,3 %, а нагрузка смесью экстрактов снижает концентрацию ДК на 15,6 % ($U = 155,0000$, $Z = -3,284471$ при $p = 0,003111$).

В нашем исследовании установлено снижение активности антиоксидантных ферментов в тканях печени крыс на фоне внутрижелудочной нагрузки экстрактами природных антиоксидантов, на концентрацию конечных метаболитов гипероксидации эта нагрузка влияния не оказала, но при этом концентрация промежуточных продуктов окисления при нагрузке смесью природных экстрактов была достоверно ниже по сравнению с контролем. Антиоксиданты, в составе растительных экстрактов, могут оказывать свое действие на разных стадиях перекисного окисления липидов: ингибировать начальную стадию процесса ПОЛ, то есть отделение аллильного атома водорода от α -метиленового углеродного атома; ингибировать образование гидропероксидов, то есть предотвращать цепную реакцию ПОЛ; расщеплять образующиеся гидропероксиды, не образуя радикалы; действовать как вещества, формирующие хелаты с металлами; удалять свободные радикалы (нейтрализующая активность). Дополнительная нагрузка крыс природными

антиоксидантами в виде экстрактов способствует снижению активности антиоксидантных ферментов за счет их интенсивного включения в различные стадии перекисного окисления липидов.

3.3 Реактивные изменения перекисных и антиперекисных процессов в ткани печени крыс при внутрижелудочной нагрузке антиоксидантами на фоне экспериментальной гипероксидации

В ходе эксперимента оценивали изменения массы печени подопытных животных, получавших природные антиоксиданты в течение 30 суток с последующим параллельным введением тетрахлорметана в дозе 2 г/кг массы тела животного в виде 50 % масляного раствора в течение 6 дней в сравнении с интактными животными и животными в состоянии гипероксидации без дополнительной нагрузки антиоксидантами (таблица 4).

Таблица 4 – Масса печени крыс при внутрижелудочной нагрузке антиоксидантами с индуцированной гипероксидацией

Группа животных	Масса печени, г
Интактные (1 группа)	8,03 ± 0,25
Контроль + CCl ₄ (2 группа)	13,95 ± 0,51 ¹
Экстракт пижмы обыкновенной + CCl ₄ (4 группа)	10,77 ± 0,34 ^{1, 2}
Экстракт ежевики + CCl ₄ (6 группа)	11,55 ± 0,39 ^{1, 2}
Экстракт расторопши + CCl ₄ (8 группа)	12,01 ± 0,44 ^{1, 2}
Смесь экстрактов пижмы и ежевики + CCl ₄ (10 группа)	9,75 ± 0,37 ^{1, 2}

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных; ² – по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

В контрольной группе животных с моделированием гипероксидации в течение шестидневного введения четыреххлористого углерода установлено увеличение массы печени относительно интактных животных на 73,72 % ($U = 136,4000$, $Z = -3,433232$ при $p = 0,004008$), а в группах крыс, получавших в

течение 30 суток экстракты пижмы, ежевики и расторопши, а также смесь экстрактов пижмы и расторопши и в течение 6 суток CCl_4 параллельно с антиоксидантами, масса печени увеличилась на 34,1 % ($U = 123,6000$, $Z = -3,878676$ при $p = 0,002212$), 43,8 % ($U = 109,0000$, $Z = -3,545655$ при $p = 0,003676$), 49,6 % ($U = 198,8000$, $Z = -2,678760$ при $p = 0,003443$) и 21,4 % ($U = 109,5000$, $Z = -3,765650$ при $p = 0,0035434$) соответственно по сравнению с интактными животными.

Следует отметить, что масса печени крыс, получавших природные антиоксиданты, достоверно отличалась от массы печени крыс контрольной группы с индуцированной гипероксидацией. Так, масса печени крыс, получавших водный экстракт пижмы была меньше на 22,8 % ($U = 199,7000$, $Z = -3,134434$ при $p = 0,00000$) по сравнению с показателями животных контрольной группы; масса печени крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 17,2 % ($U = 156,9000$, $Z = -2,899988$ при $p = 0,004788$); получавших экстракт расторопши – меньше на 13,9 % ($U = 176,6000$, $Z = -3,987767$ при $p = 0,000000$), а животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 30,1 % ($U = 107,8000$, $Z = -4,566656$ при $p = 0,002889$).

Результаты изучения реактивных изменений системы ПОЛ-АО печени крыс на 7-й день после шестидневного внутримышечного введения CCl_4 при внутрижелудочной нагрузке растительными антиоксидантами в течение 36 суток представлены в таблице 5.

Активность каталазы в тканях печени крыс контрольной группы при моделировании гипероксидации снизилась по сравнению с интактными животными на 41,4 % ($U = 189,0000$, $Z = -3,344454$, при $p = 0,004332$). В тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, на фоне гипероксидации активность каталазы снизилась на 21,6 % ($U = 145,0000$, $Z = -2,788879$ при $p = 0,003889$); в группе крыс, получавших экстракт ежевики, – снизилась на 29,6 % ($U = 176,9000$, $Z = -3,122123$ при $p = 0,003433$); в группе крыс, получавших экстракт расторопши, – на 27,5 % ($U = 198,7000$, $Z = -2,756656$ при $p = 0,004222$), а в группе животных, получавших смесь растительных экстрактов, – снизилась на 15,9 % ($U = 119,8000$, $Z = -3,765650$ при $p = 0,003543$) по сравнению с животными контрольной группы с гипероксидацией.

Таблица 5 – Функциональные показатели ферментов ситсемы ПОЛ-АО в тканях печени при экспериментальной гипероксидации на фоне нагрузки антиоксидантами

Группы животных	Показатели, М ± m					
	Активность каталазы, мкат/л	Активность СОД, ус.единиц/мг белка печени	Глутатионпероксидаза, нмоль/мин на 1 мг белка	Глутатионредуктаза, нмоль/мин на 1 мг белка	МДА, нмоль/г	ДК, нмоль/г
Интактные	59,6 ± 1,91	200,40 ± 7,02	1325,70 ± 47,73	104,35 ± 3,34	14,1 ± 0,45	31,3 ± 1,12
Контроль + ССl ₄	34,9 ± 1,11 ¹	153,1 ± 5,51 ¹	834,30 ± 26,69 ¹	71,20 ± 2,27 ¹	20,5 ± 0,72 ¹	51,4 ± 1,64 ¹
Экстракт пижмы обыкновенной + ССl ₄	46,7 ± 1,67 ^{1,2}	169,4 ± 6,27 ^{1,2}	1089,40 ± 37,03 ^{1,2}	90,10 ± 3,24 ^{1,2}	17,8 ± 0,63 ^{1,2}	46,1 ± 1,32 ^{1,2}
Экстракт ежевики + ССl ₄	41,9 ± 1,51 ^{1,2}	164,1 ± 5,91 ^{1,2}	994,20 ± 34,79 ^{1,2}	88,40 ± 2,83 ^{1,2}	18,0 ± 0,66 ^{1,2}	47,8 ± 1,25 ^{1,2}
Экстракт расторопши + ССl ₄	43,2 ± 1,59 ^{1,2}	162,2 ± 6,16 ^{1,2}	1048,26 ± 33,54 ^{1,2}	85,30 ± 3,16 ^{1,2}	17,2 ± 0,55 ^{1,2}	45,4 ± 1,57 ^{1,2}
Смесь экстрактов пижмы и ежевики + ССl ₄	50,1 ± 1,70 ^{1,2}	174,5 ± 6,11 ^{1,2}	1197,30 ± 43,10 ^{1,2}	94,10 ± 3,01 ^{1,2}	15,8 ± 0,58 ^{1,2}	42,3 ± 1,46 ^{1,2}

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных; ² – по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

При этом активность каталазы в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, несмотря на индуцированную гипероксидацию была достоверно выше, чем у крыс контрольной группы с моделированием гипероксидации. Так, активность каталазы в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, была больше на 33,8 % ($U = 111,6000$, $Z = -3,222224$ при $p = 0,003111$) по сравнению с показателями животных контрольной группы с индуцированной гипероксидацией; активность каталазы в тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики, была больше на 20,0 % ($U = 136,8000$, $Z = -2,223422$ при $p = 0,004788$), у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 19,2 % ($U = 161,0000$, $Z = -3,996761$ при $p = 0,003222$), а животных, получавших смесь экстрактов – больше на 43,6 % ($U = 117,1000$, $Z = -4,232230$ при $p = 0,0028111$).

Активность СОД в тканях печени крыс контрольной группы при моделировании гипероксидации снизилась по сравнению с интактными животными на 23,6 % ($U = 185,0000$, $Z = -4,00988$ при $p = 0,004333$). В тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы обыкновенной, на фоне гипероксидации активность СОД снизилась на 15,5 % ($U = 95,8000$, $Z = -3,655565$ при $p = 0,003221$); в группе крыс, получавших экстракт ежевики, – снизилась на 22,1 % ($U = 139,9000$, $Z = -3,877677$ при $p = 0,003243$); в группе крыс, получавших экстракт расторопши, – на 19,1 % ($U = 185,3000$, $Z = -3,766541$ при $p = 0,004221$), а в группе животных, получавших смесь растительных экстрактов, – снизилась на 12,9 % ($U = 128,8000$, $Z = -2,987787$ при $p = 0,000981$) по сравнению с животными контрольной группы с индуцированной гипероксидацией. Также активность СОД в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, несмотря на индуцированную гипероксидацию, была достоверно выше, чем у крыс контрольной группы с моделированием гипероксидации. Так, активность СОД в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы была больше на 10,6 % ($U = 105,5000$, $Z = -3,877988$ при $p = 0,000007$) по сравнению с показателями животных контрольной группы с индуцированной гипероксидацией; активность СОД в тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики, была больше на 7,2 % ($U = 163,5000$, $Z = -2,677783$ при $p = 0,000540$); у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 5,9 % ($U = 169,2000$, $Z = -3,322121$ при $p = 0,000000$); а у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 13,9 % ($U = 183,6000$, $Z = -4,877767$ при $p = 0,000045$).

Активность ГП в тканях печени крыс контрольной группы при моделировании гипероксидации снизилась по сравнению с интактными животными на 37,1 % ($U = 147,9000$, $Z = -3,133231$ при $p = 0,000032$). В тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, на фоне гипероксидации активность ГП снизилась на 17,8 % ($U = 162,4000$, $Z = -3,555651$ при $p = 0,000366$); в группе крыс, получавших экстракт ежевики, – снизилась на 25,0 % ($U = 171,1000$, $Z = -2,799091$ при $p = 0,000245$); в группе крыс, получавших экстракт расторопши, – на 20,9 % ($U = 98,9000$, $Z = -5,134323$ при $p = 0,000443$), а в группе животных, получавших

смесь растительных экстрактов, – снизилась на 9,7 % ($U = 191,8000$, $Z = -3,131121$ при $p = 0,000566$) по сравнению с животными контрольной группы с индуцированной гипероксидацией. Следует отметить, что активность ГП в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, несмотря на индуцированную гипероксидацию, была достоверно выше, чем у крыс контрольной группы с моделированием гипероксидации. Так, активность ГП в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы обыкновенной, была больше на 30,6 % ($U = 95,9000$, $Z = -3,655454$ при $p = 0,000112$) по сравнению с показателями животных контрольной группы с индуцированной гипероксидацией; активность ГП в тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики, была больше на 19,2 % ($U = 169,7000$, $Z = -2,911219$ при $p = 0,000675$); у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 25,6 % ($U = 183,4000$, $Z = -3,443476$ при $p = 0,000000$); а животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 43,5 % ($U = 191,9000$, $Z = -4,588571$ при $p = 0,000177$).

Активность ГР в тканях печени крыс контрольной группы при моделировании гипероксидации снизилась по сравнению с интактными животными на 31,8 % ($U = 122,2000$, $Z = -2,222327$ при $p = 0,000198$). В тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, на фоне гипероксидации активность ГР снизилась на 13,7 % ($U = 98,8000$, $Z = -4,768870$ при $p = 0,000871$); в группе крыс, получавших экстракт ежевики, – снизилась на 15,2 % ($U = 126,7000$, $Z = -2,696658$ при $p = 0,002365$); в группе крыс, получавших экстракт расторопши, – на 18,3 % ($U = 138,4000$, $Z = -3,647747$ при $p = 0,000632$), а в группе животных, получавших смесь растительных экстрактов, – снизилась на 9,8 % ($U = 176,7000$, $Z = -3,422423$ при $p = 0,000447$) по сравнению с животными контрольной группы с индуцированной гипероксидацией. Следует отметить, что активность ГР в тканях печени крыс, получавших природные антиоксиданты, несмотря на индуцированную гипероксидацию, была достоверно выше, чем у крыс контрольной группы с моделированием гипероксидации. Так, активность ГР в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, была больше на 26,5 % ($U = 113,5000$, $Z = -3,366221$ при $p = 0,000009$) по сравнению с показателями

животных контрольной группы с индуцированной гипероксидацией; активность ГР в тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики, была больше на 24,2 % ($U = 147,7000$, $Z = -2,699551$ при $p = 0,002331$); у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 19,8 % ($U = 211,9000$, $Z = -2,677441$ при $p = 0,000116$), а у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 32,2 % ($U = 108,5000$, $Z = -3,233536$ при $p = 0,001152$).

Концентрация МДА в тканях печени крыс контрольной группы при моделировании гипероксидации возросла по сравнению с интактными животными на 45,4 % ($U = 96,30000$, $Z = -2,488574$ при $p = 0,003341$). В тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, на фоне гипероксидации концентрации МДА повысилась на 26,2 % ($U = 161,8000$, $Z = -4,633981$ при $p = 0,000113$); в группе крыс, получавших экстракт ежевики, – повысилась на 27,7 % ($U = 154,2000$, $Z = -3,724421$ при $p = 0,002447$); в группе крыс, получавших экстракт расторопши, – на 21,9 % ($U = 137,5000$, $Z = -3,278854$ при $p = 0,000000$); а в группе животных, получавших смесь растительных экстрактов, – повысилась на 12,1 % ($U = 178,6000$, $Z = -2,658858$ при $p = 0,006331$) по сравнению с животными контрольной группы с индуцированной гипероксидацией. При этом концентрация МДА в тканях печени крыс, получавших природные антиоксиданты, несмотря на индуцированную гипероксидацию, была достоверно ниже, чем у крыс контрольной группы с моделированием гипероксидации. Так, концентрация МДА в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы обыкновенной, была меньше на 13,2 % ($U = 103,4000$, $Z = -2,377477$ при $p = 0,000522$) по сравнению с показателями животных контрольной группы с индуцированной гипероксидацией; концентрация МДА в тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики, была меньше на 12,2 % ($U = 135,60000$, $Z = -4,147747$ при $p = 0,002221$); у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 16,1 % ($U = 168,2000$, $Z = -2,999691$ при $p = 0,002441$); а у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 22,9 % ($U = 114,6000$, $Z = -3,333541$ при $p = 0,003323$).

Концентрация ДК в тканях печени крыс контрольной группы при моделировании гипероксидации возросла по сравнению с интактными животными на

64,2 % ($U = 142,6000$, $Z = -2,322414$ при $p = 0,000004$). В тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, на фоне гипероксидации концентрация ДК повысилась на 47,3 % ($U = 102,7000$, $Z = -2,746657$ при $p = 0,003485$); в группе крыс, получавших экстракт ежевики, – повысилась на 52,7 % ($U = 122,6000$, $Z = -3,855214$ при $p = 0,003741$); в группе крыс, получавших экстракт расторопши, – на 45,0 % ($U = 151,6000$, $Z = -4,544712$ при $p = 0,000171$); а в группе животных, получавших смесь растительных экстрактов, – повысилась на 35,1 % ($U = 167,1000$, $Z = -2,688771$ при $p = 0,000000$) по сравнению с животными контрольной группы с индуцированной гипероксидацией. При этом концентрация ДК в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, несмотря на индуцированную гипероксидацию, была достоверно ниже, чем у крыс контрольной группы с моделированием гипероксидации. Так, концентрация ДК в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы, была меньше на 10,3 % ($U = 119,7000$, $Z = -3,366851$ при $p = 0,001774$) по сравнению с показателями животных контрольной группы с индуцированной гипероксидацией; концентрация ДК в тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики, была меньше на 7,00 % ($U = 142,3000$, $Z = -4,277651$ при $p = 0,000005$); у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 11,7 % ($U = 101,8000$, $Z = -2,623335$ при $p = 0,000041$); а у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 17,7 % ($U = 184,2000$, $Z = -3,785411$ при $p = 0,000000$).

Таким образом, по результатам эксперимента установлено, что экстракты пижмы обыкновенной, ежевики, их смесь и экстракт расторопши весьма эффективны в защите организма от избыточной активации ответа на стрессорное воздействие тетрахлорметаном, приводящего к повреждающим эффектам. Развитие гипероксидации в результате токсического воздействия на печень приводит к ухудшению работы энзиматических и неэнзиматических эндогенных антиоксидантов и интенсифицирует окислительные процессы в организме, но введение экзогенных природных антиоксидантов в составе растительных экстрактов, способствует восстановлению нарушенного гомеостаза, и наилучшей эффективностью характеризуется смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1.

3.4 Коэффициенты окислительного стресса как способ интегральной оценки окислительно-восстановительного гомеостаза в норме, при нагрузке растительными антиоксидантами и при моделировании гипероксидации

Для интегральной оценки состояния окислительно-восстановительного гомеостаза в тканях печени крыс в норме, при дополнительной внутрижелудочной нагрузке экстрактами пижмы обыкновенной, ежевики, их смеси в соотношении 1:1 и экстрактом расторопши и при моделировании гипероксидации с помощью тетрахлорметана на фоне нагрузки растительными антиоксидантами было решено провести расчет коэффициентов окислительного стресса, так как выбор одного маркера не всегда однозначен и может не отражать суть происходящих процессов в организме.

Коэффициент, выражающий отношение активности каталазы к активности СОД, отражает дисбаланс работы антиоксидантной системы организма и является интегральным показателем функционирования ферментов антирадикальной защиты (рисунок 2).

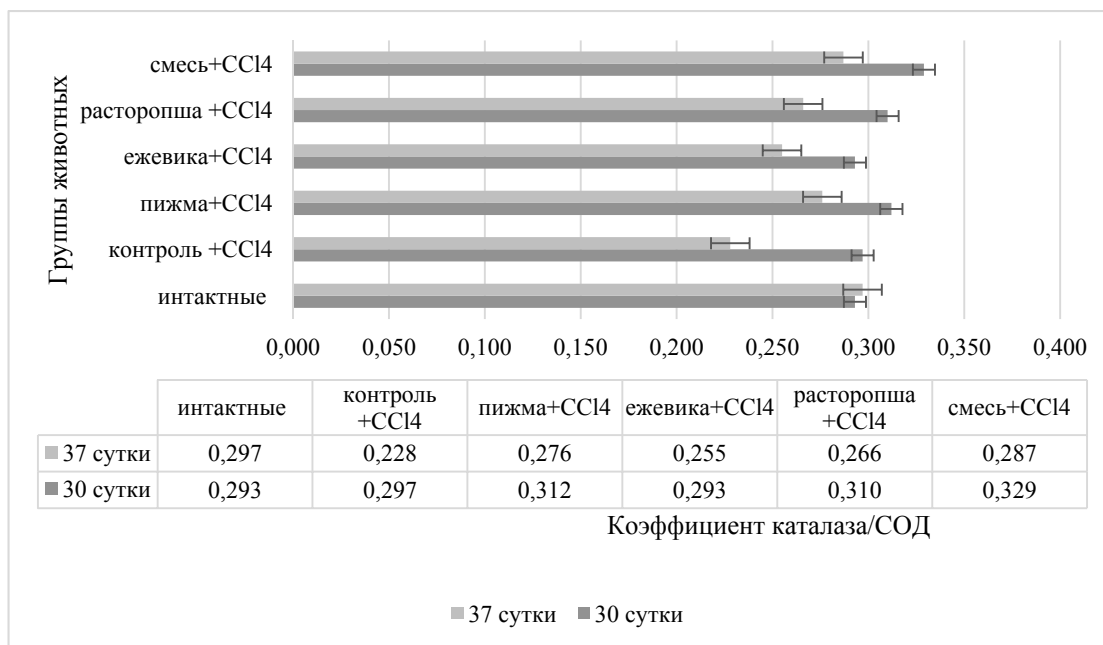


Рисунок 2 – Динамика коэффициента каталаза/СОД в тканях печени крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и на фоне экспериментальной гипероксидации.

В тканях печени интактных крыс в течение опыта отмечено незначительное колебание значения коэффициента каталаза/СОД. У животных контрольной группы при моделировании гипероксидации установлено значительное снижение коэффициента каталаза/СОД в тканях печени на 23,2 % ($U = 104,6000$, $Z = -2,547681$ при $p = 0,000142$) по сравнению с исходным значением и снижение на 22,2 % ($U = 138,5000$, $Z = -2,996881$ при $p = 0,004225$) по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт пижмы обыкновенной, коэффициент каталаза/СОД до инициации гипероксидации был выше на 6,5 % от показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта пижмы обыкновенной, коэффициент каталаза/СОД снизился на 11,5 % ($U = 116,0000$, $Z = -2,374774$ при $p = 0,004117$) от исходного значения и на 5,8 % по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 21,0 % ($U = 189,9000$, $Z = -3,669333$ при $p = 0,000000$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт ежевики, коэффициент каталаза/СОД до инициации гипероксидации был сопоставим с показателями интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта ежевики, коэффициент каталаза/СОД снизился на 13,0 % ($U = 109,7000$, $Z = -2,988588$ при $p = 0,004111$) от исходного значения и на 14,1 % ($U = 128,5000$, $Z = -3,9333621$ при $p = 0,0$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 11,8 % ($U = 97,6000$, $Z = -3,377464$ при $p = 0,000114$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт расторопши, коэффициент каталаза/СОД до инициации гипероксидации был выше на 5,8 % по сравнению с показателями интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта расторопши, коэффициент каталаза/СОД снизился на 14,1 % ($U = 116,8000$, $Z = -4,263352$ при $p = 0,000013$) от

исходного значения и на 9,2 % ($U = 137,0000$, $Z = -2,362225$ при $p = 0,0$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 16,6 % ($U = 97,6000$, $Z = -3,377464$ при $p = 0,000114$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1, коэффициент каталаза/СОД до инициации гипероксидации был выше на 12,3 % ($U = 151,8000$, $Z = -4,822141$ при $p = 0,000221$) от показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и смеси экстрактов, коэффициент каталаза/СОД снизился на 12,8 % ($U = 131,3000$, $Z = -2,822514$ при $p = 0,0$) от исходного значения, оказался практически равным показателям интактных животных и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 25,8 % ($U = 107,6000$, $Z = -2,122511$ при $p = 0,000195$).

Соотношение активности каталазы к концентрации МДА является антиоксидантно-прооксидантным индексом и отражает дисбаланс в равновесии окислительно-восстановительных процессов (рисунок 3).

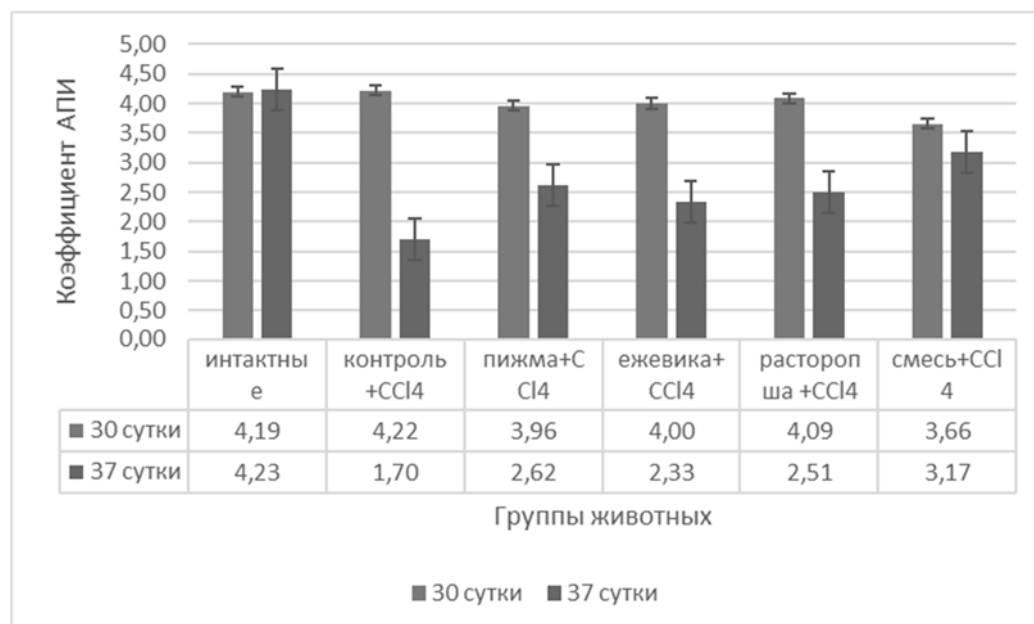


Рисунок 3 – Динамика коэффициента АПИ в тканях печени крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и на фоне экспериментальной гипероксидации.

В тканях печени интактных крыс в течение опыта отмечено незначительное колебание значения коэффициента АПИ. У животных контрольной группы при моделировании гипероксидации установлено значительное снижение коэффициента АПИ в тканях печени на 59,7 % ($U = 157,4000$, $Z = -2,444541$ при $p = 0,000013$) по сравнению с исходным значением и снижение на 59,8 % ($U = 175,9000$, $Z = -3,688771$ при $p = 0,003788$) по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт пижмы, коэффициент АПИ до инициации гипероксидации был меньше на 5,5 % по сравнению с интактными крысами, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта пижмы, коэффициент АПИ снизился на 33,8 % ($U = 196,1000$, $Z = -2,589932$ при $p = 0,003558$) от исходного значения и на 38,1 % ($U = 141,6000$, $Z = -3,365885$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 54,1 % ($U = 141,6000$, $Z = -4,178847$ при $p = 0,004112$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт ежевики, коэффициент АПИ до инициации гипероксидации был незначительно ниже (4,5 %) показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта ежевики, коэффициент АПИ снизился на 41,8 % ($U = 146,6000$, $Z = -2,614471$ при $p = 0,000278$) от исходного значения и на 44,9 % ($U = 121,6000$, $Z = -4,366911$ при $p = 0,003774$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 37,1 % ($U = 152,5000$, $Z = -2,277631$ при $p = 0,000011$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт расторопши, коэффициент АПИ до инициации гипероксидации был сопоставим с показателями интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта расторопши, коэффициент АПИ снизился на 38,6 % ($U = 103,8000$, $Z = -4,366851$ при $p = 0,003784$) от исходного значения и на 40,7 % ($U = 91,5000$,

$Z = -3,156658$ при $p = 0,000333$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 47,6 % ($U = 174,5000$, $Z = -3,855861$ при $p = 0,000000$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1, коэффициент АПИ до инициации гипероксидации был ниже на 12,6 % ($U = 117,1000$, $Z = -4,152214$ при $p = 0,0$) показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и смеси экстрактов, коэффициент АПИ снизился на 13,4 % ($U = 131,7000$, $Z = -3,448511$ при $p = 0,000374$) от исходного значения и на 25,1 % ($U = 176,4000$, $Z = -2,233521$ при $p = 0,004227$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 86,5 % ($U = 108,2000$, $Z = -2,978771$ при $p = 0,000017$). Очевидно, что чем ниже АПИ, тем интенсивнее протекают окислительные процессы в организме.

Коэффициент отношения концентрации МДК к концентрации ДК позволяет судить об общей направленности и интенсивности свободно-радикальных процессов и характеризует функциональное состояние антиоксидантной системы организма (рисунок 4).

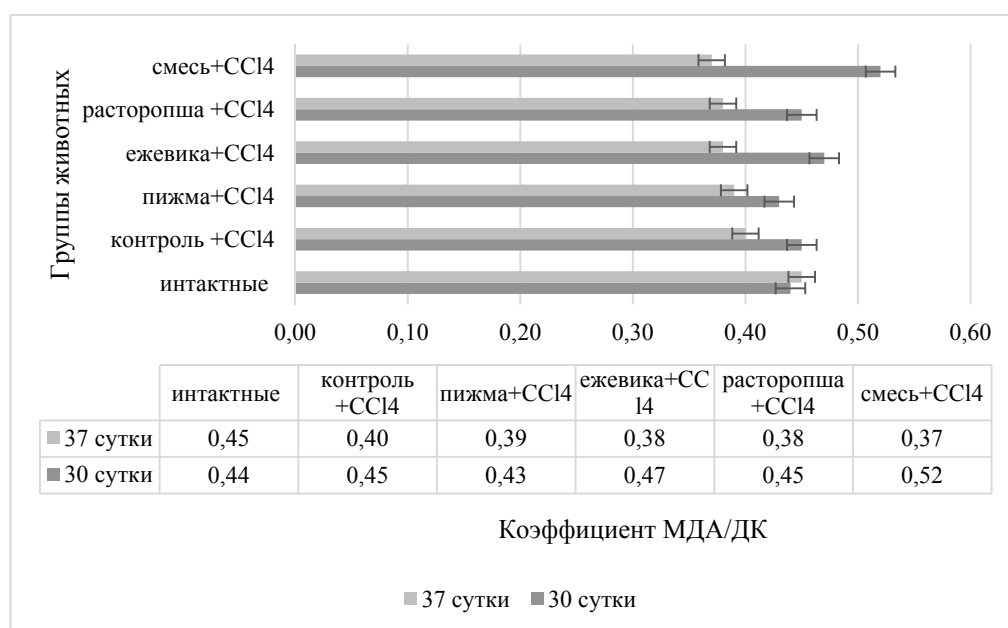


Рисунок 4 – Динамика коэффициента МДА/ДК в тканях печени крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и на фоне экспериментальной гипероксидации.

В тканях печени интактных крыс в течение опыта отмечено незначительное колебание значения коэффициента МДА/ДК. У животных контрольной группы при моделировании гипероксидации установлено значительное снижение коэффициента МДА/ДК в тканях печени на 11,1 % ($U = 149,8000$, $Z = -2,347712$ при $p = 0,000222$) по сравнению с исходным значением и по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт пижмы обыкновенной, коэффициент МДА/ДК до инициации гипероксидации почти не отличался от показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта пижмы, коэффициент МДА/ДК снизился на 9,3 % ($U = 143,2000$, $Z = -4,586621$, при $p = 0,004252$) от исходного значения и на 13,3 % ($U = 143,8000$, $Z = -3,682214$ при $p = 0,003774$) по сравнению с интактными животными и при этом был незначительно ниже, чем у животных контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт ежевики, коэффициент МДА/ДК до инициации гипероксидации был незначительно выше (на 6,8 %) показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта ежевики, коэффициент МДА/ДК снизился на 19,1 % ($U = 169,6000$, $Z = -4,344861$ при $p = 0,000013$) от исходного значения и был ниже на 15,6 % ($U = 104,8000$, $Z = -2,896321$ при $p = 0,000487$) по сравнению с интактными животными и при этом почти соответствовал показателям животных контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток расторопши, коэффициент МДА/ДК до инициации гипероксидации был незначительно выше показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта расторопши, коэффициент МДА/ДК снизился на 15,6 % ($U = 137,5000$, $Z = -2,322521$ при $p = 0,004112$) от исходного значения и на 15,6 % ($U = 174,6000$, $Z = -3,398777$ при $p = 0,004116$) по сравнению с интактными животными и при этом

был ниже, чем у животных контрольной группы на 5,0 %. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток смесь растительных экстрактов, коэффициент МДА/ДК до инициации гипероксидации был выше показателей интактных животных на 18,2 % ($U = 134,7000$, $Z = -2,327114$ при $p = 0,0$), а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и смеси экстрактов, коэффициент МДА/ДК снизился на 28,8 % ($U = 108,4000$, $Z = -4,689958$ при $p = 0,000000$) от исходного значения и на 17,8 % ($U = 173,2000$, $Z = -3,789985$ при $p = 0,000417$) по сравнению с интактными животными и при этом был ниже, чем у животных контрольной группы на 7,5 % ($U = 166,1000$, $Z = -4,522811$ при $p = 0,0$).

Локальный антиоксидантный индекс представляет собой отношение произведения активностей каталазы и СОД к концентрации МДА и отражает состояние антиоксидантной системы (рисунок 5).

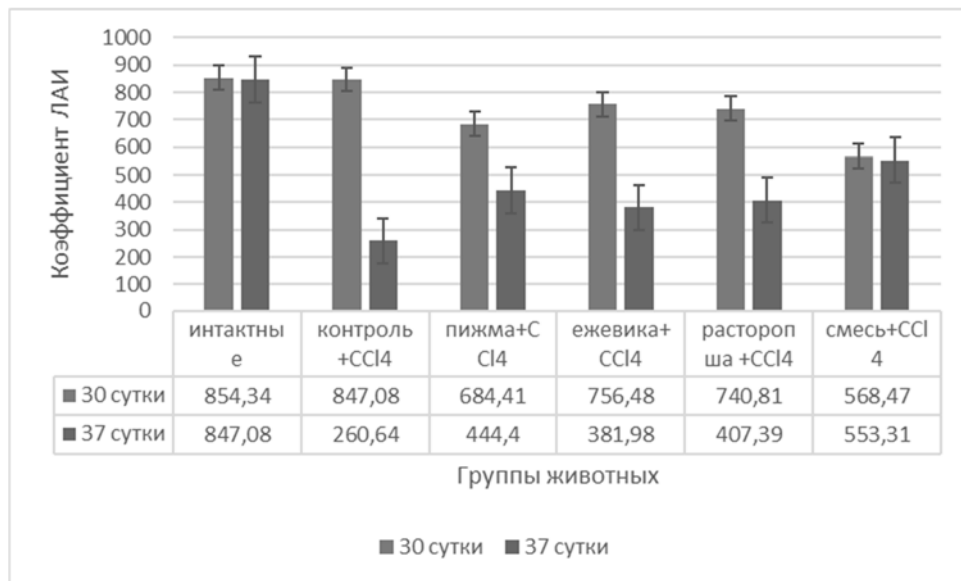


Рисунок 5 – Динамика коэффициента ЛАИ в тканях печени крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и на фоне экспериментальной гипероксидации.

В тканях печени интактных крыс в течение опыта отмечено незначительное снижение значения коэффициента ЛАИ. У животных контрольной группы при

моделировании гипероксидации на 37-е сутки опыта установлено снижение коэффициента ЛАИ в тканях печени на 69,2 % ($U = 108,9000$, $Z = -2,354471$ при $p = 0,000114$) по сравнению с исходным значением и по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт пижмы обыкновенной, коэффициент ЛАИ до инициации гипероксидации был на 19,8 % ($U = 163,4000$, $Z = -4,633281$ при $p = 0,000185$) ниже показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта пижмы, коэффициент ЛАИ снизился на 35,1 % ($U = 155,9000$, $Z = -2,598771$ при $p = 0,000000$) от исходного значения и на 47,5 % ($U = 98,1000$, $Z = -2,222212$ при $p = 0,000002$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 70,5 % ($U = 116,6000$, $Z = -3,147214$ при $p = 0,0000432$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт ежевики, коэффициент ЛАИ до инициации гипероксидации был ниже на 11,5 % ($U = 163,2000$, $Z = -4,589521$ при $p = 0,000009$) показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта ежевики, коэффициент ЛАИ снизился на 49,5 % ($U = 107,6000$, $Z = -2,147547$ при $p = 0,000000$) от исходного значения и был ниже на 54,9 % ($U = 108,1000$, $Z = -3,622141$ при $p = 0,000114$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 46,6 % ($U = 101,9000$, $Z = -2,789587$ при $p = 0,000000$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт расторопши, коэффициент ЛАИ до инициации гипероксидации был ниже на 13,3 % ($U = 115,6000$, $Z = -3,822471$ при $p = 0,000111$) показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта расторопши, коэффициент ЛАИ снизился на 45,0 % ($U = 108,2000$, $Z = -3,247114$ при $p = 0,000119$) от исходного значения и на 51,9 % ($U = 171,5000$, $Z = -2,688771$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше,

чем у животных контрольной группы на 56,3 % ($U = 107,8000$, $Z = -3,241775$ при $p = 0,000174$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток смесь экстрактов пижмы лекарственной и ежевики, коэффициент ЛАИ до инициации гипероксидации был ниже на 33,5 % ($U = 118,4000$, $Z = -2,263321$ при $p = 0,000012$) показателей интактных животных, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и смеси экстрактов, коэффициент ЛАИ остался почти неизменным (стал меньше на 2,7 % от исходного значения) и снизился на 34,7 % ($U = 181,6000$, $Z = -3,277484$ при $p = 0,000016$) по сравнению с интактными животными и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 112,3 % ($U = 105,7000$, $Z = -2,285547$ при $p = 0,000114$).

Общий антиоксидантный индекс представляет собой разность двух частных индексов – индекса перекисного окисления липидов ($АОИ_{ПОЛ}$) и индекса ферментной антиоксидантной защиты ($АОИ_{ферм}$) (рисунок 6):

$$АОИ_{общ} = АОИ_{ПОЛ} - АОИ_{ферм}.$$

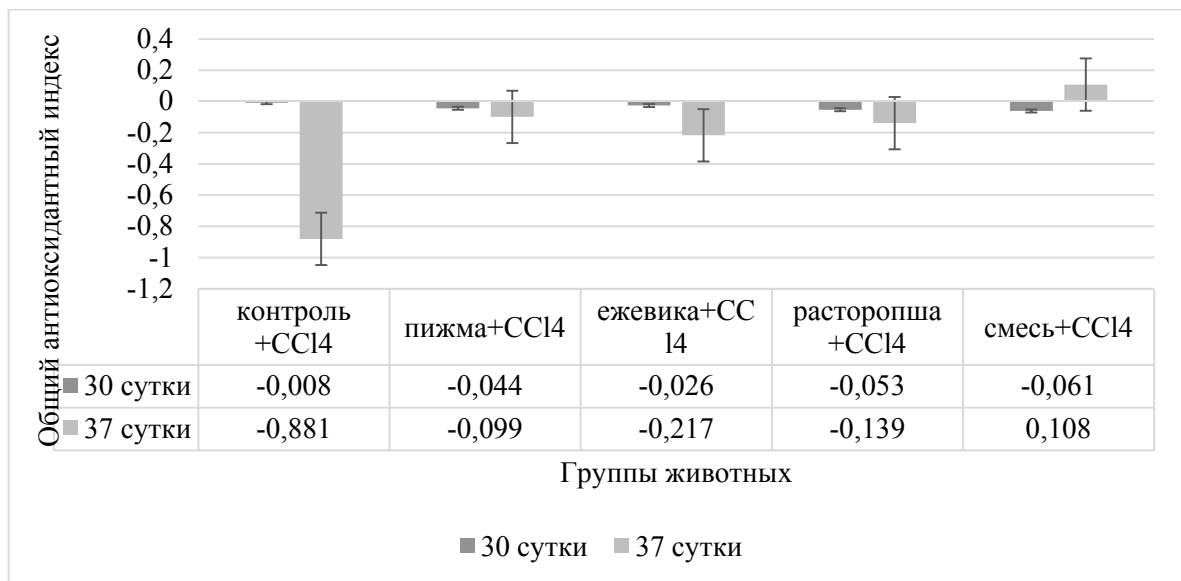


Рисунок 6 – Динамика $АОИ_{общ}$ в тканях печени крыс в норме, при нагрузке растительными экстрактами и на фоне экспериментальной гипероксидации.

Общий антиоксидантный индекс в тканях печени крыс контрольной группы до инициации гипероксидации был близок к нулю и к 37 суткам снизился в 110 раз. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в

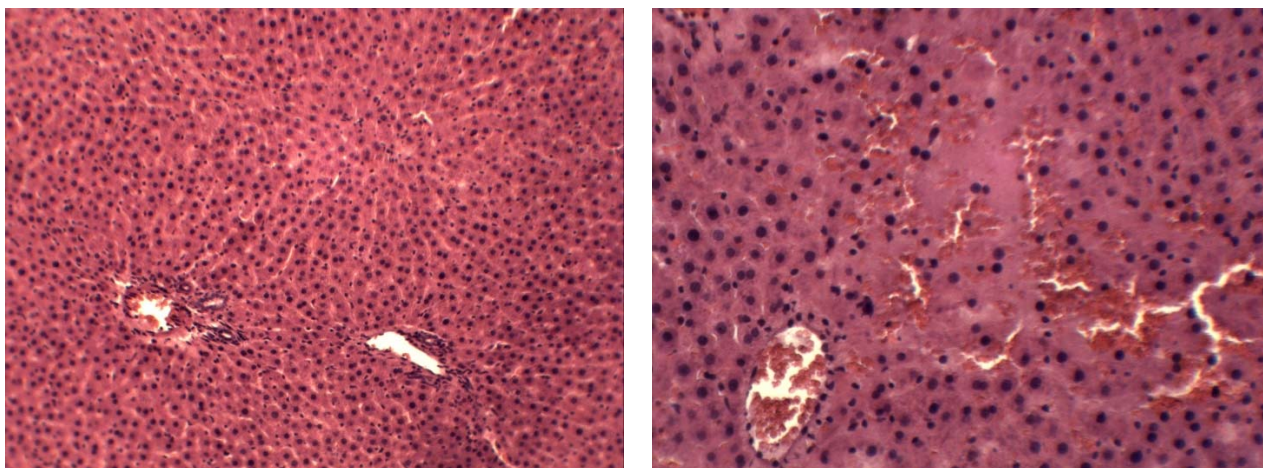
течение 30 суток экстракт ежевики, АОИ_{общ} до инициации гипероксидации также имел небольшое отрицательное значение, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта ежевики, коэффициент АОИ_{общ} снизился в 8,3 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 75,4 % ($U = 157,6000$, $Z = -2,444454$ при $p = 0,000021$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт пижмы, коэффициент АОИ_{общ} до инициации гипероксидации был также отрицательным, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана и экстракта пижмы, коэффициент АОИ_{общ} снизился в 2,25 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 88,7 % ($U = 143,8000$, $Z = -2,198564$ при $p = 0,002447$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток смесь экстрактов пижмы и ежевики, коэффициент АОИ_{общ} до инициации гипероксидации был отрицательным, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана и смеси экстрактов, коэффициент АОИ_{общ} повысился в 1,8 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 87,7 % ($U = 103,1000$, $Z = -2,688771$ при $p = 0,000168$). В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки в норме в течение 30 суток экстракт расторопши, коэффициент АОИ_{общ} до инициации гипероксидации был отрицательным, а на 37-е сутки опыта, при параллельном введении масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток и экстракта расторопши, коэффициент АОИ_{общ} снизился в 2,6 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 84,2 % ($U = 107,6000$, $Z = -3,688547$ при $p = 0,000018$). Положительное значение АОИ_{общ} указывает на относительно компенсированное состояние антиоксидантной защиты организма даже на фоне тенденции снижения активности ферментативной защиты.

Таким образом, использование индексов окислительного стресса для оценки гомеостаза организма позволяет тонко оценивать колебания интенсивности окислительно-восстановительных процессов в тканях печени, так как в основе

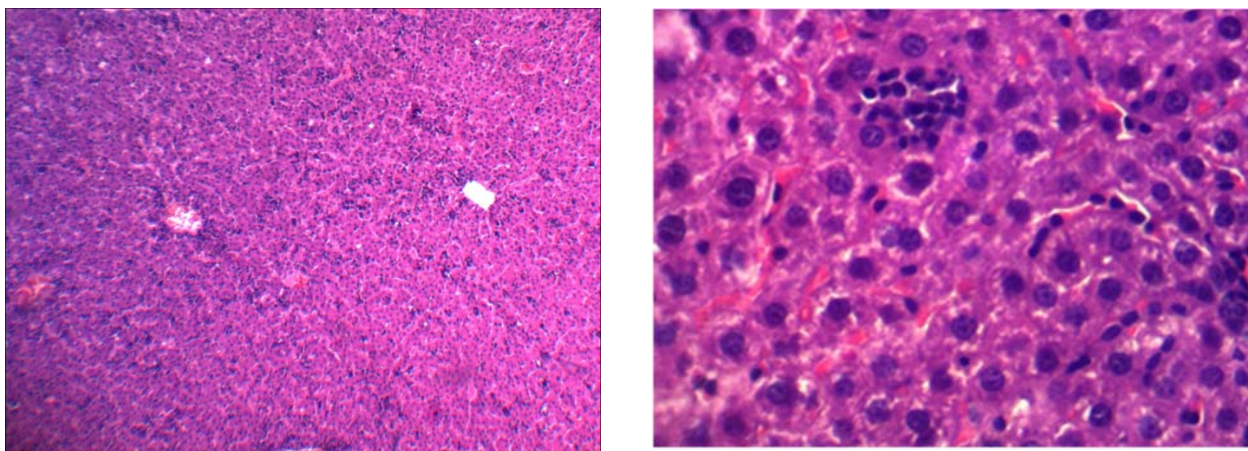
анализа лежат не разрозненные параметры системы ПОЛ-АО (концентрация ДК, МДА, активности СОД, ГП, ГР и каталазы), а интегрированные показатели, повышающие информативность результатов исследований. Несомненно, имеют значение способы группировки показателей, но применение АОИ_{общ}, включающего все показатели в норме и при токсическом воздействии на фоне нагрузки растительными экстрактами, позволяет достоверно оценить невысокие отклонения в антиоксидантном статусе организма.

3.5 Исследование гистоморфологической структуры печени крыс в норме, в условиях нагрузки растительными экстрактами и при моделировании гипероксидации в условиях нагрузки растительными экстрактами

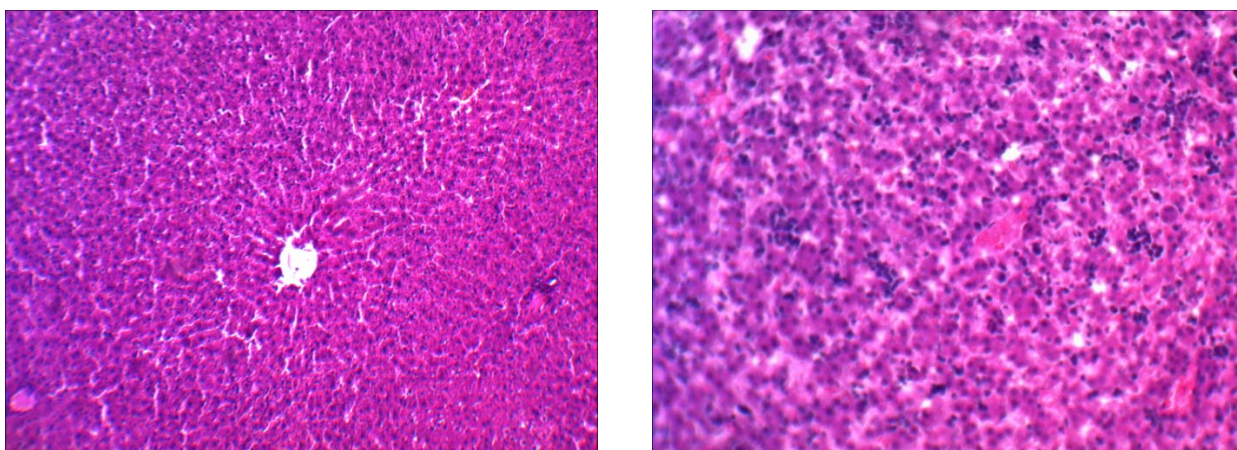
При изучении гистоморфологической структуры печени крыс контрольной группы и печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракты пижмы обыкновенной, ежевики, их смеси в соотношении 1:1 и экстракт расторопши, существенных морфологических отличий выявлено не было (рисунок 7). В тканях печени интактных крыс и животных экспериментальных групп установлено наличие в просветах центральных вен единичных эритроцитов и небольшое количество плазмы крови. Синусоидальные капилляры умеренно полнокровны. Эндотелиальные клетки капилляров набухшие, и перипортально в синусоидах определяются отдельные звездчатые ретикулоэндотелиоциты. Вокруг центральных печеночных вен располагаются гепатоциты со светло-розоватой цитоплазмой, а ближе к портальным трактам в клетках печени цитоплазма темнее, и в ней присутствует мелкоглыбчатая зернистость. В центролобулярных гепатоцитах наблюдаются единичные клетки с перинуклеарным просветлением цитоплазмы. Ядра гепатоцитов округлой формы, и в них обнаруживается хроматин.



а

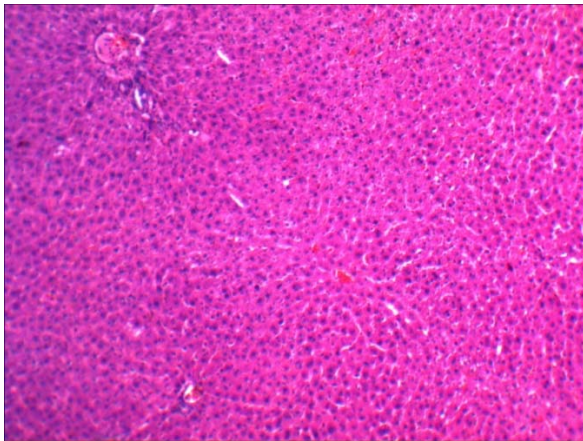
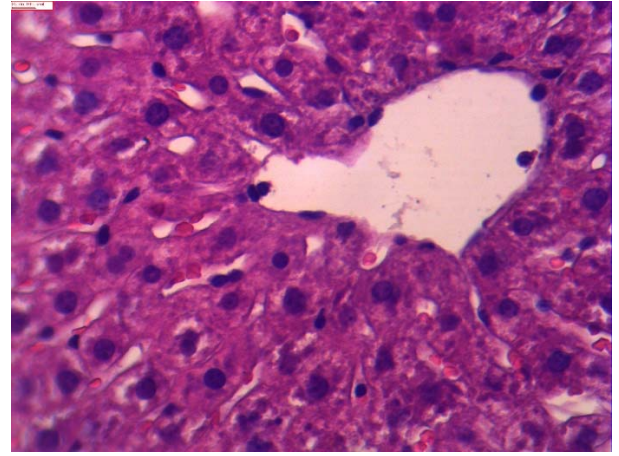
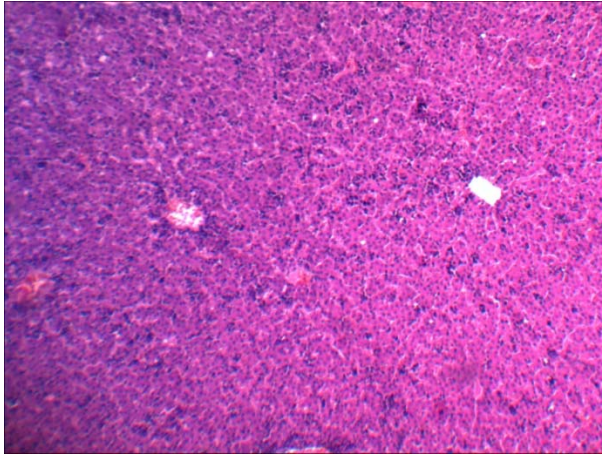


б

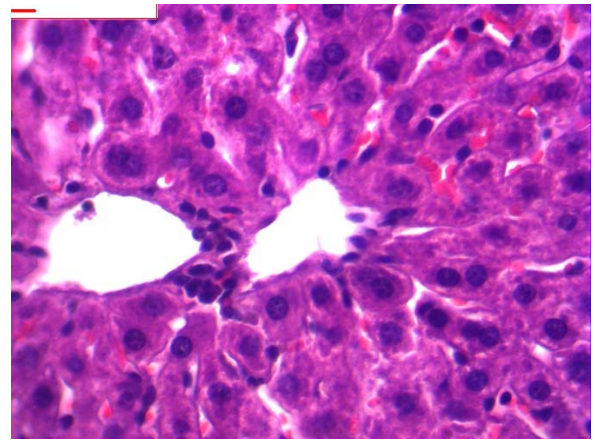


в

Рисунок 7 (начало) – Микропрепарат печени: а – интактной крысы (окраска гематоксилин-эозин; ув. $\times 60$, $\times 160$); б – печень крысы, получавшей экстракт пижмы; в – печень крысы, получавшей экстракт ежевики; г – печень крысы, получавшей экстракт расторопши; д – печень крысы, получавшей смесь экстрактов пижмы и расторопши.



Г



Д

Рисунок 7 (окончание) – Микропрепарат печени: а – интактной крысы (окраска гематоксилин-эозин; ув. $\times 60$, $\times 160$); б – печень крысы, получавшей экстракт пижмы; в – печень крысы, получавшей экстракт ежевики; г – печень крысы, получавшей экстракт расторопши; д – печень крысы, получавшей смесь экстрактов пижмы и расторопши.

Портальные тракты в тканях печени сформированы, и их сосуды полнокровны, между дольками соединительная ткань отсутствует, структура долек четко определяется. В интерстиции встречаются макрофаги и лимфоциты. В поле зрения редко встречаются одиночные апоптозные клетки, отражающие процесс физиологического разрушения гепатоцитов. Иногда они образуют скопления, которые не распространяются за пределы пограничной пластинки. Описанная морфологическая картина печени соответствует нормальным вазоцитарным взаимоотношениям в строении печеночной дольки.

В целом, внутрижелудочная нагрузка крыс растительными экстрактами не оказывает влияния на гистоморфологическую картину ткани печени.

В контрольной группе животных при воздействии CCl_4 установлено нарушение балочной структуры печеночных долек (рисунок 8). В зоне синусоидов определяются тельца Каунсильмена, а в некоторых гепатоцитах наблюдается конденсация нуклеофильного вещества в сочетании с плазморексисом и плазмолизом. Цитолитические процессы выражены во всех трех зонах ацинуса, но преимущественно в центрлобулярной зоне печеночной дольки. Эндотелиальные клетки в этих участках набухшие. В средних зонах печеночных ацинусов видны слияния пораженных паренхиматозных клеток с образованием жировых «кист». В этих группах клеток сферические ядра смещены к периферии или отсутствуют вовсе. Эти морфологические признаки являются свидетельством жировой трансформации гепатоцитов. Определяется лимфоцитарная инфильтрация. Инфильтрат выходит за пределы пограничной пластинки. Формируются очаговые ступенчатые некрозы с тенденцией к образованию мостовидных портопортальных некрозов.

При моделировании токсического повреждения печени тетрахлорметаном на фоне нагрузки экстрактом пижмы обыкновенной установлено умеренное нарушение балочной структуры гепатоцитов (рисунок 9).

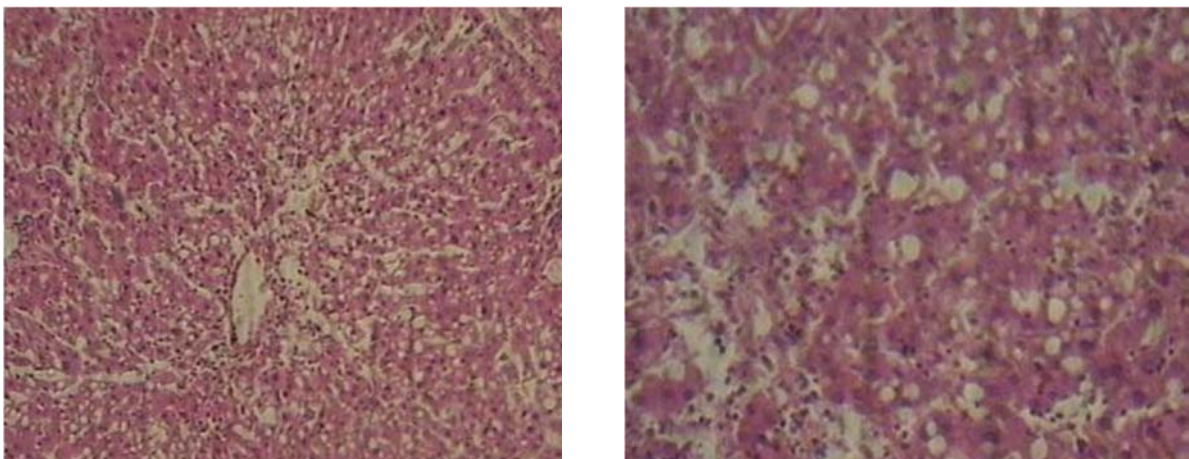


Рисунок 8 – Микропрепарат печени крысы, получавшей воду очищенную при воздействии на печень тетрахлорметаном (окраска гематоксилин-эозин; ув. $\times 160$, $\times 360$).

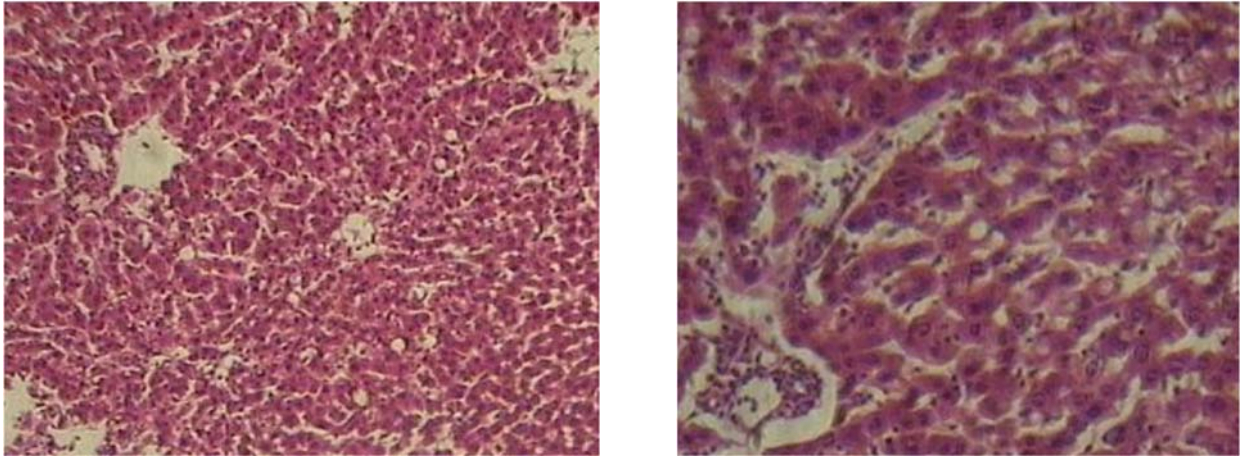


Рисунок 9 – Микропрепарат печени крысы, получавшей экстракт пижмы обыкновенной при воздействии на печень тетрахлорметаном (окраска гематоксилин-эозин; ув. $\times 160$, $\times 360$).

В зонах ацинуса наблюдается некоторая декомплектация печеночных балок. Количество гепатоцитов, находящихся в состоянии крупнокапельной жировой дистрофии, значительно меньше, чем в контроле. Дистрофические изменения в большинстве других клеток ограничиваются стадией мутного набухания, исчезновением зернистости гепатоцитов, умеренным количеством гепатоцитов с признаками кариорекса и кариолизиса. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля (100 %) до $36 \pm 2,55$ % ($p < 0,05$). Расширение синусоидов, полнокровие центральных вен и сосудов портальных трактов в данной группе выражены умеренно.

В группе животных, получавших экстракт ежевики на фоне воздействия на печень тетрахлорметана, наблюдаются более выраженные патологические изменения морфологической структуры печени (степень нарушения балочной структуры, количество гепатоцитов в состоянии жирового гепатоза, количество некротизированных гепатоцитов, степень кариорексиса и кариолизиса), чем в группе, получавшей экстракт пижмы обыкновенной, но меньшие, чем в контроле (рисунок 10).

Балочная структура ткани печени относительно сохранена, слабо выраженное циркулярное разрастание фиброзной ткани вокруг центральной вены. В строме долики по ходу синусоидных капилляров мелкие очажки слабо

выраженной полиморфноклеточной инфильтрации (лимфогистиоцитарная инфильтрация и сегментоядерные нейтрофильные лейкоциты). Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля, который принимали за 100 %, до $58 \pm 2,1$ % ($p \leq 0,05$). Степень морфологических изменений печени у животных, получавших экстракт расторопши, примерно сопоставима с животными, получавшими экстракт пижмы лекарственной (рисунок 11).

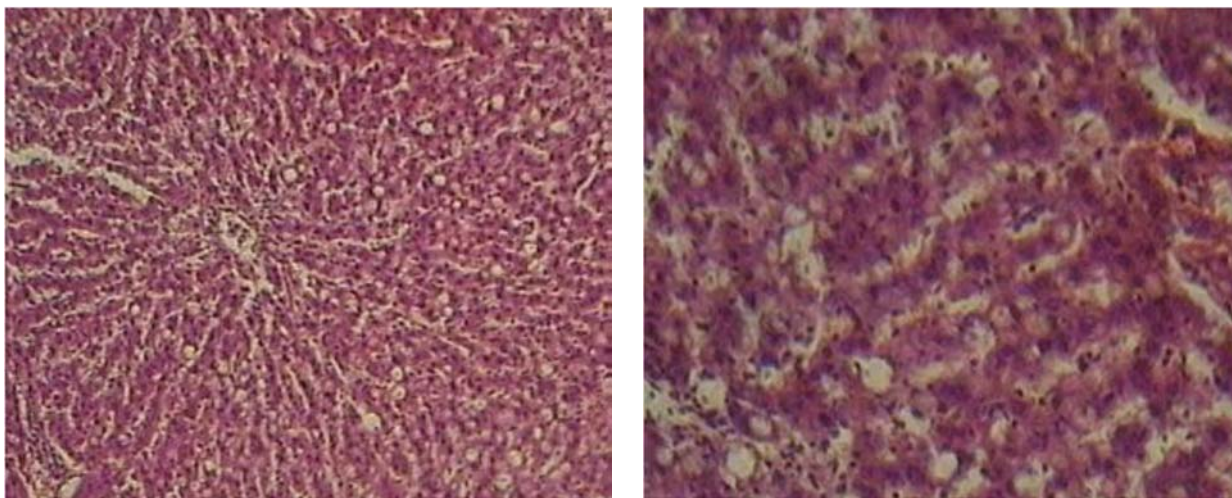


Рисунок 10 – Микропрепарат печени крысы, получавшей экстракт ежевики при воздействии на печень тетрахлорметаном (окраска гематоксилин-эозин; ув. $\times 160$, $\times 360$).

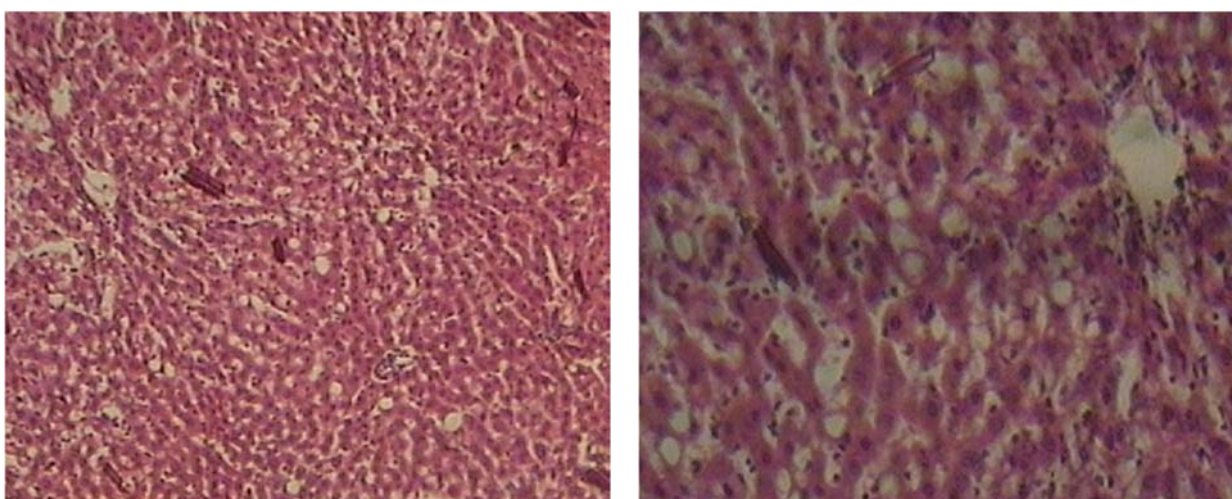


Рисунок 11 – Микропрепарат печени крысы, получавшей экстракт расторопши при воздействии на печень тетрахлорметаном (окраска гематоксилин-эозин; ув. $\times 160$, $\times 360$).

В срезах – слабый аутолиз. Неравномерное кровенаполнение синусоидных капилляров, варьирующее от слабого и слабо-умеренного кровенаполнения до очагового полнокровия. Балочно-радиарное строение долек начинает стираться на фоне умеренно выраженной очагово-диффузной крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. Остальные печеночные клетки в состоянии умеренной мелкокапельной жировой дистрофии. Портальные тракты практически не расширены, в строме ряда из них очаговая умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация с единичными сегментоядерными лейкоцитами. Капсула печени в данных срезах не представлена. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение в сравнении с контролем до $48 \pm 3,51 \%$ ($p < 0,05$), относительно предыдущей группы различия недостоверны ($p > 0,05$).

При моделировании гипероксидации печени тетрахлорметаном на фоне нагрузки смесью экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики установлено умеренное нарушение балочной структуры гепатоцитов (рисунок 12).

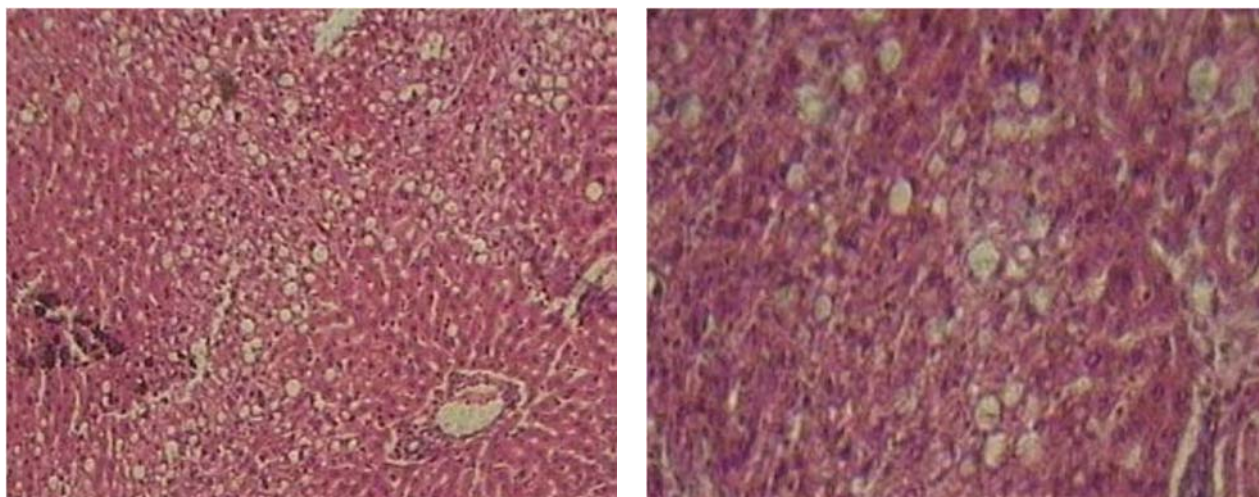


Рисунок 12 – Микропрепарат печени крысы, получавшей смесь растительных экстрактов при воздействии на печень тетрахлорметаном (окраска гематоксилин-эозин; ув. $\times 160$, $\times 360$).

В зонах ацинуса наблюдается некоторая декомплектация печеночных балок. Количество гепатоцитов, находящихся в состоянии крупнокапельной жировой

дистрофии, значительно меньше, чем в контроле. Дистрофические изменения в большинстве других клеток ограничиваются стадией мутного набухания, исчезновением зернистости гепатоцитов, умеренным количеством гепатоцитов с признаками кариорекса и кариолизиса. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля (100 %) до $36 \pm 2,55$ % ($p < 0,05$). Расширение синусоидов, полнокровие центральных вен и сосудов портальных трактов в данной группе выражены умеренно.

В целом острый токсический гепатит и интенсивной гипероксидация развиваются уже на 1-е сутки после введения CCl_4 . Морфологическое исследование препаратов печени крыс экспериментальных групп, получавших растительные экстракты в течение 30 суток до инициирования гипероксидации и параллельно с введением тетрахлорметана в течение 6 суток, указывает на диффузную зернисто-вакуольную дистрофию гепатоцитов. Отмечаются очаговые некрозы паренхимы и миграция в эту зону полиморфноядерных лейкоцитов. Некрозы локализованы преимущественно под капсулой по периферии органа. В ответ на повреждение обнаруживается реакция со стороны сосудов микроциркуляторного русла в виде полнокровия синусоидальных капилляров, также выражен капилляростаз вен портальных трактов и части центральных вен долек, наблюдается интерстициальный отек. В таблице 6 представлены гистологические показатели печени крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами с индуцированной гипероксидацией.

Таблица 6 – Гистологические показатели печени крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами с индуцированной гипероксидацией

Показатель	Группы экспериментальных животных, $M \pm m$					
	Интактные	Контроль + CCl_4	Экстракт ежевики + CCl_4	Экстракт пижмы + CCl_4	Смесь экстрактов + CCl_4	Экстракт расторопши + CCl_4
Количество гепатоцитов на 1 $мм^2$	$2459,3 \pm$ $88,5$	$4568,6 \pm$ $159,9^1$	$3952,1 \pm$ $126,46^{1,2}$	$3641,7 \pm$ $123,8^{1,2}$	$3465,7 \pm$ $110,9^{1,2}$	$3789,5 \pm$ $128,8^{1,2}$
Размер гепатоцитов, мкм	$22,79 \pm$ $0,79$	$12,41 \pm$ $0,43^1$	$15,34 \pm$ $0,54^{1,2}$	$18,22 \pm$ $0,65^{1,2}$	$19,64 \pm$ $0,69^{1,2}$	$16,48 \pm$ $0,56^{1,2}$
Размер ядра гепатоцитов, мкм	$6,13 \pm$ $0,21$	$6,11 \pm$ $0,19$	$6,15 \pm$ $0,22$	$6,14 \pm$ $0,23$	$6,13 \pm$ $0,19$	$6,10 \pm$ $0,17$

Окончание таблицы 6

Показатель	Группы экспериментальных животных					
	Интактные	Контроль + CCl ₄	Экстракт ежевики + CCl ₄	Экстракт пижмы + CCl ₄	Смесь экстрактов + CCl ₄	Экстракт расторопши + CCl ₄
Ядерно- цитоплазматический индекс	0,26 ± 0,01	0,49 ± 0,02 ¹	0,40 ± 0,02 ^{1,2}	0,34 ± 0,02 ^{1,2}	0,31 ± 0,02 ^{1,2}	0,37 ± 0,02 ^{1,2}
Количество двухъядерных клеток, %	16,3 ± 0,61	146,2 ± 5,26 ¹	121,5 ± 4,37 ^{1,2}	115,3 ± 3,68 ^{1,2}	109,6 ± 3,95 ^{1,2}	122,2 ± 4,52 ^{1,2}
Митотический индекс, %	0,54 ± 0,02	34,6 ± 1,25 ¹	26,7 ± 0,91 ¹	25,1 ± 0,85 ¹	20,6 ± 0,70 ¹	27,8 ± 0,95 ¹

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных; ² – по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

При морфометрическом исследовании срезов печени на 37-е сутки после введения тетрахлорметана в течение 6 суток у животных наблюдается увеличение количества гепатоцитов на единицу площади (1 мм²) за счет уменьшения их размеров. Установлено, что в контрольной группе крыс с индуцированной гипероксидацией количество гепатоцитов на 1 мм² было больше, чем у интактных животных на 85,8 % ($U = 149,6000$, $Z = -3,688771$ при $p = 0,000000$), при этом в группе крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, количество гепатоцитов на 1 мм² было больше, чем у интактных животных, на 60,7 % ($U = 169,3000$, $Z = -2,478858$ при $p = 0,002335$); у крыс, получавших экстракт пижмы лекарственной, – больше на 48,1 % ($U = 178,50000$, $Z = -3,695582$ при $p = 0,004112$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 40,9 % ($U = 126,4000$, $Z = -2,744732$ при $p = 0,000018$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – больше на 54,1 % ($U = 142,5000$, $Z = -4,496625$ при $p = 0,003227$). При этом следует отметить, что количество гепатоцитов на 1 мм² в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, было достоверно меньше по сравнению с животными контрольной группы с

индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 13,5 % ($U = 184,1000$, $Z = -2,899327$ при $p = 0,003224$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 20,3 % ($U = 129,6000$, $Z = -2,455851$ при $p = 0,000011$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 24,1 % ($U = 167,3000$, $Z = -4,633741$ при $p = 0,002222$), а у крыс, получавших экстракт расторопш, – меньше на 17,1 % ($U = 113,6000$, $Z = -3,147774$ при $p = 0,000133$).

На фоне индуцированной гипероксидации установлено уменьшение размеров гепатоцитов. В контрольной группе крыс с индуцированной гипероксидацией размер гепатоцитов уменьшился на 45,5 % ($U = 141,7000$, $Z = -3,325521$ при $p = 0,001114$) по сравнению с показателями интактных животных, а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, размер гепатоцитов уменьшился на 32,7 % ($U = 119,5000$, $Z = -3,478362$ при $p = 0,000119$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы обыкновенной, – уменьшился на 20,1 % ($U = 127,3000$, $Z = -3,896632$ при $p = 0,000012$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – уменьшился на 13,8 % ($U = 161,4000$, $Z = -2,578842$ при $p = 0,000013$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – уменьшился на 27,7 % ($U = 103,1000$, $Z = -3,129985$ при $p = 0,000114$). При этом следует отметить, что размер гепатоцитов в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, был достоверно больше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – больше на 23,6 % ($U = 97,6000$, $Z = -4,189552$ при $p = 0,000017$), у животных, получавших экстракт пижмы, – больше на 46,8 % ($U = 184,7000$, $Z = -2,369863$ при $p = 0,000000$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 58,3 % ($U = 146,8000$, $Z = -2,989631$ при $p = 0,003241$), а у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 32,7 % ($U = 154,2000$, $Z = -3,269532$ при $p = 0,000000$).

Несмотря на изменение размеров гепатоцитов, размер ядер этих клеток у животных всех экспериментальных групп был примерно на одном уровне, при этом ядерно-цитоплазматический индекс на фоне индуцированной гипероксидации

изменялся в большую сторону. Установлено повышение ядерно-цитоплазматического индекса в контрольной группе крыс с индуцированной гипероксидацией по сравнению с показателями интактных животных на 88,5 % ($U = 131,2000$, $Z = -3,668721$ при $p = 0,003471$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, ядерно-цитоплазматический индекс увеличился на 53,8 % ($U = 162,5000$, $Z = -4,147121$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличился на 30,8 % ($U = 129,8000$, $Z = -3,378524$ при $p = 0,000117$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – на 19,2 % ($U = 139,1000$, $Z = -2,456662$ при $p = 0,000016$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличился на 42,3 % ($U = 123,6000$, $Z = -2,786328$ при $p = 0,000014$). При этом следует отметить, что ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов в тканях печени крыс, получавших антиоксиданты, был достоверно ниже по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 18,4 % ($U = 168,2000$, $Z = -2,769923$ при $p = 0,002896$); у животных, получавших экстракт пижмы – меньше на 30,6 % ($U = 191,6000$, $Z = -3,178362$ при $p = 0,000018$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 36,7 % ($U = 137,8000$, $Z = -2,896241$ при $p = 0,000269$), а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 24,5 % ($U = 127,3000$, $Z = -2,329984$ при $p = 0,000058$).

При оценке регенераторных процессов печени крыс установлено, что CCl_4 влияет как на внутриклеточную, так и на клеточную регенерацию, о чем свидетельствует достоверное повышение числа митозов и количества двуядерных клеток. Установлено, что в контрольной группе крыс с индуцированной гипероксидацией количество двуядерных гепатоцитов увеличилось в 8,9 раза ($U = 118,6000$, $Z = -3,621141$ при $p = 0,000000$) по сравнению с показателями интактных животных, а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, количество двуядерных гепатоцитов увеличилось в 7,5 раз $U = 193,4000$, $Z = -2,756328$

при $p = 0,000011$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы обыкновенной, – увеличилось в 7,1 раза ($U = 126,6000$, $Z = -2,278845$ при $p = 0,002663$); у животных, получавших смесь экстрактов, – увеличилось в 6,7 раза ($U = 137,5000$, $Z = -3,478852$ при $p = 0,000000$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилось в 7,5 раз ($U = 138,90000$, $Z = -2,877711$ при $p = 0,004171$). При этом следует отметить, что количество двуядерных гепатоцитов в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, было достоверно меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 16,8 % ($U = 127,4000$, $Z = -2,147885$ при $p = 0,000015$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 21,1 % ($U = 123,6000$, $Z = -3,584471$ при $p = 0,000028$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 25,0 % ($U = 149,6000$, $Z = -3,369521$ при $p = 0,000000$), а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 16,4 % (Manna – Whitney: $U = 165,2000$, $Z = -2,459631$ при $p = 0,000122$).

Установлено, что в контрольной группе крыс с индуцированной гипероксидацией количество митозов увеличилось в 64,1 раза ($U = 126,7000$, $Z = -3,348957$ при $p = 0,002781$) по сравнению с показателями интактных животных, а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, количество митозов увеличилось в 49,4 раза ($U = 134,5000$, $Z = -2,687441$ при $p = 0,000111$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилось в 46,5 раза ($U = 148,6000$, $Z = -3,327884$ при $p = 0,001270$); у животных, получавших смесь экстрактов, – в 38,1 раза ($U = 113,7000$, $Z = -3,327851$ при $p = 0,002411$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилось в 51,5 раза ($U = 174,6000$, $Z = -2,987587$ при $p = 0,001784$). При этом следует отметить, что количество митозов в гепатоцитах в тканях печени крыс, получавших антиоксиданты, было достоверно меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 22,8 % ($U = 138,4000$, $Z = -2,158632$ при

$p = 0,000017$), у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 27,4 % ($U = 164,8000$, $Z = -3,297814$ при $p = 0,002471$), у животных, получавших смесь экстрактов, – меньше на 40,5 % ($U = 128,7000$, $Z = -2,321756$ при $p = 0,000026$), а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 19,6 % ($U = 126,5000$, $Z = -2,195324$ при $p = 0,000247$).

Таким образом, при гипероксидации печени тетрахлорметаном наблюдается интенсивное накопление жиров и увеличение печени, а в более тяжелых случаях – повреждение или разрушение гепатоцитов, что может привести к нарушению ее функционирования. Это подтверждается и нашими экспериментальными исследованиями, в которых введение CCl_4 вызывает картину острого токсического гепатита и характеризуется очаговыми некрозами паренхимы печени, локализованными преимущественно под капсулой по периферии органа. Такая локализация повреждений возможна из-за внутрибрюшинного введения гепатотропного яда. В условиях острого токсического гепатита, наряду с деструктивными процессами в печени, наблюдаются и репаративные. Печень относится к тканям, для которых характерен как клеточный, так и внутриклеточный типы регенерации. При оценке регенераторных процессов печени экспериментальных крыс установлено достоверное повышение числа митозов, количества клеток на единицу площади препарата, числа двудерных клеток. При этом преобладают внутриклеточные восстановительные процессы. Используемый гепатотропный яд оказывает выраженное токсическое действие не только на печень, но и на весь организм в целом. Внутрижелудочная нагрузка растительными антиоксидантами позволяет снизить негативное влияние тетрахлорметана на ткани печени, и наиболее выраженный эффект наблюдается при применении смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики.

3.6 Реактивные приспособления морфологического состава крови крыс к гипероксидации на фоне нагрузки антиоксидантами

Общее состояние и поведение животных, получавших растительные экстракты, не отличались от контрольной группы животных. Животные были активны, прием воды и пищи – без особенностей, естественные отправления не нарушены.

Динамика изученных показателей крови крыс представлена в таблице 7.

Таблица 7 – Морфологические показатели периферической крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами при экспериментальной гипероксидации

Показатель, М ± m	Дни	Контроль + ССl ₄	Экстракт ежевики + ССl ₄	Экстракт пижмы + ССl ₄	Смесь экстрактов + ССl ₄	Экстракт расторопши + ССl ₄
Эритроциты, М · 10 ¹² /л	30	7,25 ± 0,26	7,74 ± 0,31 ¹	8,04 ± 0,28 ¹	8,25 ± 0,34 ¹	7,69 ± 0,29
	37	6,85 ± 0,22	7,50 ± 0,28 ¹	7,90 ± 0,32 ¹	8,13 ± 0,31 ¹	7,35 ± 0,27
Гемоглобин, г/л	30	7,09 ± 0,25	7,42 ± 0,29	7,45 ± 0,32	7,59 ± 0,35 ¹	7,38 ± 0,31
	37	6,95 ± 0,19	7,35 ± 0,26	7,38 ± 0,27	7,48 ± 0,33 ¹	7,21 ± 0,29
Лейкоциты, М · 10 ⁹ /л	30	11,36 ± 0,39	13,60 ± 0,35 ¹	14,60 ± 0,43 ¹	14,70 ± 0,45 ¹	14,00 ± 0,38 ¹
	37	17,85 ± 0,64	16,20 ± 0,54 ¹	15,90 ± 0,58 ¹	15,30 ± 0,51 ¹	15,80 ± 0,55 ¹
Палочкоядерные нейтрофилы, %	30	2,63 ± 0,08	2,65 ± 0,09	2,67 ± 0,07	2,64 ± 0,08	2,62 ± 0,06
	37	2,64 ± 0,07	2,71 ± 0,06	2,65 ± 0,09	2,61 ± 0,07	2,64 ± 0,07
Сегментоядерные нейтрофилы, %	30	25,42 ± 0,81	25,49 ± 0,79	25,52 ± 0,76	25,68 ± 0,85	25,58 ± 0,84
	37	29,63 ± 0,89	28,55 ± 0,84	28,79 ± 0,81	27,69 ± 0,79 ¹	28,53 ± 0,75
Эозинофилы, %	30	2,00 ± 0,06	2,00 ± 0,04	1,99 ± 0,05	1,99 ± 0,04	1,95 ± 0,04
	37	2,00 ± 0,05	2,05 ± 0,05	1,87 ± 0,03	2,03 ± 0,05	1,93 ± 0,04
Моноциты, %	30	2,03 ± 0,06	1,99 ± 0,04	2,00 ± 0,05	1,80 ± 0,03	1,93 ± 0,05
	37	2,05 ± 0,05	2,03 ± 0,06	2,05 ± 0,04	2,05 ± 0,04	1,87 ± 0,06
Лимфоциты, %	30	67,92 ± 2,37	67,87 ± 2,10	67,82 ± 2,31	67,89 ± 2,44	67,92 ± 2,36
	37	63,68 ± 2,29	64,63 ± 2,00	64,64 ± 2,39	65,62 ± 2,42	65,03 ± 2,21

Примечание. В таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями контрольной группы крыс с индуцированной гипероксидацией.

Установлено, что на фоне нагрузки в течение 30 суток растительными экстрактами количество эритроцитов в крови животных увеличивается и по сравнению с крысами контрольной группы и у животных экспериментальных групп оно было достоверно больше: у крыс, получавших экстракт ежевики, –

больше на 6,8 % ($U = 117,6000$, $Z = -3,456237$ при $p = 0,000013$), у крыс, получавших экстракт пижмы, – больше на 10,9 % ($U = 127,6000$, $Z = -2,247000$ при $p = 0,000000$), у крыс, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 13,8 % ($U = 154,7000$, $Z = -3,681132$ при $p = 0,000168$), а у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 6,1 %.

На фоне гипероксидации, индуцированной тетрахлорметаном, происходит незначительное снижение количества эритроцитов в крови экспериментальных животных. Так, у крыс контрольной группы количество эритроцитов в периферической крови уменьшилось на 5,5 % от исходного значения, у животных, получавших экстракт ежевики, – на 3,1 %, у крыс, получавших экстракт пижмы, – на 1,7 %, у крыс, получавших смесь растительных экстрактов, – на 1,5 %, а у животных, получавших экстракт расторопши, – на 4,4 %. По сравнению с показателями крыс контрольной группы с индуцированной гипероксидацией количество эритроцитов в крови крыс экспериментальных групп на 37-е сутки опыта было больше: у крыс, получавших экстракт ежевики, – больше на 9,5 % ($U = 139,7000$, $Z = -2,148325$ при $p = 0,003447$), у крыс, получавших экстракт пижмы, – больше на 15,3 % ($U = 191,7000$, $Z = -2,963265$ при $p = 0,001123$), у крыс, получавших смесь экстрактов, – больше на 18,7 % ($U = 135,2000$, $Z = -3,688771$ при $p = 0,000000$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – больше на 7,3 %.

Нагрузка растительными экстрактами способствует возрастанию концентрации гемоглобина в крови крыс. Так, на фоне нагрузки в течение 30 суток экстрактом ежевики концентрация гемоглобина в крови животных была больше, чем в контроле на 4,7 %, на фоне нагрузки экстрактом пижмы обыкновенной – на 5,1 %, на фоне нагрузки смесью растительных экстрактов – больше на 7,3 % ($U = 132,8000$, $Z = -2,398752$ при $p = 0,0001017$), а на фоне нагрузки экстрактом расторопши – больше на 4,1 %.

На фоне гипероксидации, индуцированной тетрахлорметаном, происходит незначительное снижение концентрации гемоглобина в крови экспериментальных животных. По сравнению с показателями крыс контрольной группы с

индуцированной гипероксидацией концентрация гемоглобина в крови крыс экспериментальных групп на 37-е сутки опыта была больше: у крыс, получавших экстракт ежевики, – больше на 5,8 %, у крыс, получавших экстракт пижмы, – больше на 6,2 %, у крыс, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 7,6 % ($U = 138,5000$, $Z = -3,688771$ при $p = 0,000347$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – больше на 3,7 %.

На фоне нагрузки растительными экстрактами в течение 30 суток установлено увеличение количества лейкоцитов в периферической крови крыс в пределах физиологической нормы. Так, на фоне нагрузки в течение 30 суток экстрактом ежевики количество лейкоцитов в крови животных было больше, чем в контроле на 19,7 % ($U = 176,3000$, $Z = -3,763345$ при $p = 0,004237$), на фоне нагрузки экстрактом пижмы – на 28,5 % ($U = 153,1000$, $Z = -2,688771$ при $p = 0,000103$), на фоне нагрузки смесью растительных экстрактов – больше на 29,4 % ($U = 128,3000$, $Z = -2,845587$ при $p = 0,002896$), а на фоне нагрузки экстрактом расторопши – больше на 23,2 % ($U = 194,1000$, $Z = -2,547126$ при $p = 0,001674$).

На фоне гипероксидации, индуцированной тетрахлорметаном, происходит возрастание количества лейкоцитов в крови экспериментальных животных. Так, у крыс контрольной группы количество лейкоцитов в периферической крови увеличилось на 57,1 % ($U = 146,7000$, $Z = -2,327159$ при $p = 0,000317$) от исходного значения; у животных, получавших экстракт ежевики, – на 19,1 % ($U = 117,8000$, $Z = -3,459811$ при $p = 0,000014$); у крыс, получавших экстракт пижмы, – на 8,9 % ($U = 122,2000$, $Z = -2,756984$ при $p = 0,000000$); у крыс, получавших смесь растительных экстрактов, – на 4,1 %, а у животных, получавших экстракт расторопши, – на 12,8 % ($U = 101,1000$, $Z = -2,135662$ при $p = 0,000015$). По сравнению с показателями крыс контрольной группы с индуцированной гипероксидацией количество лейкоцитов в крови крыс экспериментальных групп на 37-е сутки опыта было меньше: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 9,2 % ($U = 106,7000$, $Z = -3,688771$ при $p = 0,000016$); у крыс, получавших пижмы обыкновенной, – меньше на 10,9 % ($U = 185,3000$, $Z = -2,756321$ при $p = 0,000025$); у крыс, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 14,3 %

($U = 115,1000$, $Z = -2,265541$ при $p = 0,000012$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – меньше на 11,5 % ($U = 116,6000$, $Z = -3,665214$ при $p = 0,000024$).

Количество палочкоядерных нейтрофилов в крови животных, получавших природные антиоксиданты в течение 30 дней до введения тетрахлорметана и в течение 6 дней параллельно с введением тетрахлорметана колебалось незначительно и не имело достоверных отличий от показателей контрольной группы.

Количество сегментоядерных нейтрофилов в крови животных, получавших природные антиоксиданты в течение 30 дней, соответствовало показателям контрольной группы. На фоне инициирования гипероксидации установлено увеличение в крови животных всех группы сегментоядерных нейтрофилов: у крыс контрольной группы количество сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови увеличилось на 16,6 % ($U = 127,5000$, $Z = -2,148541$ при $p = 0,000133$) от исходного значения, у животных, получавших экстракт ежевики, – на 12,0 % ($U = 146,6000$, $Z = -3,688771$ при $p = 0,002485$), у крыс, получавших экстракт пижмы, – на 12,8 % ($U = 161,8000$, $Z = -3,324141$ при $p = 0,002141$), у крыс, получавших смесь экстрактов, – на 7,8 %, а у животных, получавших экстракт расторопши, – на 11,5 % ($U = 127,6000$, $Z = -4,247158$ при $p = 0,000116$). По сравнению с показателями крыс контрольной группы с индуцированной гипероксидацией количество сегментоядерных нейтрофилов в крови крыс экспериментальных групп на 37-е сутки опыта было меньше: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 3,6 %, у крыс, получавших экстракт пижмы, – меньше на 2,8 %, у крыс, получавших смесь экстрактов, – меньше на 6,5 % ($U = 97,6000$, $Z = -3,156324$ при $p = 0,000103$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – меньше на 3,7 %.

Количество эозинофилов и моноцитов в крови животных, получавших природные антиоксиданты в течение 30 дней до введения тетрахлорметана и в течение 6 дней параллельно с введением тетрахлорметана, колебалось незначительно и не имело достоверных отличий от показателей контрольной группы.

Нагрузка растительными экстрактами в течение 30 суток не оказывала влияние на количество лимфоцитов в крови животных, но на фоне индуцированной

гипероксидации установлена лимфопения. У крыс контрольной группы количество лимфоцитов в периферической крови уменьшилось на 6,2 % от исходного значения, у животных, получавших экстракт ежевики, – на 4,8 %, у крыс, получавших экстракт пижмы, – на 4,9 %, у крыс, получавших смесь экстрактов, – на 3,3 %, а у животных, получавших экстракт расторопши, – на 4,3 %. По сравнению с показателями крыс контрольной группы с индуцированной гипероксидацией количество лимфоцитов в крови крыс экспериментальных групп на 37-е сутки опыта было больше: у крыс, получавших экстракты ежевики и пижмы, – больше на 1,5 %, у крыс, получавших смесь экстрактов, – больше на 3,0 %, а у животных, получавших экстракт расторопши, – больше на 2,1 %.

Таким образом, внутрижелудочная нагрузка крыс растительными экстрактами приводит к изменениям морфологического состава крови животных, отражающемся в увеличении количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови, а также увеличении количества лейкоцитов в пределах физиологической нормы. На фоне дополнительного введения в организм крыс тетрахлорметана и инициирования гипероксидации выявлены существенные патологические изменения морфологических параметров крови крыс, но нагрузка антиоксидантами в течение 30 суток до введения яда и в течение 6 суток параллельно с введением CCl_4 способствует уменьшению негативных последствий, и наиболее выраженный эффект наблюдается при применении смеси растительных экстрактов.

3.7 Гематологические лейкоцитарные индексы на фоне нагрузки растительными экстрактами при индуцированной гипероксидации

На основании полученных данных морфологического состава крови крыс контрольной и экспериментальных групп произведен расчет гематологических лейкоцитарных индексов, позволяющих оценивать состояние иммунной системы, степень интоксикации, эффективность проводимой терапии, адаптации организма к внешним условиям. Гематологические лейкоцитарные индексы отражают взаимоотношения между различными классами клеток лейкоцитарной формулы и могут быть альтернативой сложным и дорогостоящим исследованиям по определению иммунограммы, содержания цитокинов и ряда других биохимических параметров. Таким образом, комплексная оценка гематологических интегральных лейкоцитарных индексов более информативна, чем изучение простой гемограммы.

Динамика индекса соотношения нейтрофилов и моноцитов у крыс контрольной и экспериментальных групп представлена на рисунке 13. ИСНМ позволяет оценить соотношение компонентов микрофагально-макрофагальной системы.

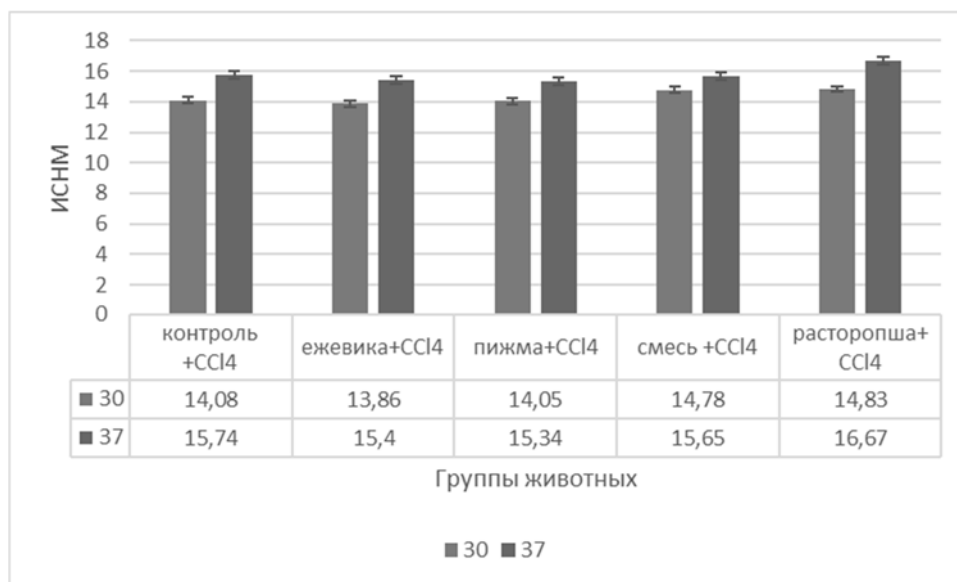


Рисунок 13 – Динамика ИСНМ у крыс контрольной и экспериментальных групп на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации.

По данным, представленным на диаграмме, видно, что ИСНМ во всех экспериментальных группах к 37-м суткам опыта изменился в большую сторону. У животных контрольной группы ИСНМ на 37-е сутки увеличился на 11,8 % ($U = 104,6000$, $Z = -3,632521$ при $p = 0,000012$) от исходного значения. В группе крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, ИСНМ увеличился на 9,2 % ($U = 101,1000$, $Z = -4,125652$ при $p = 0,000017$) от исходного значения, у животных, получавших экстракт ежевики, – на 11,1 % ($U = 106,5000$, $Z = -3,632852$ при $p = 0,000015$), у крыс, получавших смесь растительных экстрактов, – на 5,9 %, а у животных, получавших экстракт расторопши, – на 12,4 % ($U = 109,5000$, $Z = -3,114521$ при $p = 0,000000$).

Возрастание ИСНМ на фоне нагрузки антиоксидантами при гипероксидации, на наш взгляд, обусловлено изменением соотношения компонентов микрофагально-макрофагальной системы (преобладание молодых форм клеток, компонентов микрофагальной системы и клеток неспецифической защиты).

Динамика индекса соотношения лимфоцитов и моноцитов у крыс контрольной и экспериментальных групп представлена на рисунке 14.

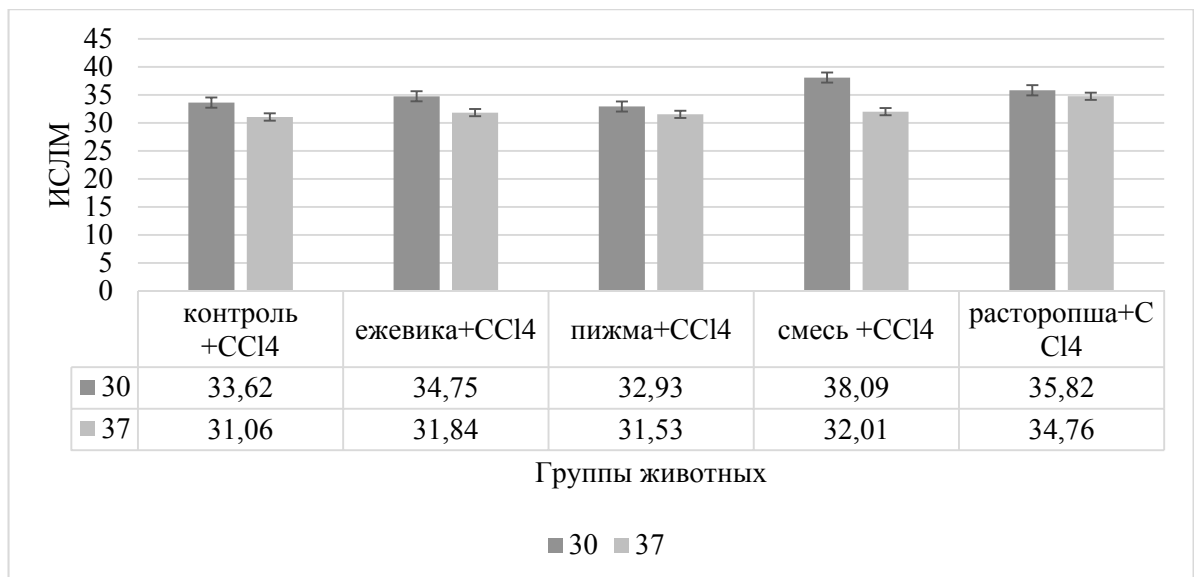


Рисунок 14 – Динамика ИСЛМ у крыс контрольной и экспериментальных групп на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации.

По данным, представленным на диаграмме, видно, что ИСЛМ во всех экспериментальных группах к 37-м суткам опыта уменьшился. ИСЛМ у крыс контрольной группы снизился на 37-е сутки опыта на 7,6 % от исходного значения. В группе крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики ИСЛМ снизился на 8,4 % ($U = 175,6000$, $Z = -4,485241$ при $p = 0,000354$) от исходного значения, у животных, получавших экстракт пижмы, – снизился на 4,3 %, у крыс, получавших смесь природных антиоксидантов, – на 15,9 % ($U = 137,8000$, $Z = -3,256325$ при $p = 0,000248$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – на 2,95 %. Снижение данного индекса может свидетельствовать о формирующемся нарушении иммунологической реактивности животных под влиянием сочетанных стрессовых воздействий.

Динамика индекса соотношения лимфоцитов и эозинофилов у крыс контрольной и экспериментальных групп представлена на рисунке 15. ИСЛЭ отражает соотношение процессов гиперчувствительности немедленного и замедленного типов.

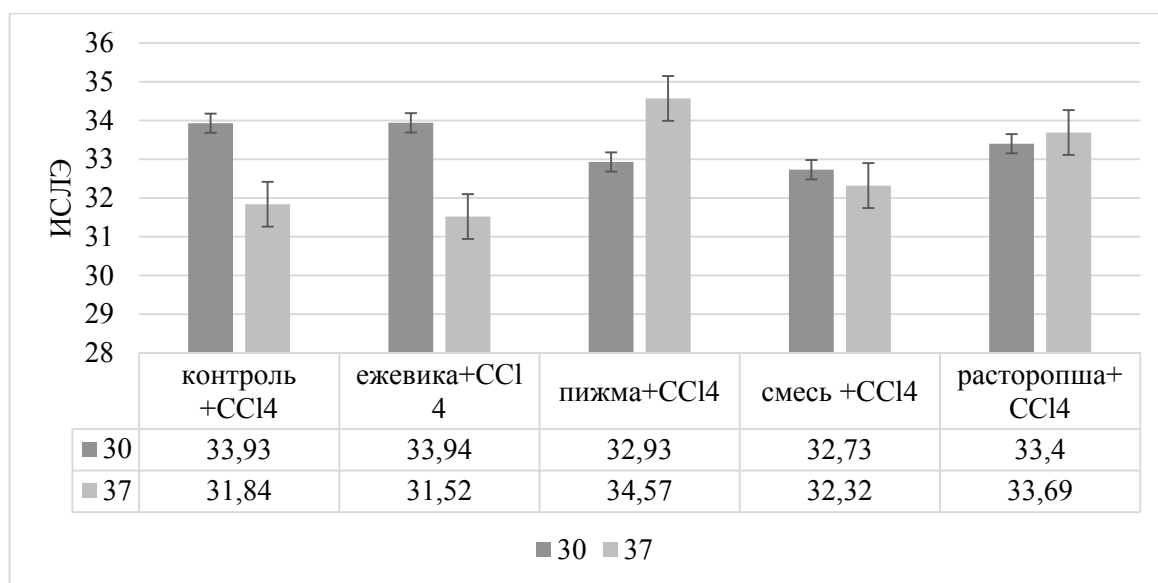


Рисунок 15 – Динамика ИСЛЭ у крыс контрольной и экспериментальных групп на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации.

ИСЛЭ в контрольной группе крыс на 37-е сутки опыта снизился на 6,2 % от исходного значения. В группе крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики, ИСЛЭ к 37-м суткам опыта снизился на 7,1 % от исходного

значения; у животных, получавших экстракт пижмы, – повысился на 5,0 %; у крыс, получавших смесь природных антиоксидантов, – снизился незначительно, а у животных, получавших экстракт расторопши, – незначительно повысился.

Динамика индекса Бредекка у крыс контрольной и экспериментальных групп представлена на рисунке 16. Увеличение данного индекса свидетельствует о повышении уровня неспецифической резистентности, снижение является признаком противоположного процесса.

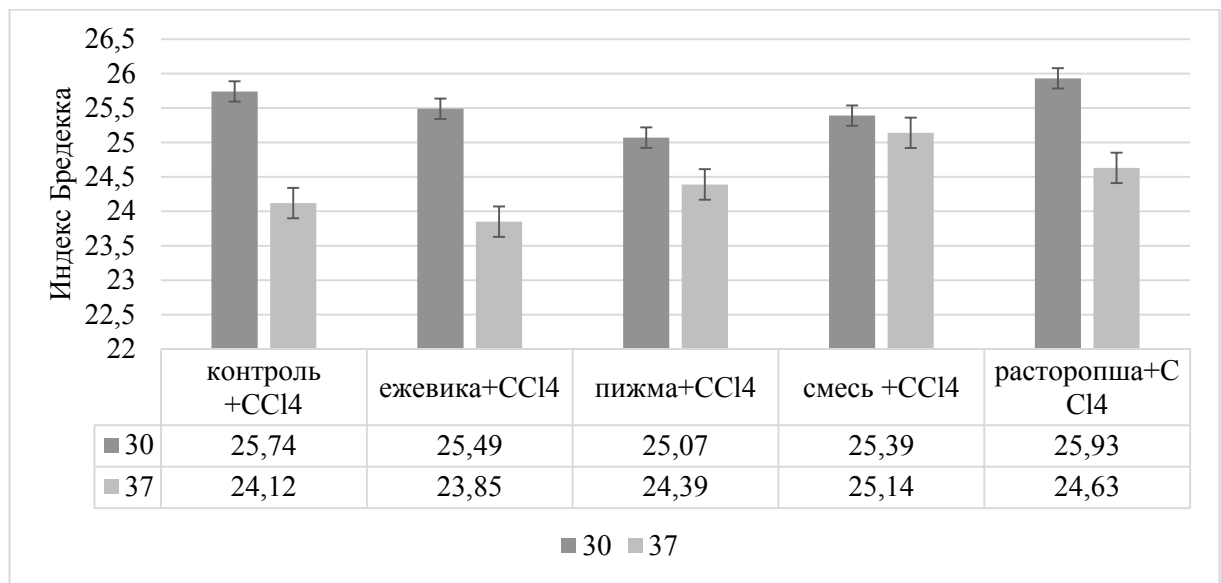


Рисунок 16 – Динамика индекса Бредекка у крыс контрольной и экспериментальных групп на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации.

Индекс Бредекка в контрольной группе животных на 37-е сутки опыта снизился на 6,3 % от исходного значения. В группе крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики, индекс Бредекка снизился на 6,4 % от исходного значения, у животных, получавших экстракт пижмы, – снизился на 2,7 %, у крыс, получавших смесь природных антиоксидантов, – почти не изменился, а у животных, получавших экстракт расторопши, – снизился на 5,0 %.

Динамика индекса Кребса у крыс контрольной и экспериментальных групп представлена на рисунке 17. Индекс Кребса косвенно характеризует, во-первых,

активность фагоцитарных реакций и факторов специфического иммунитета, во-вторых, их участие в поддержании общей реактивности организма.

Индекс Кребса в контрольной группе животных на 37-е сутки опыта вырос на 24,4 % от исходного значения. В группе крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики, индекс Кребса повысился на 17,1 % ($U = 123,6000$, $Z = -3,235512$ при $p = 0,002332$) от исходного значения, у животных, получавших экстракт пижмы, – повысился на 14,3 % ($U = 192,4000$, $Z = -3,541141$ при $p = 0,000421$), у крыс, получавших смесь природных антиоксидантов, – повысился на 9,5 % ($U = 121,7000$, $Z = -2,347514$ при $p = 0,003241$), а у животных, получавших экстракт расторопши, – повысился на 17,1 % ($U = 141,8000$, $Z = -2,378441$ при $p = 0,002174$). Повышение индекса Кребса является следствием функционального угнетения пролиферативной активности костного мозга и выражается в виде увеличения числа палочкоядерных нейтрофилов.

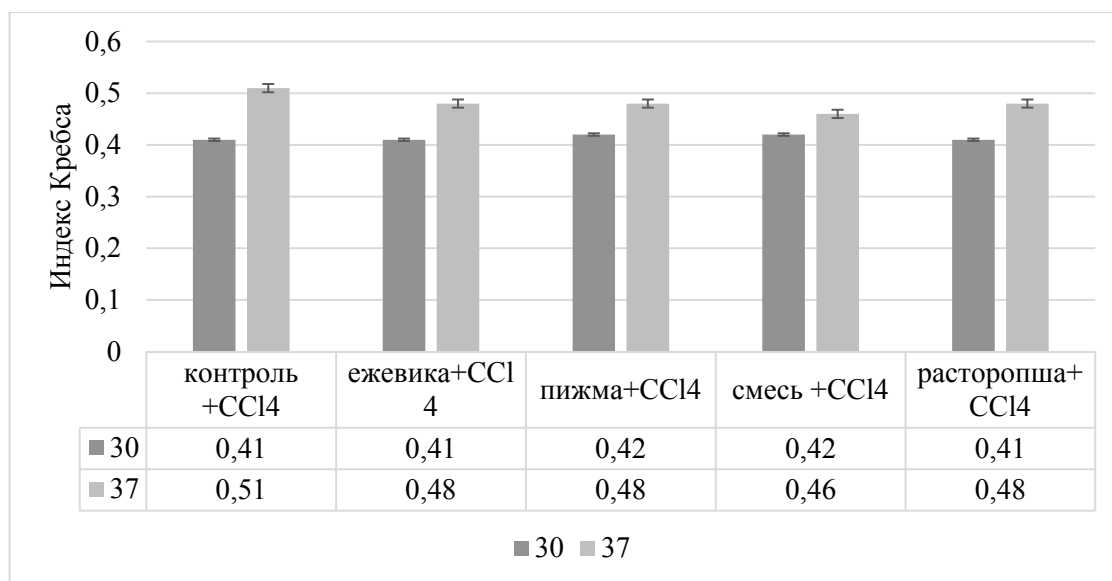


Рисунок 17 – Динамика индекса Кребса у крыс контрольной и экспериментальных групп на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации.

Проведенные исследования показали ряд особенностей динамики интегральных гематологических индексов в результате реактивных изменений состава крови крыс в ответ на нагрузку антиоксидантами. Отсутствие достоверных

отличий в динамике индекса Кребса, индекса Бредекка и ИСЛЭ возможно связано с коротким периодом нагрузки животных природными антиоксидантами и поэтому не отразилось в работе звеньев специфического и неспецифического иммунного ответа. Достоверные отличия ИСНМ и ИСЛМ по отношению к исходным значениям индексов у крыс, получавших антиоксиданты по отдельности и смесь, позволяют судить об интенсификации некоторых иммунных механизмов у животных. Полученные в наших исследованиях данные показывают возможность применения лейкоцитарных индексов для характеристики состояния иммунной системы крыс.

3.8 Реактивные приспособления биохимического состава крови крыс к гипероксидации при нагрузке антиоксидантами

Результаты исследования биохимического состава крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами при экспериментальной гипероксидации представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Биохимические показатели периферической крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами при экспериментальной гипероксидации ($M \pm m$)

Показатель, $M \pm m$	Группы экспериментальных животных					
	Интактные	Контроль + CCl_4	Экстракт ежевика + CCl_4	Экстракт пижмы + CCl_4	Смесь + CCl_4	Расторопша+ CCl_4
Щел. фосфатаза, МЕ/л	834,91 ± 27,7	989,54 ± 35,62 ¹	931,23 ± 30,17 ¹	904,37 ± 31,30 ²	885,69 ± 33,21 ²	917,34 ± 33,94 ¹
Амилаза, МЕ/л	415,53 ± 14,54	2985,42 ± 95,53 ¹	2249,71 ± 80,98 ^{1,2}	2169,42 ± 73,76 ^{1,2}	2017,85 ± 72,64 ^{1,2}	2316,36 ± 71,81 ^{1,2}
Альбумин, г/л	39,37 ± 1,25	29,69 ± 1,14 ¹	31,16 ± 0,99 ¹	32,79 ± 1,25 ^{1,2}	35,42 ± 1,34 ^{1,2}	32,66 ± 1,21 ¹
Общий белок, г/л	64,68 ± 2,33	56,14 ± 1,79 ¹	58,71 ± 1,85 ¹	58,89 ± 1,64	61,87 ± 2,15 ²	60,25 ± 2,09
Глюкоза, ммоль/л	6,51 ± 0,21	9,38 ± 0,34 ¹	8,02 ± 0,28 ^{1,2}	8,34 ± 0,25 ^{1,2}	7,48 ± 0,26 ^{1,2}	8,45 ± 0,31 ^{1,2}
Креатинин, ммоль/л	0,08 ± 0,003	0,34 ± 0,008 ¹	0,28 ± 0,010 ^{1,2}	0,29 ± 0,009 ^{1,2}	0,26 ± 0,007 ^{1,2}	0,22 ± 0,011 ^{1,2}
Мочевина, ммоль/л	3,62 ± 0,13	14,58 ± 0,51 ^{1,2}	11,34 ± 0,41 ^{1,2}	9,51 ± 0,48 ^{1,2}	9,85 ± 0,39 ^{1,2}	9,22 ± 0,47 ^{1,2}

Окончание таблицы 8

Показатель, M ± m	Группы экспериментальных животных					
	Интактные	Контроль + CCl ₄	Экстракт ежевика + CCl ₄	Экстракт пижмы + CCl ₄	Смесь + CCl ₄	Расторопша+ CCl ₄
АСТ, МЕ/л	72,86 ± 2,55	186,64 ± 6,72 ¹	158,25 ± 5,69 ^{1,2}	164,12 ± 6,24 ^{1,2}	149,51 ± 6,74 ^{1,2}	168,37 ± 5,72 ^{1,2}
АЛТ, МЕ/л	81,25 ± 2,93	136,47 ± 4,36 ¹	124,67 ± 5,21 ¹	120,87 ± 4,87 ^{1,2}	103,69 ± 4,15 ^{1,2}	126,44 ± 5,03 ¹
Билирубин общий, мкмоль/л	2,83 ± 0,09	4,23 ± 0,14 ¹	3,94 ± 0,11 ¹	3,81 ± 0,10 ^{1,2}	3,51 ± 0,12 ^{1,2}	3,78 ± 0,13 ¹
ГГТ, е/л	2,25 ± 0,08	3,86 ± 0,13 ¹	3,41 ± 0,16 ^{1,2}	3,37 ± 0,12 ^{1,2}	3,29 ± 0,14 ^{1,2}	3,49 ± 0,11 ^{1,2}

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных; ² – по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

В ходе эксперимента установлено при инициировании гипероксидации возрастание концентрации щелочной фосфатазы, свидетельствующее об изменении функционального состояния гепатоцитов. Так, в контрольной группе крыс концентрация щелочной фосфатазы в крови была выше, чем у интактных животных на 18,5 % ($U = 154,1000$, $Z = -2,547812$ при $p = 0,003124$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, концентрация щелочной фосфатазы увеличилась на 11,5 % ($U = 136,5000$, $Z = -2,475211$ при $p = 0,000233$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 8,3 %; у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 6,1 %; а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 9,9 % ($U = 146,2000$, $Z = -3,512241$ при $p = 0,003127$). При этом следует отметить, что концентрация ЩФ в крови крыс, получавших растительные экстракты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 5,9 %; у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 8,6 % ($U = 161,9000$, $Z = -2,859965$ при $p = 0,000012$);

у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 10,5 % ($U = 149,1000$, $Z = -3,623352$ при $p = 0,004111$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 7,3 %.

Установлено, что в контрольной группе крыс с индуцированной гипероксидацией концентрация амилазы в крови крыс увеличилась в 7,2 раза ($U = 95,7000$, $Z = -3,545251$ при $p = 0,002147$) по сравнению с показателями интактных животных, а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, концентрация амилазы в крови увеличилась в 5,4 раза ($U = 141,3000$, $Z = -2,865581$ при $p = 0,000017$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась в 5,2 раза ($U = 185,6000$, $Z = -3,333232$ при $p = 0,002121$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – в 4,9 раза ($U = 129,2000$, $Z = -3,456626$ при $p = 0,000000$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась в 5,6 раза ($U = 133,1000$, $Z = -3,635581$ при $p = 0,003224$). При этом следует отметить, что концентрация амилазы в крови крыс, получавших антиоксиданты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 24,6 % ($U = 138,1000$, $Z = -2,369551$ при $p = 0,003223$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 27,3 % ($U = 148,2000$, $Z = -4,143269$ при $p = 0,003985$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – меньше на 32,4 % ($U = 126,40000$, $Z = -3,328541$ при $p = 0,000174$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 22,4 % ($U = 161,3000$, $Z = -4,569325$ при $p = 0,000011$). Повышение амилазы в крови экспериментальных животных свидетельствует также о возможном нарушении функционального состояния клеток поджелудочной железы.

Установлено, что при иницировании гипероксидации концентрация альбумина в крови уменьшается, что свидетельствует о дозонологическом состоянии печени. Так, в контрольной группе крыс концентрация альбумина в крови была ниже, чем у интактных животных на 24,6 % ($U = 161,5000$,

$Z = -3,547747$ при $p = 0,000325$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, концентрация альбумина снизилась на 20,8 % ($U = 151,70000$, $Z = -3,489951$ при $p = 0,003333$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы, – снизилась на 16,7 % ($U = 111,9000$, $Z = -3,298747$ при $p = 0,000259$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – на 10,0 % ($U = 174,30000$, $Z = -2,295413$ при $p = 0,000012$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – снизилась на 17,0 % ($U = 121,6000$, $Z = -3,632142$ при $p = 0,000412$). При этом следует отметить, что концентрация альбумина в крови крыс, получавших растительные антиоксиданты, была больше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – больше на 4,9 %; у животных, получавших экстракт пижмы, – больше на 10,4 % ($U = 147,9000$, $Z = -4,235512$ при $p = 0,000012$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 19,3 % ($U = 148,9000$, $Z = -3,489512$ при $p = 0,003311$); а у крыс, получавших экстракт пижмы, – больше на 10,0 % ($U = 133,3000$, $Z = -3,695471$ при $p = 0,000022$).

При иницировании гипероксидации концентрация общего белка в крови, аналогично концентрации альбумина, снижается. Так, в контрольной группе крыс концентрация общего белка в крови была ниже, чем у интактных животных на 13,2 % ($U = 171,1000$, $Z = -3,369523$ при $p = 0,000000$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, концентрация общего белка снизилась на 9,2 % ($U = 101,3000$, $Z = -3,695212$ при $p = 0,003222$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – снизилась на 8,9 %; у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 4,3 %; а у животных, получавших экстракт расторопши, – снизилась на 6,8 %. При этом следует отметить, что концентрация общего белка в крови крыс, получавших растительные экстракты, была больше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс,

получавших экстракт ежевики, – больше на 4,5 %; у животных, получавших экстракт пижмы, – больше на 4,9 %; у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 10,2 % ($U = 163,2000$, $Z = -2,23512$ при $p = 0,000333$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 7,3 %.

При иницировании гипероксидации установлено повышение концентрации глюкозы в крови животных. Так, в контрольной группе крыс концентрация глюкозы в крови была больше, чем у интактных животных, на 44,1 % ($U = 141,9000$, $Z = -3,744411$ при $p = 0,002255$); а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, концентрация глюкозы увеличилась на 23,2 % ($U = 104,2000$, $Z = -3,637881$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 28,1 % ($U = 178,6000$, $Z = -3,122111$ при $p = 0,000111$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 14,9 % ($U = 135,1000$, $Z = -3,841121$ при $p = 0,000421$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 29,8 % ($U = 157,6000$, $Z = -2,632285$ при $p = 0,003227$). При этом следует отметить, что концентрация глюкозы в крови крыс, получавших антиоксиданты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 14,5 % ($U = 163,1000$, $Z = -2,599822$ при $p = 0,004233$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 11,1 % ($U = 102,2000$, $Z = -3,257447$ при $p = 0,000017$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 20,2 % ($U = 117,3000$, $Z = -3,278851$ при $p = 0,003951$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 9,9 % ($U = 194,40000$, $Z = -4,333211$ при $p = 0,003692$).

При токсической гипероксидации печени тетрахлорметаном установлено повышение концентрации креатинина в крови. Так, в контрольной группе крыс концентрация креатинина в крови была больше, чем у интактных животных, на 325 % ($U = 107,2000$, $Z = -3,189634$ при $p = 0,000000$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана,

концентрация креатинина увеличилась на 250 % ($U = 119,5000$, $Z = -3,322541$ при $p = 0,003333$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 262,5 % ($U = 112,10000$, $Z = -3,725811$ при $p = 0,000621$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 225 % ($U = 128,8000$, $Z = -2,489657$ при $p = 0,000326$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 175 % ($U = 102,1000$, $Z = -3,547111$ при $p = 0,000111$). При этом следует отметить, что концентрация креатинина в крови крыс, получавших растительные экстракты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 17,6 % ($U = 145,8000$, $Z = -3,214111$ при $p = 0,000000$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 14,7 % ($U = 101,50000$, $Z = -3,632141$ при $p = 0,000324$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 23,5 % ($U = 102,3000$, $Z = -3,865471$ при $p = 0,000332$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 35,3 % (Manna-Whitney: $U = 111,1000$, $Z = -3,122211$ при $p = 0,000274$).

При токсической гипероксидации печени тетрахлолметаном установлено повышение концентрации мочевины в крови крыс. Так, в контрольной группе крыс концентрация мочевины в крови была больше, чем у интактных животных, на 302,7 % ($U = 184,9000$, $Z = -3,624711$ при $p = 0,000421$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстрактом ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлолметана, концентрация мочевины увеличилась на 213,3 % ($U = 119,1000$, $Z = -3,743261$ при $p = 0,000274$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 162,7 % ($U = 161,4000$, $Z = -3,378121$ при $p = 0,000364$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 172,1 % ($U = 126,6000$, $Z = -2,763288$ при $p = 0,000443$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 154,7 % ($U = 103,8000$, $Z = -3,152211$ при $p = 0,000000$). При этом следует отметить, что концентрация мочевины в крови крыс, получавших антиоксиданты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше

на 22,2 % ($U = 181,1000$, $Z = -3,459631$ при $p = 0,000000$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 34,8 % ($U = 105,1000$, $Z = -3,398744$ при $p = 0,000222$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 32,4 % ($U = 133,3000$, $Z = -3,774362$ при $p = 0,000221$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 36,8 % ($U = 177,7000$, $Z = -3,444254$ при $p = 0,000112$).

При токсической гипероксидации печени тетрахлорметаном установлено повышение активности трансаминаз. Увеличение активностей АЛТ и АСТ характерно для цитолиза – одного из основных патологических синдромов изменения функционального состояния печени. Так, в контрольной группе крыс активность АСТ в крови была больше, чем у интактных животных, на 156,2 % ($U = 141,4000$, $Z = -3,888981$ при $p = 0,000114$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, активность АСТ увеличилась на 117,2 % ($U = 149,60000$, $Z = -3,374261$ при $p = 0,004222$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 125,3 % ($U = 105,5000$, $Z = -3,637551$ при $p = 0,000111$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 105,2 % ($U = 151,8000$, $Z = -3,452522$ при $p = 0,000341$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 131,1 % ($U = 123,6000$, $Z = -3,148325$ при $p = 0,000374$). При этом следует отметить, что активность АСТ в крови крыс, получавших антиоксиданты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 15,2 % ($U = 101,1000$, $Z = -3,693328$ при $p = 0,000317$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 12,1 % ($U = 183,1000$, $Z = -3,632171$ при $p = 0,000371$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 19,9 % ($U = 191,6000$, $Z = -3,617241$ при $p = 0,000435$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 9,8 % ($U = 113,3000$, $Z = -3,674111$ при $p = 0,000000$).

В контрольной группе крыс активность АЛТ в крови была больше, чем у интактных животных, на 67,9 % ($U = 149,9000$, $Z = -3,621141$ при $p = 0,000222$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение

30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, активность АЛТ увеличилась на 53,4 % ($U = 167,5000$, $Z = -3,377411$ при $p = 0,00397$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 48,8 % ($U = 117,30000$, $Z = -3,489511$ при $p = 0,000012$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 27,6 % ($U = 123,6000$, $Z = -3,175545$ при $p = 0,000412$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 55,6 % ($U = 108,2000$, $Z = -3,725411$ при $p = 0,002114$). При этом следует отметить, что активность АЛТ в крови крыс, получавших антиоксиданты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 8,64 %; у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 11,4 % ($U = 157,6000$, $Z = -3,322322$ при $p = 0,000147$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 24,0 % ($U = 131,40000$, $Z = -3,354441$ при $p = 0,000111$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 7,3 %.

В контрольной группе крыс концентрация общего билирубина в крови была больше, чем у интактных животных, на 49,5 % ($U = 144,6000$, $Z = -3,855514$ при $p = 0,000341$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, концентрация общего билирубина увеличилась на 39,2 % ($U = 114,1000$, $Z = -3,344711$ при $p = 0,000118$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 34,6 % ($U = 155,6000$, $Z = -3,217711$ при $p = 0,000000$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 24,0 % ($U = 184,1000$, $Z = -3,511141$ при $p = 0,000333$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 33,6 % ($U = 101,3000$, $Z = -2,235512$ при $p = 0,000014$). При этом следует отметить, что концентрация общего билирубина в крови крыс, получавших антиоксиданты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 6,86 %; у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 9,9 % ($U = 159,7000$, $Z = -3,327741$ при $p = 0,000287$); у животных, получавших смесь растительных

экстрактов, – меньше на 17,0 % ($U = 183,6000$, $Z = -3,374447$ при $p = 0,000127$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 10,6 %.

В контрольной группе крыс концентрация гамма-глутамилтранспептидазы в крови крыс была больше, чем у интактных животных, на 71,6 % ($U = 191,1000$, $Z = -3,374111$ при $p = 0,00000$), а у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики в течение 30 суток до индуцирования гипероксидации и 6 суток параллельно с введением тетрахлорметана, концентрация ГГТ увеличилась на 51,6 % ($U = 105,6000$, $Z = -3,163333$ при $p = 0,000379$) по сравнению с интактными животными: у крыс, получавших экстракт пижмы, – увеличилась на 49,8 % ($U = 137,5000$, $Z = -3,444241$ при $p = 0,000189$); у животных, получавших смесь антиоксидантов, – на 46,2 % ($U = 175,6000$, $Z = -3,111142$ при $p = 0,000271$); а у животных, получавших экстракт расторопши, – увеличилась на 55,1 % ($U = 101,1000$, $Z = -3,388871$ при $p = 0,000111$). При этом следует отметить, что концентрация ГГТ в крови крыс, получавших антиоксиданты, была меньше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – меньше на 11,7 % ($U = 136,4000$, $Z = -2,455521$ при $p = 0,000291$); у животных, получавших экстракт пижмы, – меньше на 12,7 % ($U = 163,8000$, $Z = -3,394511$ при $p = 0,000012$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – меньше на 14,8 % ($U = 188,1000$, $Z = -2,888425$ при $p = 0,000371$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – меньше на 9,6 % ($U = 103,1000$, $Z = -3,766981$ при $p = 0,000341$).

Введение в организм тетрахлорметана оказывает выраженное токсическое действие на весь организм в целом и на печень, инициируя гипероксидацию. Доказательством этого служит возрастание активности ферментов – маркеров работы печени, а также амилазы, концентрации глюкозы, мочевины и креатинина в крови, что, вероятно, связано с токсическим действием CCl_4 на поджелудочную железу и почки. Введение в организм дополнительно антиоксидантов способствует снижению интенсивного влияния тетрахлорметана на организм и восстановлению нарушенного гомеостаза, и наиболее выраженный положительный эффект наблюдается при применении смеси растительных экстрактов.

3.9 Исследование гепатозащитного действия растительных экстрактов

Оценку эффективности гепатозащитного действия растительных экстрактов проводили по изучению в печени интактных, контрольных и подопытных животных содержания микросомального белка и цитохрома P450, а также по показателям скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P450, – р-гидроксилирования анилина, N-деметилирования диметиланилина и скорости реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы, отражающих активность детоксицирующей микросомальной системы печени.

Результаты исследования концентрации микросомального белка и цитохрома P450 представлены на рисунке 18.

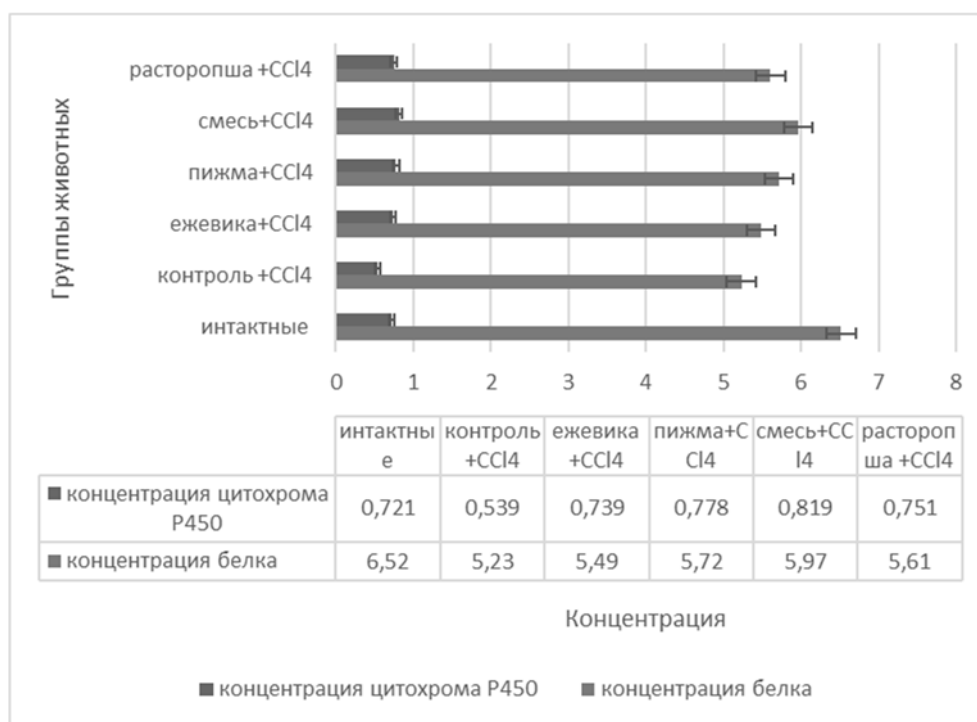


Рисунок 18 – Концентрации микросомального белка и цитохрома P450 в тканях печени крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами и моделирования гипероксидации.

Согласно представленным данным, в микросомах печени крыс контрольной группы с экспериментальной гипероксидацией без терапии по сравнению с интактными животными установлено уменьшение концентрации микросомального

белка на 19,8 % ($U = 163,1000$, $Z = -3,341117$ при $p = 0,000116$) и уменьшение концентрации цитохрома P450 на 25,2 % ($U = 104,9000$, $Z = -3,327741$ при $p = 0,0003117$), что свидетельствует о токсической гипероксидации печени тетрахлорметаном. У животных экспериментальных групп также наблюдалось уменьшение концентрации микросомального белка в тканях печени (мг белка/мл суспензии) по сравнению с интактными крысами, но не столь значительное, как в контроле. Так, концентрация микросомального белка в печени крыс, получавших экстракт пижмы, снизилась по сравнению с показателями 1 группы на 12,3 % ($U = 197,5000$, $Z = -3,327722$ при $p = 0,003227$); у животных, получавших экстракт ежевики, – снизилась на 15,8 % ($U = 127,4000$, $Z = -3,262221$ при $p = 0,002211$); у крыс, получавших экстракт расторопши, снизилась на 13,9 % ($U = 137,6000$, $Z = -3,111433$ при $p = 0,001711$); а у крыс, получавших смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1, – снизилась на 8,4 % ($U = 117,8000$, $Z = -3,277744$ при $p = 0,002411$). Стоит отметить, что в экспериментальных группах при снижении общего количества микросомального белка в тканях печени наблюдается в основном увеличение содержания цитохрома P450 (нмоль цитохрома P450/мгбелка). Так, концентрация цитохрома P450 в печени крыс, получавших экстракт пижмы, возросла по сравнению с показателями 1 группы на 7,9 % ($U = 154,1000$, $Z = -3,422231$ при $p = 0,000012$); у животных, получавших экстракт ежевики, была незначительно выше, чем в контроле; у крыс, получавших экстракт расторопши, – возросла на 4,4 %; а у крыс, получавших смесь экстрактов, – возросла на 13,6 % ($U = 157,3000$, $Z = -3,986666$ при $p = 0,003333$). Наблюдаемая тенденция к повышению содержания доли цитохрома P450 на мг белка может свидетельствовать о компенсаторной индукции цитохрома P450 в печени под действием изучаемых растительных антиоксидантов.

Полученные результаты, отражающие содержание цитохрома P450 в общем количестве микросомального белка, свидетельствует о более эффективном действии смеси природных растительных экстрактов по сравнению с эталонным экстрактом расторопши.

Результаты реактивных изменений скорости ферментативных реакций, катализируемых цитохромом P450 и ГТФ в условиях модели гипероксидации в тканях печени крыс на фоне нагрузки природными растительными экстрактами, представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Скорость ферментативных реакций, катализируемых цитохромом P450 и ГТФ в условиях модели гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами

Группы животных	Активность ГТФ, нмоль/мг белка мин, $M \pm m$	Деметилирование ДМА, нмоль НАДФН/мг белка мин, $M \pm m$	Гидроксированное анилина, нмоль НАДФН/мг белка мин, $M \pm m$
Интактные	$123,5 \pm 4,45$	$7,25 \pm 0,26$	$3,22 \pm 0,12$
Контроль + CCl_4	$112,8 \pm 3,61^1$	$6,91 \pm 0,25^1$	$2,78 \pm 0,09^1$
Экстракт ежевики ореха + CCl_4	$137,6 \pm 5,09^{1,2}$	$7,69 \pm 0,26^2$	$3,57 \pm 0,12^{1,2}$
Экстракт пижмы + CCl_4	$149,2 \pm 5,22^{1,2}$	$7,82 \pm 0,22^2$	$3,84 \pm 0,13^{1,2}$
Смесь + CCl_4	$168,4 \pm 5,39^{1,2}$	$7,93 \pm 0,21^{1,2}$	$4,13 \pm 0,14$
Экстракт расторопши + CCl_4	$141,9 \pm 4,97^{1,2}$	$7,64 \pm 0,23^2$	$3,61 \pm 0,10^{1,2}$

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных; ² – по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

Для оценки гепатозащитных свойств природных антиоксидантов большое значение имеет изучение их влияния на скорость реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы, так как она принимает непосредственное участие в конъюгации токсических продуктов, образующихся в монооксигеназной системе цитохрома P450 на первом этапе биотрансформации.

Согласно представленным данным скорость реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы на фоне гипероксидации у животных контрольной группы снизилась по сравнению с интактными крысами на 8,7 % ($U = 167,6000$, $Z = -3,169888$ при $p = 0,003332$), однако в других экспериментальных группах при дополнительной нагрузке природными антиоксидантами установлено увеличение скорости данной реакции по сравнению с животными контрольной группы. Так,

скорость реакции конъюгации глутатионтрансферазы в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы на фоне гипероксидации, была больше на 20,8 % ($U = 171,5000$, $Z = -3,411411$ при $p = 0,003177$) по сравнению с интактными крысами и больше на 32,3 % ($U = 178,9000$, $Z = -3,778877$ при $p = 0,000013$) по сравнению с животными контрольной группы. Скорость реакции конъюгации глутатионтрансферазы в тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики на фоне гипероксидации, была больше на 11,4 % ($U = 149,6000$, $Z = -3,222422$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными крысами и больше на 21,9 % ($U = 176,4000$, $Z = -3,511716$ при $p = 0,000421$) по сравнению с животными контрольной группы. Скорость реакции конъюгации глутатионтрансферазы в тканях печени крыс, получавших экстракт расторопши на фоне гипероксидации, была больше на 14,9 % ($U = 171,6000$, $Z = -3,723332$ при $p = 0,000375$) по сравнению с интактными крысами и больше на 25,8 % ($U = 124,1000$, $Z = -3,733332$ при $p = 0,004112$) по сравнению с животными контрольной группы. Скорость реакции конъюгации глутатионтрансферазы в тканях печени крыс, получавших смесь растительных экстрактов на фоне гипероксидации, была больше на 36,4 % ($U = 193,6000$, $Z = -3,744432$ при $p = 0,000317$) по сравнению с интактными крысами и больше на 49,3 % ($U = 148,4000$, $Z = -3,553225$ при $p = 0,000521$) по сравнению с животными контрольной группы.

Скорость реакции N-деметилирования диметиланилина в тканях печени крыс контрольной группы на фоне гипероксидации достоверно снизилась на 4,7 % ($U = 131,4000$, $Z = -3,633321$ при $p = 0,002441$) по сравнению с интактными животными, однако в других экспериментальных группах при дополнительной нагрузке природными антиоксидантами установлено увеличение скорости данной реакции по сравнению с животными контрольной группы. Скорость реакции N-деметилирования диметиланилина в тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы на фоне гипероксидации, была больше на 7,9 % ($U = 193,8000$, $Z = -3,733221$ при $p = 0,001247$) по сравнению с интактными крысами и больше на 13,2 % ($U = 144,4000$, $Z = -2,854111$ при $p = 0,000000$) по сравнению с животными контрольной группы. Скорость реакции N-деметилирования диметиланилина в

тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики на фоне гипероксидации, была больше на 6,1 % ($U = 161,7000$, $Z = -2,822474$ при $p = 0,000013$) по сравнению с интактными крысами и больше на 11,3 % ($U = 154,1000$, $Z = -4,233321$ при $p = 0,000417$) по сравнению с животными контрольной группы. Скорость реакции N-деметилирования диметиланилина в тканях печени крыс, получавших экстракт расторопши на фоне гипероксидации, была больше на 5,4 % ($U = 114,1000$, $Z = -3,511211$ при $p = 0,000461$) по сравнению с интактными крысами и больше на 10,6 % ($U = 177,1000$, $Z = -3,347741$ при $p = 0,000011$) по сравнению с животными контрольной группы.

Скорость реакции N-деметилирования диметиланилина в тканях печени крыс, получавших смесь природных антиоксидантов на фоне гипероксидации, была больше на 9,4 % ($U = 188,4000$, $Z = -3,222141$ при $p = 0,000311$) по сравнению с интактными крысами и больше на 14,8 % ($U = 166,7000$, $Z = -3,511141$ при $p = 0,000034$) по сравнению с животными контрольной группы.

По данным, представленным в таблице 8, видно, что в тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией по сравнению с интактными животными происходит снижение скорости гидроксилирования анилина на 13,7 % ($U = 162,7000$, $Z = -2,422231$ при $p = 0,000000$), что свидетельствует о токсической гипероксидации печени тетрахлорметаном. Природные антиоксиданты, прием которых осуществлялся в течение 30 суток перед инициированием гипероксидации и в течение 6 дней введения тетрахлорметана, статистически значимо увеличивали специфическую гидроксилазную активность цитохрома P450, но слабо влияли на его деметилазную активность.

Так, в тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы на фоне гипероксидации, установлено увеличение скорости реакции гидроксилирования анилина на 19,3 % ($U = 176,4000$, $Z = -3,211141$ при $p = 0,000113$) по сравнению с интактными животными и на 38,1 % ($U = 183,4000$, $Z = -3,766333$ при $p = 0,000117$) по сравнению с животными контрольной группы, хотя у крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией установлено снижение скорости данной реакции. В тканях печени крыс, получавших в качестве

дополнительной нагрузки экстракт ежевики, наблюдалась аналогичная тенденция – скорость реакции гидроксилирования анилина на 10,9 % ($U = 194,50000$, $Z = -2,752114$ при $p = 0,000009$) была больше по сравнению с интактными животными и на 28,4 % ($U = 137,6000$, $Z = -3,944471$ при $p = 0,000174$) больше по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, скорость реакции гидроксилирования анилина на 12,1 % ($U = 167,5000$, $Z = -2,674447$ при $p = 0,003331$) была больше по сравнению с интактными животными и на 29,9 % ($U = 111,1000$, $Z = -3,632213$ при $p = 0,000015$) больше по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, скорость реакции гидроксилирования анилина на 28,3 % ($U = 184,1000$, $Z = -3,744414$ при $p = 0,000116$) была больше по сравнению с интактными животными и на 48,6 % ($U = 121,3000$, $Z = -3,726662$ при $p = 0,000000$) больше по сравнению с животными контрольной группы.

При экспериментальном моделировании гипероксидации в тканях печени крыс на модели токсического гепатита, инициированного тетрахлорметаном, подтверждено токсическое действие CCl_4 на микросомальные ферменты печени, проявляющееся уменьшением количества цитохрома P450 и угнетением активности ферментов, катализирующих реакции гидроксилирования и конъюгации. Экспериментально установлено, что изучаемые экстракты в условиях модели гипероксидации у крыс обладают в разной степени гепатопротекторными и детоксицирующими свойствами, и наиболее выраженный эффект установлен при использовании смеси растительных экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1.

3.10 Исследование репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени и плазме крови крыс при нагрузке растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации

Метаболические нарушения, возникающие на фоне тетрахлорметана, способны изменять продукцию про- и противовоспалительных цитокинов клетками иммунной системы. Синусоидальным клеткам печени, большую часть которых составляют макрофаги, принадлежит важная роль как в поддержке воспалительной реакции, так и в регуляции регенерации.

Синусоидальные эндотелиальные клетки являются многочисленной непаренхиматозной клеточной популяцией печени и представлены четырьмя основными разновидностями, имеющими мезенхимальное происхождение: лейкоциты, эндотелиоциты, клетки Ито, клетки Купфера или фиксированные макрофаги. Синусоидальные клетки выполняют роль «барьера» в печеночных синусоидах, обеспечивают фильтрацию, эндоцитоз, презентацию антигенов и привлечение лейкоцитов к месту повреждения.

Основными факторами, регулирующими воспалительный процесс и регенерацию, являются цитокины, локально выделяющиеся клетками моноцитарно-макрофагального ряда в очаг повреждения. Такие цитокины, как $TNF\alpha$, IL-1, IL-6, ростовые факторы HGF, вырабатываемые синусоидальными клетками печени, запускают сигнальные пути трансдукции репликации ДНК (STAT3, MAPK). Ростовые факторы PDGF, IGF-1, HGF, TGF- β , синтезируемые синусоидальными клетками, снижают степень апоптоза гепатоцитов, уменьшают продукцию оксида азота и активных форм кислорода. Вышеперечисленные факторы способны усиливать межклеточные взаимодействия клеток печени, восстанавливать функциональную активность сохранившихся и вновь образованных гепатоцитов.

Результаты исследования динамики синусоидальных клеток в норме и на фоне нагрузки растительными экстрактами при инициировании гипероксидации тетрахлорметаном представлены на рисунке 19.

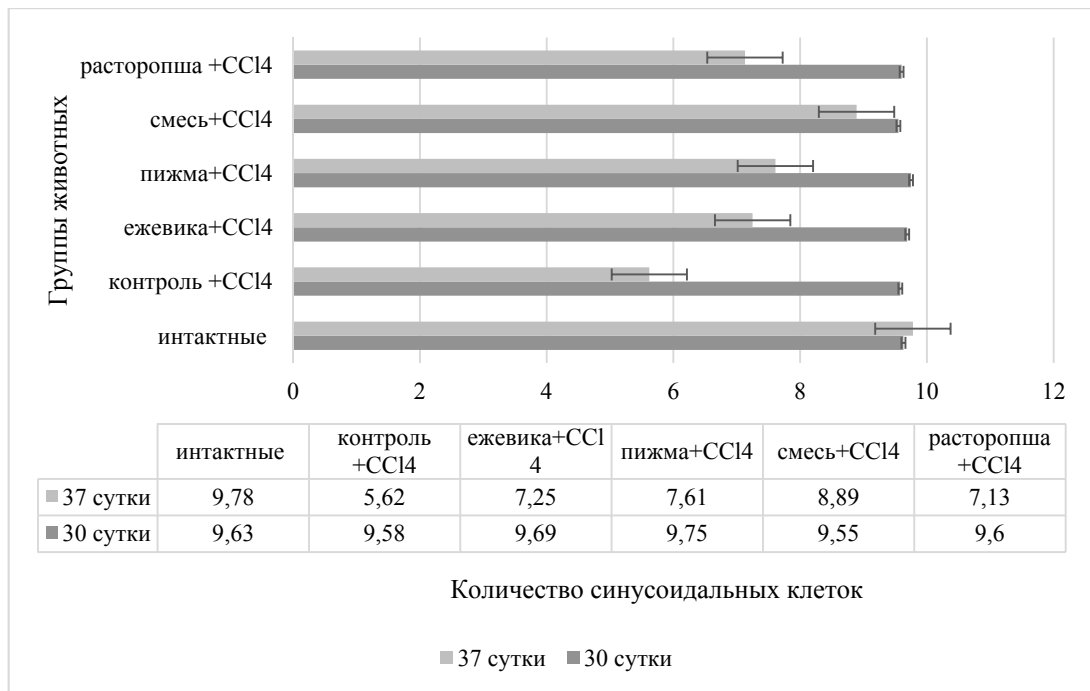


Рисунок 19 – Динамика синусоидальных клеток в норме и на фоне нагрузки растительными экстрактами при инициировании гипероксидации тетрахлорметаном.

По данным, представленным на рисунке, видно, что у интактных животных количество синусоидальных клеток в тканях печени было практически неизменным, в то время как на фоне введения в организм тетрахлорметана установлено снижение их количества на 41,3 % ($U = 157,8000$, $Z = -2,974471$ при $p = 0,000011$) от исходного значения и на 42,5 % ($U = 187,2000$, $Z = -3,684471$ при $p = 0,000017$) относительно показателей интактных животных на 37-е сутки. В экспериментальных группах крыс установлена аналогичная тенденция: в тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики, количество синусоидальных клеток в тканях печени снизилось на 25,2 % ($U = 101,80000$, $Z = -3,596625$ при $p = 0,0$) по сравнению с исходным значением и на 25,9 % ($U = 181,60000$, $Z = -4,152254$ при $p = 0,000221$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы, – уменьшилось на 21,9 % ($U = 191,9000$, $Z = -2,522711$ при $p = 0,0$) по сравнению с исходным значением и на 22,2 % ($U = 144,40000$, $Z = -2,392214$ при $p = 0,0$) по сравнению с интактными животными; у животных, получавших смесь растительных экстрактов, –

уменьшилось на 6,9 % ($U = 99,1000$, $Z = -2,822511$ при $p = 0,0$) по сравнению с исходным значением и на 9,1 % ($U = 161,90000$, $Z = -3,822172$ при $p = 0,0$) по сравнению с интактными животными; а у животных, получавших экстракт расторопши, – уменьшилось на 34,6 % ($U = 122,1000$, $Z = -2,81141$ при $p = 0,0$) по сравнению с исходным значением и на 27,1 % ($U = 158,90000$, $Z = -3,822141$ при $p = 0,0$) по сравнению с интактными животными. При этом следует отметить, что количество синусоидальных клеток в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, было больше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированной гипероксидацией: у крыс, получавших экстракт ежевики, – больше на 11,7 % ($U = 177,7000$, $Z = -3,822171$ при $p = 0,0$); у животных, получавших экстракт пижмы, – больше на 35,4 % ($U = 201,5000$, $Z = -2,933141$ при $p = 0,0$); у животных, получавших смесь растительных экстрактов, – больше на 58,2 % ($U = 147,65000$, $Z = -2,622174$ при $p = 0,0$); а у крыс, получавших экстракт расторопши, – больше на 26,9 % ($U = 113,5000$, $Z = -2,811411$ при $p = 0,0$).

Результаты исследования концентрации цитокинов в плазме крови экспериментальных животных в норме, на фоне нагрузки антиоксидантами при индуцированной гипероксидации представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Концентрация цитокинов в плазме крови крыс в норме и на фоне нагрузки растительными экстрактами при индуцированной гипероксидации

Показатель Группы	Цитокины, М ± m			
	TNF α , пг/мл	IL-6, пг/мл	IL-18, пг/мл	IL-10, пг/мл
Интактные	16,29 ± 0,59	40,19 ± 1,41	5,61 ± 0,21	3589,13 ± 122,0
Контроль + CCl ₄	571,36 ± 18,28 ¹	42,44 ± 1,51	8,42 ± 0,29 ¹	89,58 ± 2,93 ¹
Ежевика + CCl ₄	486,41 ± 17,15 ^{1,2}	51,28 ± 1,99 ^{1,2}	8,03 ± 0,33 ¹	829,32 ± 30,68 ^{1,2}
Пижма + CCl ₄	493,61 ± 17,29 ^{1,2}	59,31 ± 1,85 ^{1,2}	8,17 ± 0,27 ¹	993,69 ± 35,21 ^{1,2}
Смесь + CCl ₄	343,94 ± 11,62 ^{1,2}	68,93 ± 2,03 ^{1,2}	8,97 ± 0,39 ¹	1149,74 ± 47,12 ^{1,2}
Расторопша + CCl ₄	461,78 ± 16,62 ^{1,2}	58,25 ± 1,76 ^{1,2}	8,00 ± 0,41 ¹	803,41 ± 28,92 ^{1,2}

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных; ² – по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

По данным, представленным в таблице 9, видно, что изменение количества синусоидальных клеток печени при воздействии тетрахлорметаном отражается на продукции цитокинов. В плазме крови крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией по сравнению с интактными животными установлено увеличение концентрации TNF α в 35,1 раза ($U = 113,100$, $Z = -2,547741$ при $p = 0,000013$) на 37-е сутки опыта, что свидетельствует о токсической поражении печени тетрахлорметаном и интенсивной гипероксидации. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, также установлено увеличение концентрации TNF α в 29,9 раза ($U = 191,3000$, $Z = -3,844711$ при $p = 0,000001$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была на 14,8 % меньше ($U = 161,1000$, $Z = -2,744141$ при $p = 0,000291$) по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено увеличение концентрации TNF α в 30,3 раза ($U = 197,8000$, $Z = -3,147111$ при $p = 0,000119$) по сравнению с интактными животными, и в тоже время она была на 13,6 % меньше ($U = 125,6000$, $Z = -2,966744$ при $p = 0,000341$) по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь экстрактов ежевики и пижмы, концентрации TNF α была в 21,1 раза ($U = 119,1000$, $Z = -3,214333$ при $p = 0,000001$) больше по сравнению с интактными животными и на 39,8 % ($U = 138,7000$, $Z = -2,871114$ при $p = 0,000015$) меньше по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрации TNF α была в 28,3 раза ($U = 141,4000$, $Z = -3,841111$ при $p = 0,000012$) больше по сравнению с интактными животными и на 19,2 % ($U = 155,5000$, $Z = -2,345551$ при $p = 0,002215$) меньше по сравнению с животными контрольной группы.

Концентрация IL-6 в плазме крови крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией на 37-е сутки опыта была незначительно больше, чем у интактных животных. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, установлено

увеличение концентрации IL-6 на 27,5 % ($U = 154,1000$, $Z = -2,726622$ при $p = 0,000214$) по сравнению с интактными животными и увеличение на 26,1 % ($U = 112,20000$, $Z = -2,463332$ при $p = 0,003333$) по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено увеличение концентрации IL-6 на 47,5 % ($U = 181,7000$, $Z = -4,314447$ при $p = 0,002144$) по сравнению с интактными животными и увеличение на 39,8 % ($U = 137,5000$, $Z = -2,641117$ при $p = 0,003141$) по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь экстрактов, концентрация IL-6 была на 71,5 % ($U = 161,3000$, $Z = -2,974111$ при $p = 0,003711$) больше по сравнению с интактными животными и больше на 62,4 % ($U = 147,2000$, $Z = -2,172221$ при $p = 0,000371$) по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация IL-6 была на 44,9 % ($U = 172,20000$, $Z = -4,175521$ при $p = 0,000261$) больше по сравнению с интактными животными и на 37,3 % ($U = 119,9000$, $Z = -2,863322$ при $p = 0,000374$) больше по сравнению с животными контрольной группы.

Концентрация IL-18 в плазме крови крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией на 37-е сутки опыта была на 50,1 % ($U = 139,8000$, $Z = -2,647711$ при $p = 0,000000$) больше, чем у интактных животных. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, установлено увеличение концентрации IL-18 на 43,1 % ($U = 141,10000$, $Z = -3,647711$ при $p = 0,000371$) по сравнению с интактными животными и уменьшение на 4,6 % по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено увеличение концентрации IL-18 на 45,6 % ($U = 167,1000$, $Z = -2,921111$ при $p = 0,003111$) по сравнению с интактными животными, но при этом концентрация IL-18 была сопоставима с показателями животных контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация IL-18 была на 59,9 % ($U = 173,3000$,

$Z = -3,472221$ при $p = 0,000001$) больше по сравнению с интактными животными и больше на 6,5 % по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация IL-18 была на 42,6 % ($U = 136,50000$, $Z = -3,421114$ при $p = 0,000322$) больше по сравнению с интактными животными и на 4,9 % меньше по сравнению с животными контрольной группы.

В плазме крови крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией по сравнению с интактными животными установлено уменьшение концентрации IL-10 в 40,1 раза ($U = 129,8000$, $Z = -3,697111$ при $p = 0,000119$) на 37-е сутки опыта. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, также установлено уменьшение концентрации IL-10 в 4,3 раза ($U = 151,1000$, $Z = -4,523332$ при $p = 0,000114$) по сравнению с интактными животными и увеличение в 9,2 раза ($U = 147,5000$, $Z = -3,723361$ при $p = 0,000118$) по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено уменьшение концентрации IL-10 в 3,6 раза ($U = 191,1000$, $Z = -3,385541$ при $p = 0,002223$) по сравнению с интактными животными и увеличение в 11,1 раза ($U = 139,6000$, $Z = -3,347114$ при $p = 0,000001$) по сравнению с животными контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация IL-10 была в 3,1 раза ($U = 141,5000$, $Z = -2,498555$ при $p = 0,000131$) меньше по сравнению с интактными животными и в 12,8 раза ($U = 151,9000$, $Z = -2,555212$ при $p = 0,000174$) больше по сравнению с показателями животных контрольной группы. В плазме крови крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация IL-10 была в 4,5 раза ($U = 109,1000$, $Z = -3,268111$ при $p = 0,0000100$) меньше по сравнению с интактными животными и в 9,0 раза ($U = 146,6000$, $Z = -2,839222$ при $p = 0,001211$) больше по сравнению с животными контрольной группы.

Результаты исследования концентрации цитокинов в тканях печени экспериментальных животных в норме, на фоне нагрузки антиоксидантами при индуцированной гипероксидации представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Концентрация цитокинов в тканях печени крыс в норме и на фоне нагрузки антиоксидантами при индуцированной гипероксидации

Показатель Группы	Цитокины, М ± m						
	IL-1α, пг/мл	IL-6, пг/мл	IL-18, пг/мл	TNFα, пг/мл	IFNγ, пг/мл	IL-10, пг/мл	TGF-β, пг/мл
Интактные	951,25 ± 34,25	28,31 ± 0,88	562,31 ± 20,23	688,18 ± 24,78	951,31 ± 30,44	180,86 ± 6,51	822,25 ± 29,60
Контроль + CCl ₄	1493,62 ± 53,77 ¹	37,93 ± 1,17 ¹	783,43 ± 28,21 ¹	1162,13 ± 37,19 ¹	729,27 ± 23,34 ¹	512,37 ± 16,9 ¹	239,41 ± 8,37 ¹
Ежевика + CCl ₄	1295,84 ± 57,38 ^{1,2}	35,61 ± 1,13 ¹	703,21 ± 22,51 ^{1,2}	1039,22 ± 33,25 ^{1,2}	813,61 ± 26,04 ^{1,2}	380,59 ± 12,55 ^{1,2}	621,29 ± 21,75 ^{1,2}
Пижма + CCl ₄	1212,36 ± 61,28 ^{1,2}	36,30 ± 1,31 ¹	691,45 ± 23,52 ^{1,2}	997,81 ± 31,93 ^{1,2}	851,14 ± 27,24 ^{1,2}	336,44 ± 11,77 ^{1,2}	579,34 ± 18,54 ^{1,2}
Смесь + CCl ₄	1141,51 ± 60,24 ^{1,2}	30,81 ± 1,15 ^{1,2}	644,21 ± 22,56 ^{1,2}	871,72 ± 31,38 ^{1,2}	891,41 ± 30,31 ²	283,31 ± 9,06 ^{1,2}	731,53 ± 24,87 ^{1,2}
Расторопша + CCl ₄	1301,82 ± 63,71 ^{1,2}	36,20 ± 1,33 ¹	685,47 ± 23,99 ^{1,2}	981,16 ± 31,69 ^{1,2}	834,26 ± 30,03 ^{1,2}	345,82 ± 12,79 ^{1,2}	603,84 ± 19,32 ^{1,2}

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $p < 0,05$: ¹ – по сравнению с показателями интактных животных; ² – по сравнению с показателями контрольной группы крыс.

В тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией по сравнению с интактными животными установлено увеличение концентрации IL-1α на 57,0 % ($U = 122,300$, $Z = -3,475111$ при $p = 0,000293$) на 37-е сутки опыта. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, также установлено увеличение концентрации IL-1α на 36,2 % ($U = 147,7000$, $Z = -3,154411$ при $p = 0,000374$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была на 13,2 % меньше ($U = 154,10000$, $Z = -2,9655512$ при $p = 0,000217$) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено увеличение концентрации IL-1α на 27,5 % ($U = 117,2000$, $Z = -3,547444$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными животными, и в тоже время она была на 18,8 % меньше ($U = 168,1000$, $Z = -3,541111$ при $p = 0,000251$) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация IL-1α

была на 20,0 % ($U = 139,6000$, $Z = -3,594474$ при $p = 0,000173$) больше по сравнению с интактными животными и на 23,6 % ($U = 191,4000$, $Z = -3,154441$ при $p = 0,000417$) меньше по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация IL-1 α была на 36,9 % ($U = 101,2000$, $Z = -3,153321$ при $p = 0,000151$) больше по сравнению с интактными животными и на 12,8 % ($U = 167,5000$, $Z = -3,387441$ при $p = 0,001411$) меньше по сравнению с животными контрольной группы.

Концентрация IL-6 в тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией на 37-е сутки опыта была больше на 34,0 % ($U = 172,6000$, $Z = -3,582221$ при $p = 0,0$) по сравнению с показателями интактных животных. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, установлено увеличение концентрации IL-6 на 25,8 % ($U = 131,5000$, $Z = -2,412221$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была ниже на 6,1 % по сравнению с показателями контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено увеличение концентрации IL-6 на 28,2 % ($U = 147,6000$, $Z = -3,511733$ при $p = 0,003441$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была на 4,3 % меньше показателей крыс контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь экстрактов, концентрация IL-6 была на 8,8 % ($U = 116,5000$, $Z = -3,321114$ при $p = 0,000011$) больше по сравнению с интактными животными и меньше на 18,8 % ($U = 131,20000$, $Z = -3,746662$ при $p = 0,000261$) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация IL-6 была на 27,9 % ($U = 95,60000$, $Z = -3,356661$ при $p = 0,000000$) больше по сравнению с интактными животными и на 4,6 % меньше по сравнению с животными контрольной группы.

Концентрация IL-18 в тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией на 37-е сутки опыта была на 39,3 %

($U = 121,2000$, $Z = -3,362221$ при $p = 0,000415$) больше, чем у интактных животных. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, установлено увеличение концентрации IL-18 на 25,1 % ($U = 164,30000$, $Z = -2,937741$ при $p = 0,000215$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была меньше на 10,2 % ($U = 177,30000$, $Z = -4,569912$ при $p = 0,000001$) по сравнению с показателями контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено увеличение концентрации IL-18 на 22,9 % ($U = 136,6000$, $Z = -3,844741$ при $p = 0,002495$) по сравнению с интактными животными, но при этом концентрация IL-18 была на 11,7 % ($U = 161,1000$, $Z = -2,921114$ при $p = 0,000012$) меньше показателей контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация IL-18 была на 22,7 % ($U = 117,5000$, $Z = -3,432224$ при $p = 0,000181$) больше по сравнению с интактными животными и меньше на 17,8 % ($U = 184,7000$, $Z = -4,163331$ при $p = 0,003124$) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация IL-18 была на 21,9 % ($U = 186,3000$, $Z = -2,693222$ при $p = 0,002984$) больше по сравнению с интактными животными и на 12,5 % ($U = 122,70000$, $Z = -3,674114$ при $p = 0,000119$) меньше по сравнению с животными контрольной группы.

В тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией по сравнению с интактными животными установлено увеличение концентрации TNF α на 68,9 % ($U = 201,7000$, $Z = -2,694117$ при $p = 0,000217$) на 37-е сутки опыта. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, также установлено увеличение концентрации TNF α на 51,0 % ($U = 155,7000$, $Z = -3,463251$ при $p = 0,000119$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была на 10,6 % меньше ($U = 114,4000$, $Z = -4,176621$ при $p = 0,000017$) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция –

установлено увеличение концентрации TNF α на 44,9 % (U = 201,50000, Z = -3,561141 при p = 0,000421) по сравнению с интактными животными, и в тоже время она была на 14,1 % меньше (U = 133,3000, Z = -2,726221 при p = 0,000001) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация TNF α была на 26,7 % (U = 147,80000, Z = -3,563321 при p = 0,000491) больше по сравнению с интактными животными и на 24,9 % (U = 109,600, Z = -2,312174 при p = 0,000413) меньше по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация TNF α была на 42,5 % (U = 194,3000, Z = -3,163221 при p = 0,000217) больше по сравнению с интактными животными и на 15,6 % (U = 117,6000, Z = -2,371114 при p = 0,003111) меньше по сравнению с животными контрольной группы.

Концентрация IFN γ в тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией на 37-е сутки опыта была меньше на 23,3 % (U = 191,5000, Z = -3,533222 при p = 0,000019) по сравнению с показателями интактных животных. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, установлено уменьшение концентрации IFN γ на 14,5 % (U = 172,8000, Z = -3,782221 при p = 0,000227) по сравнению с интактными животными, и при этом она была больше на 11,6 % (U = 196,3000, Z = -4,371114 при p = 0,000026) по сравнению с показателями контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено снижение концентрации IFN γ на 10,5 % (U = 107,3000, Z = -3,752221 при p = 0,003333) по сравнению с интактными животными, и при этом она была на 16,7 % (U = 128,6000, Z = -4,163312 при p = 0,000184) больше показателей крыс контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация IFN γ была на 6,3 % меньше по сравнению с интактными животными и больше на 22,2 % (U = 149,50000, Z = -3,914711 при p = 0,000000) по сравнению с животными

контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрации IFN γ была на 12,3 % ($U = 203,8000$, $Z = -3,614771$ при $p = 0,000291$) меньше по сравнению с интактными животными и на 14,4 % ($U = 166,60000$, $Z = -4,523331$ при $p = 0,000371$) больше по сравнению с животными контрольной группы.

В тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией по сравнению с интактными животными установлено увеличение концентрации IL-10 в 2,8 раза ($U = 139,2000$, $Z = -3,496339$ при $p = 0,000013$) на 37-е сутки опыта. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, также установлено увеличение концентрации IL-10 в 2,1 раза ($U = 191,2000$, $Z = -3,496332$ при $p = 0,000011$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была на 25,7 % меньше ($U = 107,9000$, $Z = -3,322622$ при $p = 0,000297$) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено увеличение концентрации IL-10 в 1,9 раза ($U = 122,8000$, $Z = -3,496332$ при $p = 0,000321$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была на 34,3 % меньше ($U = 119,3000$, $Z = -4,396666$ при $p = 0,000022$) по сравнению с показателями контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация IL-10 была в 1,6 раза ($U = 129,6000$, $Z = -3,627711$ при $p = 0,000000$) больше по сравнению с интактными животными и на 44,7 % ($U = 177,1000$, $Z = -4,932211$ при $p = 0,000015$) меньше по сравнению с показателями животных контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация IL-10 была в 1,9 раза ($U = 162,5000$, $Z = -3,763321$ при $p = 0,000041$) больше по сравнению с интактными животными и на 32,5 % ($U = 151,6000$, $Z = -2,236662$ при $p = 0,000000$) меньше по сравнению с животными контрольной группы.

Концентрация TGF- β в тканях печени крыс контрольной группы с инициированной гипероксидацией на 37-е сутки опыта была в 3,4 раза меньше (U

= 149,1000, $Z = -3,633333$ при $p = 0,000333$) по сравнению с показателями интактных животных. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики на фоне гипероксидации, установлено уменьшение концентрации TGF- β на 24,4 % ($U = 193,3000$, $Z = -3,196621$ при $p = 0,000000$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была больше в 2,6 раза ($U = 181,2000$, $Z = -3,732221$ при $p = 0,000001$) по сравнению с показателями контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт пижмы, наблюдалась аналогичная тенденция – установлено снижение концентрации TGF- β на 29,5 % ($U = 129,6000$, $Z = -3,233222$ при $p = 0,002221$) по сравнению с интактными животными, и при этом она была в 2,4 раза ($U = 191,8000$, $Z = -3,611711$ при $p = 0,002633$) больше показателей крыс контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь растительных экстрактов, концентрация TGF- β была на 11,0 % ($U = 161,10000$, $Z = -3,195559$ при $p = 0,000000$) меньше по сравнению с интактными животными и больше в 3,1 раза ($U = 147,7000$, $Z = -2,633369$ при $p = 0,000119$) по сравнению с животными контрольной группы. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт расторопши, концентрация TGF- β была на 26,6 % ($U = 199,8000$, $Z = -2,963222$ при $p = 0,000381$) меньше по сравнению с интактными животными и в 2,5 раза ($U = 131,10000$, $Z = -3,632221$ при $p = 0,000151$) больше по сравнению с животными контрольной группы.

Таким образом, установлено, что в ответ на диффузное токсическое повреждение печени и возникновение гипероксидации на системном уровне наблюдается усиленная выработка провоспалительного цитокина TNF α и подавление продукции IL-10, при этом концентрация провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-18 изменяется не существенно.

При этом на локальном уровне отмечается увеличение концентрации IL-1 α , IL-18, TNF α , IL-10 и снижение IL-6, IFN γ , TGF- β . Повышенная продукция IL-1 α и IL-18 в тканях печени, по-видимому, запускает локальное воспаление, повышая уровни таких цитокинов, как TNF α , IL-6. Повышение концентрации

противовоспалительного цитокина IL-10 подтверждает ключевую роль данного медиатора в регуляции иммунного ответа и способность подавлять секрецию провоспалительных цитокинов TNF α и IL-6.

Воздействие на синусоидальные клетки антиоксидантами способствует нормализации нарушенного гомеостаза, и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной в соотношении 1:1.

ГЛАВА 4

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нарушения функций печени, обусловленные воздействием токсических веществ, представляют собой широко распространенную проблему, имеющую важное значение в структуре заболеваемости и смертности населения. Факторами, способствующими развитию заболеваний печени, являются вирусы, токсические вещества, гормональные и метаболические нарушения, неправильное питание, хронические заболевания пищеварительной системы и другие факторы. Значительное место в этиологической структуре поражений печени принадлежит лекарственным средствам и алкоголю. Общее число заболеваний и нарушений функции печени остается неизвестным, однако, по данным мировой статистики, ежегодно отмечается прирост числа таких пациентов в среднем на 15–30 %.

Печень выполняет одну из основных функций по обезвреживанию токсических веществ и их выводу из организма. Однако скорость обработки токсических компонентов в печени ограничена и не может резко увеличиться в соответствии с растущими потребностями организма. Кроме того, нарушение самоочищения печени сопровождается серьезными нарушениями метаболизма, иммунного ответа, детоксикации и антимикробной защиты организма.

В развитии нарушений функций печени важную роль играет увеличение уровня перекисного окисления липидов. В условиях нормы в крови и тканях уровень ПОЛ остается низким, однако его интенсификация за счет повышенной выработки высокоактивных форм кислорода приводит к возникновению гипероксидации, что влечет повреждение клеточных мембран и изменение функций клеток. В этом процессе огромную роль играют свободные радикалы [38, 133, 134, 177].

Свободнорадикальное окисление является необходимым условием для обновления цитоплазматических мембран и их нормального функционирования. Уровень ПОЛ может изменяться, так как это следствие взаимодействия двух

противоположных механизмов – активности свободных радикалов и деятельности антиоксидантных систем, которые снижают их активность [10].

Поскольку клеточные мембраны содержат большое количество ненасыщенных липидов, они легко повреждаются при взаимодействии липидов со свободными радикалами. Окисление липидов мембран приводит к изменению их структуры, что увеличивает жесткость мембран и изменяет активность мембранных белков, нарушая также мембранный транспорт, включая работу ионных насосов. Взаимодействие свободных радикалов с белками также вызывает разнообразные нарушения, такие как связывание реагирующих веществ и других клеточных компонентов, фрагментация белков, специфические повреждения белковой молекулы, изменение ее структуры и нарушение функциональной активности белка [106, 111, 158, 177].

Одним из первичных объектов окислительного повреждения в гепатоцитах является митохондриальная ДНК. Нарушение механизмов окислительного фосфорилирования в митохондриальной мембране приводит к снижению уровня АТФ и гибели клетки. Окислительное повреждение клеточной ДНК также происходит, в первую очередь, под воздействием гидроксильного радикала (супероксид и перекись водорода не воздействуют непосредственно на ДНК). Гидроксильный радикал может вызывать множественные модификации ДНК, включая разрывы одной цепи и выкидывание оснований, различные модификации сахаров и образование AP-сайтов (участков с удаленными азотистыми основаниями), кроме того, возможны широкий спектр окислительных модификаций оснований и кросс-сшивки ДНК-белков. Одним из возможных последствий таких модификаций может быть блокировка репликации ДНК, приводящая к гибели клетки [7].

В целом, при истощении запасов АТФ при гипероксидации ксантинооксидаза в цитозоле способна продуцировать супероксидный радикал. Кроме того, циклооксигеназа и липоксигеназа также могут генерировать супероксидный радикал и синглетный кислород в процессе биосинтеза простагландинов и лейкотриенов. Супероксидный радикал может образовываться в митохондриях,

микросомах и пероксисомах. До 2 % потребляемого кислорода в митохондриях посредством кофермента Q и АДН-КоQ-редуктазного комплекса может превращаться в супероксидный радикал. Производство этого радикала увеличивается в митохондриях при нарушениях цепи электронного транспорта. Супероксидный радикал образуется в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов при работе монооксигеназной системы. В водной среде эти радикалы слабо активны и могут диффундировать. С помощью супероксиддисмутазы они быстро превращаются в перекись водорода. В металл-катализируемых реакциях возможно образование высокотоксичного, но малодиффузионного гидроксильного радикала, способного повреждать нуклеотиды, аминокислоты и липиды. При атаке гидроксильным радикалом ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов мембран возникает цепная реакция перекисного окисления липидов. Внутриклеточная концентрация ионов железа играет важную роль в иницировании перекисного окисления липидов. В общем, можно отметить следующие реактивные молекулы, играющие роль в развитии некротического повреждения гепатоцитов: супероксидный радикал, перекись водорода, гидроксильный радикал, гипохлорит, хлорамины, синглетный кислород, пероксирадикалы. Гидроксильный радикал способен повреждать структуру ДНК, что при хроническом воспалении может привести к развитию гепатоканцерогенеза [12, 115].

Печень обладает защитными антиоксидантными системами, которые препятствуют действию гипероксидации [65, 122]. Глютатионпероксидаза и каталаза способствуют разрушению перекиси водорода, супероксиддисмутаза обеспечивает инактивацию супероксидного радикала, а глютатионпероксидаза и глютатионредуктаза участвуют в устранении других кислородных радикалов [87]. Известно, что эти ферменты определяют степень устойчивости гепатоцитов к воздействию свободных радикалов в разных зонах печеночного лоскута. Под воздействием свободных радикалов клетки не обязательно погибают, однако повышается их чувствительность к другим вредным веществам.

Однако при наличии интенсивной гипероксидации происходит быстрая инактивация пула антиоксидантных ферментов свободными радикалами и тогда

эта ферментная защита оказывается недостаточной, поэтому требуется дополнительное введение в организм низкомолекулярных антиоксидантов [13, 27, 79, 90]. Поэтому для повышения эффективности работы тканевых антиоксидантов [41, 91] и нормализации функций печени необходимо вводить в организм антиоксиданты – гепатопротекторы. Гепатопротекторы – это вещества, способные восстановить окислительно-восстановительное равновесие в печени, нормализовать его функциональную активность и активировать процессы репарации и регенерации.

В нашей работе проведено исследование системы ПОЛ-АО печени крыс в норме, при нагрузке растительными антиоксидантами и при экспериментальном моделировании гипероксидации с помощью тетрахлорметана на фоне нагрузки антиоксидантами и было установлено разной степени выраженности снижение активности антиоксидантных ферментов в тканях печени крыс на фоне внутрижелудочной нагрузки водными экстрактами ежевики и пижмы обыкновенной, их смесью в соотношении 1:1 и экстрактом расторопши, однако на концентрацию конечных метаболитов гипероксидации нагрузка растительными антиоксидантами влияния не оказала, но при этом концентрация промежуточных продуктов окисления при нагрузке смесью природных экстрактов была достоверно ниже по сравнению с контролем. Антиоксиданты могут проявлять свое влияние на различных этапах окисления липидов: они могут замедлять начальную стадию процесса, а именно отщепление аллильного атома водорода от α -метиленового углеродного атома; предотвращать образование гидропероксидов и тем самым прерывать цепные реакции окисления; расщеплять образующиеся гидропероксиды без образования радикалов; действовать как хелатирующие агенты с металлами; и, наконец, удалять свободные радикалы, лишая их активности. Дополнительная нагрузка крыс природными антиоксидантами в виде экстрактов способствует снижению активности антиоксидантных ферментов за счет их интенсивного включения в различные стадии перекисного окисления липидов. Также было установлено, что внутрижелудочная нагрузка водными экстрактами ежевики и пижмы обыкновенной, их смесью в соотношении 1:1 и экстрактом расторопши не

оказывает влияние на динамику массы печени крыс, так как масса органа в экспериментальных группах не отличалась от контроля.

В ходе изучения реактивных изменений системы ПОЛ-АО печени половозрелых крыс при внутрижелудочной нагрузке антиоксидантами на фоне экспериментальной гипероксидации было установлено, что экстракты пижмы обыкновенной, ежевики, их смесь в соотношении 1:1 и экстракт расторопши достаточно эффективны в защите организма от избыточной активации ответа на стрессорное воздействие тетрахлорметаном, приводящего к повреждающим эффектам. Развитие гипероксидации в результате токсического воздействия на печень приводит к ухудшению работы энзиматических и неэнзиматических эндогенных антиоксидантов и интенсифицирует окислительные процессы в организме, но введение экзогенных природных антиоксидантов способствует восстановлению нарушенного гомеостаза, и наилучшей эффективностью характеризуется смесь экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1.

Полученные нами данные согласуются с исследованиями Мусаевой Д.М. и соавторов [5], считающих, что при функциональной недостаточности антиоксидантной системы организма на фоне введения тетрахлорметана, развивается патологический процесс, в который вовлекаются различные структуры организма, и для его купирования необходимо дополнительное введение в организм антиоксидантов.

По мнению Симоновой Н.В. и соавторов [116] использование природных антиоксидантов в условиях введения четыреххлористого углерода в организм экспериментальных животных приводит к стабилизации процессов пероксидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы.

Согласно данным Бураевой М.Х.Б. и соавторов [131], благодаря нормализации обменных процессов и восстановлению окислительно-восстановительного равновесия в клетках печени, антиоксиданты снижают повреждающее воздействие токсических веществ, то есть оказывают защитное и дезинтоксикационное действие.

Для интегральной оценки состояния окислительно гомеостаза в тканях печени крыс в норме, при дополнительной внутрижелудочной нагрузке экстрактами пижмы обыкновенной, ежевики, их смеси в соотношении 1:1 и экстрактом расторопши и при моделировании гипероксидации с помощью тетрахлорметана на фоне нагрузки растительными антиоксидантами произведен расчет коэффициентов оксидативного стресса. В тканях печени интактных крыс в течение опыта отмечено незначительное колебание значений коэффициентов каталаза/СОД, АПИ, МДА/ДК, ЛАИ и АОИ_{общ}, однако в экспериментальных группах было установлено следующее: в целом, у крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки внутрижелудочно в течение 30 дней экстракты пижмы обыкновенной, ежевики, их смеси в соотношении 1:1 и экстракт расторопши изучаемые коэффициенты оксидативного стресса на 30-е сутки не значительно отличались от показателей интактных крыс. У крыс контрольной группы при инициации гипероксидации установлено значительное снижение коэффициента каталаза/СОД в тканях печени на 23,2 % по сравнению с исходным значением и снижение на 22,2 % по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента. У животных экспериментальных групп при инициации гипероксидации на фоне нагрузки природными антиоксидантами в течение 30 суток коэффициент каталаза/СОД на 37-е сутки опыта тоже снижался с разной степенью интенсивности относительно исходного значения, но не столь сильно, как у крыс контрольной группы.

У животных контрольной группы при моделировании гипероксидации установлено значительное снижение коэффициента АПИ в тканях печени на 59,7 % по сравнению с исходным значением и снижение на 59,8 % по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента, а у экспериментальных животных при инициации гипероксидации на фоне нагрузки природными антиоксидантами в течение 30 суток коэффициент АПИ повторял тенденцию коэффициента каталаза/СОД.

У животных контрольной группы при моделировании гипероксидации установлено значительное снижение коэффициента МДА/ДК в тканях печени на

11,1 % по сравнению с исходным значением и по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента, а в группах экспериментальных животных в тканях печени крыс коэффициент МДА/ДК до инициации гипероксидации на 30-е сутки опыта либо не отличался от показателей интактных животных, либо был незначительно выше, но к 37-м суткам снижался с разной степенью интенсивности.

У животных контрольной группы при моделировании гипероксидации на 37-е сутки опыта установлено снижение коэффициента ЛАИ в тканях печени на 69,2 % по сравнению с исходным значением и по сравнению с интактными крысами на 37-е сутки эксперимента. При этом, у крыс, получавших экстракты пижмы обыкновенной, ежевики, их смеси в соотношении 1:1 и экстракт расторопши ЛАИ до инициации гипероксидации был ниже показателей интактных животных и на 37-е сутки продолжил снижаться с разной степенью интенсивности.

Общий антиоксидантный индекс в тканях печени крыс контрольной группы до инициации гипероксидации имел отрицательное значение близкое к нулю. В тканях печени крыс, получавших экстракт ежевики на 30-е сутки АОИ_{общ} имел небольшое отрицательное значение, а на 37-е сутки опыта снизился в 8,3 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 75,4 %. В тканях печени крыс, получавших экстракт пижмы коэффициент на 30-е сутки АОИ_{общ} также был отрицательным, а на 37-е сутки опыта снизился в 2,25 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 88,7 %. В тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки смесь экстрактов пижмы и ежевики, на 30-е сутки АОИ_{общ} был отрицательным, а на 37-е сутки опыта повысился в 1,8 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 87,7 %. В тканях печени крыс, получавших экстракт расторопши, на 30-е сутки АОИ_{общ} был отрицательным, а на 37-е сутки опыта снизился в 2,6 раза от исходного значения и при этом был выше, чем у животных контрольной группы на 84,2 %. Положительное значение АОИ_{общ} указывает на относительно компенсированное состояние антиоксидантной защиты организма даже на фоне тенденции снижения активности ферментативной защиты.

Предпочтительность использования интегральных показателей для оценки интенсивности гипероксидации, а не разрозненные параметры системы ПОЛ-АО (концентрация ДК, МДА, активности СОД, ГП, ГР и каталазы) изложена в исследованиях Сорокиной Ю.А. и соавторов [112], Борискина П.В. и соавторов [48], Кизим А.Н. и соавторов [45], Шрамко Ю.И. и соавторов [89].

Полученные данные согласуются с исследованиями Павловой О.Н. и соавторов [44], установивших при интегральной оценке окислительно-восстановительных процессов с помощью коэффициентов каталаза/СОД, АПИ, МДА/ДК и ЛАИ в тканях печени крыс, что антиоксидантный статус тканей печени крыс при оксидативном стрессе, вызванном механической травмой глаза, наиболее эффективно стабилизируется при стандартной терапии механической травмы глаза с добавлением антиоксиданта кверцетина.

Анализируя полученные результаты, можно с уверенностью говорить о том, что при воздействии тетрахлорметана и инициации гипероксидации в организме животных происходит срыв адаптационных механизмов (идет накопление продуктов ПОЛ при одновременно низкой активности показателей антиоксидантной защиты). Дополнительная нагрузка крыс антиоксидантами растительного происхождения в значительной степени нормализует взаимодействие систем ПОЛ и АО, при этом введение в организм сразу смеси растительных экстрактов в большей степени оказывает положительное влияние.

При исследовании гистоморфологической структуры печени крыс в норме, на фоне нагрузки растительными экстрактами и при моделировании гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами было установлено, что у крыс, подвергавшихся воздействию тетрахлорметана, было замечено наличие жировой трансформации гепатоцитов, обнаружено наличие цитолитических процессов, которые проявлялись в конденсации нуклеофильного вещества, плазморексисе и плазмолизе. В результате воздействия на печень тетрахлорметана возникали нарушения в структуризации печеночных балок, развивался воспалительный процесс с лимфоцитарной инфильтрацией, а также поражение эндотелия сосудов. В микрососудах наблюдались нарушения кровообращения и

образование очагов ступенчатого некроза. Однако в группе животных, которые получали смесь растительных экстрактов были замечены минимальные изменения в морфологии печени. В этой группе отсутствовали очаги ступенчатого некроза, жировые кисты и мононуклеарная инфильтрация. Наблюдались только участки слабовыраженного воспаления. Нагрузка смесью экстрактов пижмы и ежевики способствовала существенной нормализации кровообращения в печени, синусоиды немного расширялись, но главные вены и сосуды портальных трактов были полнокровными.

При морфометрическом исследовании срезов печени уже на 37-е сутки эксперимента у животных контрольной группы и крыс на фоне гипероксидации и нагрузки природными антиоксидантами наблюдается увеличение количества гепатоцитов на единицу площади (1 мм^2) за счет уменьшения их размеров. Ядерно-цитоплазматический индекс повышен, при том, что размер ядра гепатоцитов остается на том же уровне, что и у интактных животных. При оценке регенераторных процессов печени крыс установлено, что CCl_4 влияет как на внутриклеточную, так и на клеточную регенерацию, о чем свидетельствует достоверное повышение числа митозов и количества двуядерных клеток у животных всех экспериментальных групп с модельной гипероксидацией, но у крыс, получавших антиоксиданты в течение 30 суток до начала введения CCl_4 и в течение 6 суток параллельно с ним, степень выраженности патологических процессов существенно ниже, чем в контроле, и самый выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1.

В группе, получавшей экстракт пижмы обыкновенной, было большее количество гепатоцитов с жировой дистрофией, а также более выраженная степень лимфоцитарной инфильтрации. У животных, получавших экстракты ежевики и расторопши, восстановительные процессы в печени были менее выраженными, а патологические изменения были более явными по сравнению с введением смеси экстрактов пижмы и ежевики или экстракта пижмы. Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют о наличии гепатозащитного действия

у смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1, которое превосходит результаты воздействия экстракта расторопши и водных экстрактов пижмы и ежевики по отдельности.

Таким образом, внутрижелудочная нагрузка растительными антиоксидантами позволяет уменьшить негативное влияние тетрахлорметана на ткани печени, причем наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики.

Полученные данные об изменениях структуры печени на фоне воздействия четыреххлористым углеродом и защитой тканей печени различными антиоксидантами согласуются с многочисленными исследованиями Репиной Э.Ф. и соавторов [76, 77], Габдрахмановой И.Д. и соавторов [19], Мышкина В.А. и соавторов [78].

Исследование реактивных приспособлений морфологического состава крови крыс к гипероксидации на фоне нагрузки растительными экстрактами позволило установить, что при внутрижелудочной нагрузке антиоксидантами происходят изменения морфологического состава крови крыс, проявляющиеся в увеличении числа эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови, а также повышении числа лейкоцитов в пределах физиологической нормы. При введении крысам тетрахлорметана и инициировании гипероксидации наблюдаются значительные патологические изменения морфологических параметров крови, проявляющиеся снижением количества эритроцитов, концентрации гемоглобина и лимфоцитов, а также увеличением лейкоцитов, в частности за счет возрастания количества сегментоядерных лейкоцитов. Однако предварительная нагрузка крыс антиоксидантами в течение 30 суток до введения яда и параллельное введение растительных экстрактов в течение 6 суток способствует снижению негативных последствий. Наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси растительных экстрактов в соотношении 1:1.

Однако в исследованиях Булекбаевой Л.Э. и соавторов [59] при изучении клеточного состава крови и лимфы при экспериментальном токсическом гепатите обнаружено увеличение числа моноцитов до 9 %, появляются промоноциты до

4 %, сигнализирующие о напряжении иммунной системы организма. В норме у крыс в лейкоцитарной формуле лимфы преобладают лимфоциты. Они составляют основную клеточную массу в лимфе – 98–99 %, моноциты 1–2 %. В лимфе, взятой у крыс с токсическим гепатитом, возросло число моноцитов до 3–5 % и незначительно повышалось число лимфоцитов – на 6–8 %. Но, как и в нашем исследовании, установлено, что при гипероксидации, инициированной тетрахлорметаном, нарушается морфологический состав крови и лимфы.

Опираясь на данные о морфологическом составе крови контрольных и экспериментальных групп крыс, был проведен расчет гематологических лейкоцитарных индексов. Эти индексы позволяют оценить состояние иммунной системы, степень токсикоза, эффективность проводимой терапии, а также способность организма адаптироваться к внешним условиям. Гематологические лейкоцитарные индексы отражают взаимосвязи между различными классами лейкоцитов и могут быть альтернативой сложным и дорогостоящим исследованиям для определения иммунограммы, уровня цитокинов и других биохимических показателей. Таким образом, комплексная оценка гематологических интегральных лейкоцитарных индексов является более информативной, чем простое исследование гемограммы.

ИСНМ у животных с индуцированной гипероксидацией во всех экспериментальных группах к 37-м суткам опыта в разной степени увеличился, что обусловлено изменением соотношения компонентов микрофагально-макрофагальной системы (преобладание молодых форм клеток, компонентов микрофагальной системы и клеток неспецифической защиты).

ИСЛМ у животных с индуцированной гипероксидацией во всех экспериментальных группах к 37-м суткам опыта в разной степени уменьшился, что может свидетельствовать о формирующемся нарушении иммунологической реактивности животных под влиянием сочетанных стрессовых воздействий.

ИСЛЭ в контрольной группе крыс на 37-е сутки опыта снизился на 6,2 %, в группе крыс, получавших экстракт ежевики, – снизился на 7,1 %, у животных, получавших экстракт пижмы, – повысился на 5,0 %, у крыс, получавших смесь

природных антиоксидантов, – снизился незначительно, а у животных, получавших экстракт расторопши, – незначительно повысился. ИСЛЭ ориентировочно отражает соотношение процессов гиперчувствительности замедленного и немедленного типа.

Индекс Бредекка у животных с индуцированной гипероксидацией во всех экспериментальных группах к 37-м суткам опыта в разной степени уменьшился. Индекс Бредекка является интегральным критерием оценки функционального состояния организма, выражающим соотношение лимфоцитов к палочкоядерным нейтрофилам. Его показатели всецело зависят от изменений в лейкограмме. На 37-е сутки опыта выявляется гиперрегенеративная нейтрофилия и резко ослабленные позиции лимфоцитов, индекс на это отреагировал уменьшением.

Индекс Кребса у животных с индуцированной гипероксидацией во всех экспериментальных группах к 37-м суткам опыта в разной степени увеличился, что является следствием функционального угнетения пролиферативной активности костного мозга и выражается в виде увеличения числа палочкоядерных нейтрофилов. Этот индекс представляет отношение общего количества нейтрофилов к лимфоцитам. Он косвенно характеризует, во-первых, активность фагоцитарных реакций и факторов специфического иммунитета, во-вторых, их участие в поддержании общей реактивности организма. Два самых представительных пула лейкоцитов могут сосуществовать в крови или в некоем видовом равновесии, либо при преобладании одного из них.

Согласно исследованиям Крячко О.В. и соавторов [60], Дунаевской С.С. и соавторов [46], комплексный анализ расчетных гематологических лейкоцитарных индексов позволяет оценить реакцию иммунной системы организма и выявить проявление, развитие, течение и тяжесть воспалительных процессов и экзогенной интоксикации. Обнаруженные функциональные изменения, связанные с иммунной системой крыс в результате гипероксидации, подтверждают отрицательное влияние тетрахлорметана на иммунитет животных. Анализ интегральных лейкоцитарных индексов также выявил дисбаланс между специфическим (адаптивным) и неспецифическим (врожденным) компонентами иммунитета,

отражая динамику изменений иммунокомпетентных клеток крови в условиях стрессовых воздействий.

Изучение реактивных приспособлений биохимического состава крови крыс к гипероксидации на фоне нагрузки антиоксидантами позволило установить следующее: наблюдалось повышение практически всех изучаемых биохимических показателей крови при токсическом отравлении животных по сравнению с интактной группой крыс, за исключением количества общего белка и альбуминов.

Инициация гипероксидации характеризовалась значительным ростом сывороточной концентрации АСТ и АЛТ с одновременным возрастанием ферментативной активности ГГТ, что свидетельствует о формировании активного токсического гепатита с выраженным цитолитическим синдромом, и эти данные коррелируют с результатами морфологического исследования печени. Установлен рост концентрации общего билирубина в плазме крови на фоне повышения активности щелочной фосфатазы, что является подтверждением возникновения холестатического синдрома, а снижение концентрации альбумина объясняется резким ростом индекса токсичности. Также установлено повышение концентрации мочевины, и поскольку она, в основном, образуется в печени, то уровень мочевины в крови повышается при тяжелых поражениях органа. Установлено возрастание концентрации глюкозы в крови крыс на фоне индуцированной гипероксидации, что оказывает положительное влияние на интенсивность биоэнергетических процессов. Высокая активность ферментов, регулирующих скорость окислительной деструкции молекул моносахаридов, улучшает выделение энергии, необходимой для синтеза метаболитов, обеспечивающих функционирование каждой системы внутренних органов. Вследствие этого поддерживается постоянство эндогенной среды при непрерывном изменении активности экзогенных процессов.

Таким образом, увеличение АЛТ, АСТ, повышение содержания в плазме крови белка, глюкозы, мочевины показывают нарушение функции желудочно-кишечного тракта, печени, почек, сердца у экспериментальных животных при токсическом отравлении четыреххлористым углеродом, а внутрижелудочная нагрузка природными антиоксидантами оказывает положительное действие за счет

стабилизации мембран клеток и лизосом, нейтрализации токсичных свободных радикалов. Адсорбционные свойства изучаемых растительных экстрактов обусловлены тем, что, проникая в межклеточное пространство, они связывают белки ферментов, которые вызывают развитие воспалительной реакции в организме за счет действия тетрахлорметана.

Таким образом, предварительная нагрузка крыс антиоксидантами в течение 30 суток до введения яда и параллельное введение растительных экстрактов в течение 6 суток способствует снижению негативных последствий влияния яда на организм за счет нормализации биохимических параметров периферической крови, и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси растительных экстрактов в соотношении 1:1.

Полученные данные согласуются с исследованиями Г.Ж. Рахымжан и соавторов [95], изучавших влияние фитопрепарата на биохимические показатели крови крыс при токсическом гепатите. Они установили, что при остром гепатите отмечалось нарушение функций печени, о чем свидетельствовали высокие значения анализируемых параметров. Однако превентивный прием фитопрепарата способствовал сохранению целостности большей части гепатоцитов как при остром, так и при хроническом отравлении четыреххлористым углеродом, что подтверждается более низкими значениями активности печеночных проб в сыворотке крови. Также полученные результаты согласуются с исследованиями Кириятовой Т.Г. и соавторов [51].

И.В. Гаврилов и соавторы [88] при изучении биохимических показателей крови крыс с токсическим гепатитом на фоне действия спиртового экстракта лавра благородного (*laurus nobilis*) установили, что при употреблении экстракта лавра благородного на фоне токсического гепатита, вызванного тетрахлорметаном, происходит нормализация биохимических показателей крови животных: статистически значительно снизились активность АЛТ, АСТ, ЩФ и ГГТ.

Оценку эффективности гепатозащитного действия изучаемых растительных экстрактов проводили по исследованию в печени интактных, контрольных и подопытных животных содержания микросомального белка и цитохрома P450, а

также по показателям скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P450 – р-гидроксилирования анилина, N-деметилования диметиланилина и скорости реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы, отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени.

При экспериментальном моделировании гипероксидации в тканях печени крыс на модели токсического гепатита, инициированного тетрахлорметаном, подтверждено токсическое действие CCl_4 на микросомальные ферменты печени, проявляющееся в уменьшении количества цитохрома P450, и угнетении активности ферментов, катализирующих реакции гидроксилирования и конъюгации. На фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцировании гипероксидации количество цитохрома P450 и активность ферментов, катализирующих реакции гидроксилирования и конъюгации, снижались не так интенсивно, как у животных контрольной группы, что свидетельствует о компенсаторной индукции цитохрома P450 в печени под действием изучаемых растительных экстрактов на фоне токсического воздействия. Причем, изучаемые растительные экстракты в разной степени в основном увеличивали специфическую гидроксилазную активность цитохрома P450, но слабо влияли на его деметилазную активность.

Особое значение для оценки детоксицирующих свойств растительных экстрактов имеет изучение их влияния на активность ГТФ, которая участвует в конъюгации токсических продуктов, образующихся в монооксигеназной системе цитохрома P450 на первом этапе биотрансформации. У крыс контрольной группы с воспроизведенным токсическим гепатитом по сравнению с интактными животными происходит снижение скорости ферментативных реакций, катализируемых ГТФ, что свидетельствует о высоком токсическом воздействии тетрахлорметана на печень. Установлено, что на фоне нагрузки растительными экстрактами при гипероксидации скорость реакции конъюгации, катализируемая ГТФ микросом печени, значительно возрастает по сравнению с контрольной группой крыс. Таким образом, экспериментально установлено, что изучаемые экстракты в условиях модели гипероксидации у крыс обладают в разной степени гепатопротекторными и

детоксицирующими свойствами, и наиболее выраженный эффект установлен при использовании смеси растительных экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1. Таким образом, изучаемые растительные экстракты являются перспективными объектами для создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения для профилактики и лечения токсических, в том числе лекарственных, поражений печени.

Полученные результаты согласуются с исследованиями Стрелковой Л.Б. и соавторов [21], изучавших гепатозащитное действие экстракта володушки при экспериментальном тетрациклиновом гепатите и установивших, что сухой экстракт травы володушки золотистой в условиях модели тетрациклинового гепатита у крыс обладает гепатопротекторными и стимулирующими детоксикацию свойствами в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг, в степени, превышающей данные свойства силимара в дозе 100 мг/кг; при этом отмечен дозозависимый эффект экстракта володушки. Установлен высокий активирующий эффект экстракта володушки в дозе 100 мг/кг на ферменты микросомальной системы детоксикации печени крыс цитохрома P450 и глутатионтрансферазу.

Также произведено исследование репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени и плазме крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированной гипероксидации. Метаболические нарушения, возникающие на фоне тетрахлорметана, могут вызвать изменения в продукции противовоспалительных и провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы. Одну из важнейших ролей в этом процессе играют синусоидальные клетки печени, особенно макрофаги, которые выполняют функции поддержки воспалительных реакций и регуляции процесса регенерации. Синусоидальные эндотелиальные клетки являются многочисленной непаренхиматозной популяцией клеток печени и разделяются на четыре основных типа, происходящих от мезенхимальных стволовых клеток: лейкоциты, эндотелиоциты, клетки Ито и клетки Купфера, или фиксированные макрофаги. Синусоидальные клетки выполняют роль «барьера» в печеночных синусоидах, обеспечивая фильтрацию, эндоцитоз, презентацию антигенов и привлечение лейкоцитов к месту повреждения.

Основными факторами, регулирующими воспалительные процессы и процессы регенерации, являются цитокины, которые вырабатываются клетками моноцитарно-макрофагального ряда в очаге повреждения. Такие цитокины, как TNF- α , IL-1, IL-6, а также ростовые факторы HGF, производимые синусоидальными клетками печени, активируют сигнальные пути, связанные с репликацией ДНК (Stat3, MAPK). Ростовые факторы PDGF, IGF-1, HGF, TGF- β , которые также вырабатываются синусоидальными клетками, снижают уровень апоптоза гепатоцитов, уменьшают синтез оксида азота и активных форм кислорода. Эти факторы способны усилить межклеточное взаимодействие клеток печени, восстановить функциональную активность существующих и только что образованных гепатоцитов.

Изменения функционального состояния иммунокомпетентных клеток, к числу которых относятся синусоидальные клетки, оказывают существенное влияние на развитие патологических процессов в печени и продукцию цитокинов.

При исследовании диффузного токсического повреждения печени и возникновении гипероксидации, было установлено, что на системном уровне происходит усиление выработки провоспалительного цитокина TNF α и подавление продукции IL-10. При этом концентрация провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-18 не изменяется существенно.

На локальном уровне было отмечено увеличение концентрации IL-1A, IL-18, TNF α , IL-10, а также снижение концентрации IL-6, IFN γ и TGF- β . Видимо, повышенная продукция IL-1A и IL-18 в тканях печени вызывает локальное воспаление, что приводит к увеличению уровней цитокинов, таких как TNF α и IL-6. Повышение концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 подтверждает важную роль этого медиатора в регуляции иммунного ответа и его способность подавлять секрецию провоспалительных цитокинов TNF α и IL-6. Использование антиоксидантов для воздействия на синусоидальные клетки способствует нормализации нарушенного гомеостаза. Наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной в соотношении 1:1.

Полученные данные согласуются с исследованиями Шафигуллиной З.А. и соавторов [108] по изучению синусоидальных клеток и цитокинового ответа при тетрахлорметан-индуцированной гепатотоксичности и способах ее коррекции инъекциями аминифталгидразида. Ими установлено, что изменение количества синусоидальных клеток печени при токсическом повреждении отражается на продукции цитокинов. Направленное воздействие на синусоидальные клетки посредством аминифталгидразида способно изменить продукцию регуляторных факторов и компенсировать недостаточную скорость восстановительных процессов после токсического повреждения.

Таким образом, внутрижелудочное введение растительных экстрактов подавляет активацию тканевого и системного воспаления, предотвращает развитие дистрофического и воспалительного процессов в органе, а также стимулирует регенерацию печеночной ткани. Кроме того, они ингибируют преждевременную гибель гепатоцитов, снижают активность цитолитического и холестатического синдромов, и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной в соотношении 1:1.

Следует отметить, что несмотря на то, что наше исследование проведено на лабораторных животных, полученные нами результаты согласуются с клиническими данными Променашевой Т.Е. и соавторов, которые изучали механизмы патогенеза неалкогольной жировой болезни печени и установили, что оксидативному стрессу отводится главная роль в развитии гепатита на фоне жировой дистрофии печени и основным защитником клеток от оксидативного стресса является система глутатиона, которая включает в себя глутатион и ферменты его метаболизма: каталазу, глутатионредуктазу (ГР), глутатионтрансферазу (ГТ), глутатионпероксидазу (ГПО), активность которых снижается при оксидативном стрессе и для эффективной терапии необходима дополнительная терапия антиоксидантами [93]. Также, Променашевой Т.Е. и соавторами, и Rolo A.P. и соавторами установлено, что оксидативный стресс в тканях печени является провокатором выделения воспалительных цитокинов и, как следствие, развития воспаления и процессов фиброза [93, 177].

Наши исследования по изменению структуры печени и иммунных механизмов на фоне оксидативного стресса согласуются с исследованиями Волинец Г.В. и Хавкина А.И. по изучению патофизиологических основ митохондриального оксидативного стресса и его влиянию на развитие хронических заболеваний печени различной этиологии, в которых было установлено, что одной из основных причин нарушения структуры и функции печени является оксидативный стресс, который возникает, когда ферментативные и неферментативные антиоксиданты в печени перегружаются активными формами кислорода, образующимися при различных патологических процессах. Это приводит к гепатоцеллюлярной дисфункции и, в конечном итоге, к фиброзу печени, что ведет к повышению уровня интерферона- β , фактора некроза опухоли- α и интерлейкина-6, тем самым сугубляя повреждение органа и развитие фиброза [17].

Эффективность антиоксидантной терапии при гипероксидации также подтверждена исследованиями Смолиной С.П. и соавторов, в которых установлено, что она занимает центральное место в патогенезе алкогольной болезни печени и у всех пациентов регистрировали повышенную интенсивность процессов свободнорадикального окисления липидов и низкую общую антиоксидантную активность, а на фоне антиоксидантной терапии у больных наблюдали достоверное улучшение когнитивных и моторных функций, положительную динамику клинического течения заболевания и проявлений гепатоцеллюлярной дисфункции [82].

В исследованиях Ильиной М.Б. и Сергуновой Е.В. по изучению состава и содержания витаминов в водном извлечении из листьев ежевики идентифицировано 7 витаминов и различные флавоноиды и это позволяет использовать водный экстракт ежевики в качестве источника антиоксидантов для терапии различных заболеваний [42]. А исследованиями Магеррамова С.И.К. подтверждено, что в полифенольном комплексе ежевики присутствуют катехины и антоцианы при явном преобладании последних и ее водный экстракт можно рассматривать как дополнительный источник физиологически активных веществ [68].

Благодаря широкому спектру антоцианов и полифенолов ежевики и ее экстракты используют в терапии заболеваний кровеносной системы, онкологических процессов и заболеваний, связанных с гипероксидацией, так как она оказывает антиоксидантное действие, нормализуют обменные процессы и метаболизм, ускоряют регенерацию клеток и укрепляют иммунную систему [110].

Согласно исследованиям Стояновой Я.В. и соавторов, установлено, что пижма обыкновенная содержит более 60 биологически активных соединений, относящихся к различным классам: терпеноидам, эфирам жирных кислот, витаминам, тритерпеновым сапонином и наибольшей антиоксидантной активностью обладает водное извлечение из травы пижмы, что обуславливает рекомендацию к применению лекарственного растительного сырья травы пижмы в форме настоя или экстракта [120].

Пижма обыкновенная входит в состав некоторых зарегистрированных лекарственных препаратов (танацехол, баллацехол, сибектан и др.), которые обладают желчегонным, спазмолитическим, гепатопротекторным, репаративным и антиоксидантным эффектами [1].

Таким образом, все вышесказанное натолкнуло нас на мысль использовать водные экстракты ежевики и пижмы обыкновенной в качестве источников антиоксидантов, обладающих выраженным гепатопротекторным эффектом и сравнить их эффективность с эталонным гепатопротектором – маслом расторопши, а полученные результаты подтвердили нашу гипотезу.

В целом, механизм патогенеза гипероксидации при моделировании токсического поражения печени тетрахлорметаном и терапии данного состояния растительными экстрактами можно отразить следующей схемой (рисунок 20).



Рисунок 20 – Схема механизма патогенеза гипероксидации при моделировании токсического поражения печени тетрахлорметаном и терапии данного состояния растительными экстрактами.

Установлено, что изучаемые растительные экстракты положительно влияют на все звенья патогенеза токсического воздействия на печень тетрахлорметаном и это достигается благодаря широкому спектру биологически активных соединений, содержащихся в водных экстрактах ежевики и пижмы обыкновенной, их смеси и в экстракте расторопши.

Интоксикация тетрахлорметаном приводит к существенному сдвигу процессов липопероксидации, способствуя быстрому формированию гипероксидации, что нарушает целостность клеточных мембран, гистоморфологическую структуру печени и вызывает запуск молекулярных механизмов повреждения гепатоцитов, нарушение репаративных и иммунных процессов на локальном и системном уровнях, и, как следствие, изменение морфологического и биохимического состава крови. Введение растительных

экстрактов тормозит развитие гипероксидации за счет предотвращения образования гидропероксидов и обрыва цепных реакций окисления, расщепления образующихся гидропероксидов без образования радикалов, инактивации свободных радикалов, стимуляции активности и экспрессии генов антиоксидантных ферментов (возможно, за счет активации транскрипционного фактора Nrf2), подавления активности прооксидантных ферментов (ксантиноксидазы), защиты других антиоксидантов – витаминов E и C – от окисления. Так, экстракт ежевики, содержащий катехины (флаван-3-олы), отличающиеся отсутствием в положении 4 как карбонильной, так и гидроксильной групп и являющиеся наиболее восстановленными из флавоноидов, проявляет за счет них высокий антиоксидантный потенциал. Также, катехины обладают способностью активировать транскрипционный фактор Nrf2, регулирующий экспрессию генов многих ферментов II фазы метаболизма ксенобиотиков и антиоксидантной защиты, среди которых глутатионтрансфераза, UDP-глюкуронозилтрансфераза, хинонредуктаза, гемоксигеназа-1, глутатионпероксидаза и др. [171, 161, 193, 194]. Помимо катехинов в этом экстракте присутствуют гликозиды флавонолов кверцетина и кемпферола, которые также проявляют выраженную антиоксидантную активность. Кверцетин обладает способностью легко окисляться до о-гидрохиноновой кислоты, которая далее превращается ферментами в о-хинон и благодаря этому процессу происходит нейтрализация свободных радикалов. Также его антиоксидантное действие реализуется за счет содержания пяти гидроксильных групп и благодаря такому строению кверцетин легко передает электроны свободным радикалам, что приводит к их стабилизации и нейтрализации разрушительного потенциала. Установлено, что кверцетин может участвовать в образовании хелатных комплексов с ионами металлов, инициирующими процесс перекисного окисления липидов. Тем самым кверцетин также оказывает опосредованное антиоксидантное действие. К тому же такие ферменты, как липазы, протеазы, трансферазы и ферменты репарации ДНК в комплексе с биологическим действием флавоноида восстанавливают поврежденные мембраны клеток организма [127].

Кемпферол по химическому строению отличается от кверцетина отсутствием одной гидроксильной группы в арильном фрагменте. Его антиоксидантное действие связано со способностью его фенольных групп отдавать водород и превращаться в феноксильный радикал, который далее может вступать в реакцию с другими свободными радикалами, проявляя антиоксидантную активность. Saw и соавт. установили, что флавоноид активирует сигнальный путь – Nrf2-антиоксидантный ответ, который снижает концентрацию внутриклеточных активных форм кислорода и тем самым проявляет выраженную антиоксидантную активность в тесте с диацетатом дихлор-дигидрофлуоресцеина. При этом фиксировалась синергия биологического действия кемпферола при совместном применении с кверцетином и птеростильбеном [127, 183].

Экстракт пижмы обыкновенной, за счет содержания апигенина и лютеолина также проявляет антиоксидантные свойства. В частности, лютеолин и апигенин реализует свои антиоксидантные эффекты путем препятствия образованию перекисей липидов, закрытия MPTP (mitochondrial permeability transition pore) и, в итоге, стабилизации мембраны митохондрий и активации их энергопреобразующих функций [75].

Экстракт расторопши содержит таксифолин, кверцетин, кемпферол, силибин, силимарин и силикрин и является эталонным антиоксидантом и гепатопротектором с доказанной эффективностью. Одним из основных действующих веществ экстракта расторопши является силимарин, обладающий мембраностабилизирующим, антиоксидантным, регенеративным и противовоспалительным действием. Антиоксидантные свойства силимарина обусловлены его способностью *in vivo* вступать в обратимые окислительно-восстановительные реакции фенол-семихинон-хинон, в которых короткоживущий семихиноновый радикал выступает в качестве «ловушки свободных радикалов», что способствует снижению уровня перекисного окисления липидов и уменьшению продукции малонового диальдегида. Также, силимарин повышает активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы в

тканях печени и результатом этого является уменьшение повреждения гепатоцитов при гипероксидации [121].

Таким образом, все изучаемые нами растительные экстракты, обладают разной степенью выраженности антиоксидантного действия за счет наличия разнообразных биологически активных соединений и самую высокую эффективность в нашем исследовании продемонстрировала смесь экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной в соотношении 1:1 за счет синергетического антиоксидантного эффекта их компонентов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в условиях нагрузки растительными экстрактами в тканях печени снижается активность антиоксидантных ферментов и диеновых конъюгатов в диапазоне от 5 до 29 %, но в условиях гипероксидации она способствует восстановлению окислительного гомеостаза, что обусловлено предотвращением образования гидропероксидов и обрыва цепных реакций окисления, расщеплением образующихся гидропероксидов без образования радикалов, инаktivацией свободных радикалов, стимуляцией экспрессии генов антиоксидантных ферментов и подавлением активности прооксидантных ферментов действующими веществами экстрактов и наибольшую эффективность демонстрирует смесь растительных экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1 благодаря синергизму их биологически активных соединений.

2. Выявлено, что в условиях нагрузки крыс растительными экстрактами гистоморфологическая структура печени не претерпевает изменений, а при гипероксидации выявляются диффузная зернисто-вакуолярная дистрофия гепатоцитов, очаговые некрозы паренхимы и накопление жиров, увеличение количества гепатоцитов на 85,7%, двуядерных клеток – в 8,9 раза, ЯЦИ – на 88,5 % и митозов – в 64,1 раза, но регуляция перекисного окисления растительными экстрактами в условиях гипероксидации способствовала снижению степени выраженности дегенеративных изменений печени, что выражалось меньшим количеством гепатоцитов и двуядерных клеток в среднем на 19,0 %, ЯЦИ – на 27,6 %, митозов – на 27,6 % и большими размерами гепатоцитов (в среднем на 40,0 %) и наиболее положительный эффект наблюдался при использовании смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1.

3. Показано, что нагрузка растительными экстрактами способствует увеличению количества эритроцитов (от 6,8 до 13,8 %), лейкоцитов (от 14,8 до 19,3 %) и концентрации гемоглобина (от 5,8 до 7,6 %) в крови крыс в пределах физиологической нормы, а при гипероксидации у животных выявлено снижение количества эритроцитов (5,5 %) и лимфоцитов (6,2 %), концентрации гемоглобина

(6,0 %) и увеличение лейкоцитов (57,1 %), что характеризует дисбаланс между специфическим и неспецифическим компонентами иммунитета, а регуляция перекисного окисления растительными экстрактами в условиях гипероксидации нормализует морфологический состав крови животных и наиболее выраженный эффект наблюдается при применении смеси пижмы и ежевики в соотношении 1:1.

4. Определено, что CCl_4 оказывает выраженное токсическое действие, проявляющееся возрастанием концентрации ферментов: амилазы (в 7,2 раза), ЩФ (на 18,5 %), АСТ (на 156,2 %), АЛТ (67,9 %), ГГТ (на 71,6 %), концентрации глюкозы (на 44,1 %), мочевины (на 302,7 %), креатинина (на 325,0 %) и билирубина (на 49,5 %) в крови крыс и снижение концентрации альбумина (на 24,6 %) и общего белка (на 13,2 %), что свидетельствует о формировании токсического гепатита с выраженными цитолитическим и холестатическим синдромами и состояния гипероксидации, а регуляция перекисного окисления растительными экстрактами в условиях гипероксидации нормализует нарушенный гомеостаз за счет стабилизации мембран клеток и лизосом и нейтрализации токсичных свободных радикалов и наиболее выраженный эффект наблюдается при применении смеси экстрактов пижмы и ежевики в соотношении 1:1.

5. Доказано, что в условиях гипероксидации растительные экстракты эффективно ингибируют перекисное окисление в тканях печени крыс путем компенсаторной индукции цитохрома P450, проявляя гепатопротекторные и детоксицирующие свойства в снижении токсического действия CCl_4 на микросомальные ферменты печени ($p \leq 0,05$) и активность ферментов, катализирующих реакции гидроксилирования, деметилирования и конъюгации ($p \leq 0,05$) и наиболее выраженный эффект установлен при использовании смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1.

6. Доказано, что в условиях гипероксидации растительные экстракты способствуют усилению выработки провоспалительного цитокина $TNF\alpha$ ($p \leq 0,05$) и подавление продукции $IL-10$ ($p \leq 0,05$) на системном уровне, а на локальном уровне – увеличению концентрации $IL-1A$, $IL-18$, $TNF\alpha$, $IL-10$ ($p \leq 0,05$) и снижению – $IL-6$, $IFN\gamma$ и $TGF-\beta$ ($p \leq 0,05$), что свидетельствует о подавлении

активации тканевого и системного воспаления, дистрофических процессов в печени и стимуляции ее регенерации и наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании смеси экстрактов ежевики и пижмы обыкновенной в соотношении 1:1 благодаря синергизму их биологически активных соединений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные в ходе диссертационного исследования данные позволяют рекомендовать включение смеси экстрактов пижмы обыкновенной и ежевики в соотношении 1:1 в схемы терапии и профилактики токсических поражений печени на основании выявленных в ходе исследования положительных влияний данной смеси на восстановление дисбаланса перекисных и антиперекисных процессов, гистоморфологической структуры печени, морфологического и биохимического состава крови крыс, скорости монооксигеназных реакций, а также иммунных и репаративных процессов.

2. Предложенная смесь растительных экстрактов позволяет стабилизировать окислительный гомеостаза организма, что показывает эффективность ее дальнейшего использования в исследованиях по изучению патологических состояний, вызванных гипероксидацией.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В результате обобщения теоретического материала и результатов экспериментальных исследований определены направления дальнейшей разработки темы: изучение корреляционных взаимосвязей перекисных и антиперекисных процессов в мозге, сердце и других органах, и оценка стабилизации нарушенного окислительного гомеостаза при использовании растительных экстрактов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

СР – свободные радикалы

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

ПОЛ – перекисное окисление липидов

АОС – антиоксидантная система организма

СОД – супероксиддисмутаза

ГП – глутатионпероксидаза

ПОЛ-АО – систему «перекисное окисление липидов – антиоксиданты»

РООН – органические гидропероксиды

ГР – глутатионредуктаза

ГТ – глутатионтрансфераза

ЦНС – центральная нервная система

ВЭЖХ – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

ЛРС – лекарственное растительное сырье

МДА – малоновый диальдегид

АПИ – антиоксидантно-прооксидантный индекс

ДК – диеновые конъюгаты

ЛАИ – локальный антиоксидантный индекс

АОИ_{общ} – общий антиоксидантный индекс

АОИ – антиоксидантный индекс;

АОИ₁ – суммарное значение для основных ферментов антиоксидантной системы

АОП₂ – суммарное значение для продуктов ПОЛ

ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое отношение

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ИСНМ – индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов;

ИСЛМ – индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов;

ИСЛЭ – индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов;

ЩФ – щелочная фосфатаза

АСТ – аспаратаминотрансфераза

АЛТ – аланинаминотрансфераза

ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

ДМА – N-деметилирование диметиланилина

ГТФ – глутатионтрансферазы

ИФА – иммуноферментный анализ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуальные аспекты морфолого-анатомического анализа лекарственного растительного сырья пижмы обыкновенной (*tanacetum vulgare l.*) / А.В. Куркина, В.М. Рыжов, Л.В. Тарасенко [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 8-6. – С. 1420–1425.
2. Алекберова, С.А. Окислительный стресс и повреждение печеночной ткани при экспериментальной механической желтухе / С.А. Алекберова // Медицинские новости. – 2019. – № 8. – С. 74–76.
3. Амелина, И.П. Окислительный стресс и воспаление как звенья одной цепи у больных с хроническими цереброваскулярными заболеваниями / И.П. Амелина, Э.Ю. Соловьева // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, № 4. – С. 106–114.
4. Анникова, Л.В. Клиническое исследование животных / Л.В. Анникова, С.В. Козлов. – 3-е изд., стер. – СПб. : Лань, 2023. – 152 с.
5. Антиоксидантная коррекция фармакометаболизирующей функции печени при экспериментальном токсическом гепатите / Д.М. Мусаева, Б.Ш. Самадов, Н.В. Дубинина [и др.] // Вестник науки и образования. – 2020. – № 14-1 (92). – С. 63–70.
6. Антоцианы шротов калины обыкновенной и аронии черноплодной как модуляторы метаболизма при оксидативном стрессе / Л.Н. Тарасова, О.Н. Павлова, О.Н. Гуленко [и др.] // Высшая школа: научные исследования. материалы Межвузовского научного конгресса. – 2020. – С. 105–108.
7. Артеменков, А.А. Гомеостаз и адаптация: патофизиологические аспекты соматовегетативного взаимодействия в онтогенезе / А.А. Артеменков // Педиатр. – 2021. – Т. 12, № 4. – С. 89–101.
8. Балукова, Е.В. Поражения печени различного генеза (токсического, лекарственного, дисметаболического): от этиологической гетерогенности к единой унифицированной терапии пациентов / Е.В. Балукова, Ю.П. Успенский, Ю.А. Фоминых // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2018. – № 1 (I). – С. 35–40.

9. Биссерова, Н.М. Визуализация биологических ультраструктур / Н.М. Биссерова. – М. : МГУ им. Ломоносова, 2017. – 101 с.
10. Булгакова, Я.В. Последствие ГБО на перекисное окисление липидов и ферментные антиоксиданты головного мозга: проспективное экспериментальное исследование / Я.В. Булгакова, П.Н. Савилов // Морская медицина. – 2023. – Т. 9, № 3. – С. 64–73.
11. Бюллетень Всемирной организации здравоохранения [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/publications/journals/bulletin/> (дата обращения: 25.07.2024).
12. Влияние гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды на функции почек при экспериментальном аутоиммунном нефрите / И.Г. Джиоев, Э.А. Гуцаева, О.В. Ремизов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 1. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30498> (дата обращения: 08.01.2024).
13. Влияние дигидрокверцетина на клинические и биохимические показатели крови у свиней в условиях стрессовых нагрузок / Р.В. Некрасов, Н.В. Боголюбова, А.А. Семенова [и др.] // Вопросы питания. – 2021. – Т. 90, № 1. С. 74–84.
14. Влияние иммунной системы на регенераторные процессы печени при остром токсическом гепатите / Н.В. Тюменцева, Ю.С. Храмцова, О.С. Арташян [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Том 13 (22), №3. – С. 1298–1303.
15. Влияние низких доз железа и меди в питьевой воде на интенсивность перекисного окисления липидов в эксперименте / Т.В. Боева, Н.В. Шарапова, Д.А. Кряжев [и др.] // Анализ риска здоровью – 2024: материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. В 2-х томах. – Пермь, 2024. – С. 141–144.
16. Волощук, О.Н. Интенсивность свободнорадикального окисления биомолекул митохондрий гепатоцитов при нутриентном дисбалансе / О.Н. Волощук, Ю.В. Стус, Г.П. Копыльчук // Биомедицинская химия. – 2020. – Т. 66, № 5. – С. 386–391.

17. Волынец, Г.В. Митохондриальный оксидативный стресс и болезни печени / Г.В. Волынец, А.И. Хавкин // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2024. – № 8. – С. 143–157.
18. Выделение и свойства цитохрома P450 из микросом печени кроликов / И.И. Карузина, Г.И. Бачманова, Д.Э. Менгазетдинов [и др.] // Биохимия. – 1979. – № 6. – С. 1049–1057.
19. Габдрахманова, И.Д. Защита печени комплексным соединением сукцинат-1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила при тетрахлорметан-индуцированном повреждении у взрослых и старых крыс / И.Д. Габдрахманова, В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев. – Томск: Печатная мануфактура, 2020. – С. 35–36.
20. Гепатозащитное действие растительных антиоксидантов при тетрахлорметан-индуцированном оксидативном стрессе / В.В. Леонов, О.Н. Павлова, О.Н. Гуленко [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2023. – Т. 17, № 3. – С. 73–79.
21. Гепатозащитное действие экстракта володушки при экспериментальном тетрациклиновом гепатите / Л.Б. Стрелкова, Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – № 63 (1). – С. 78–82.
22. Гепатопротекторное действие оксиметилурацила при экспериментальном токсическом гепатите / Т.М. Прохорова, Э.В. Попова, О.А. Гуркина [и др.] // Аграрная наука. – 2021. – № 4. – С. 17–20.
23. Гизингер, О.А. Свободнорадикальное, перекисное окисление и природные антиоксиданты / О.А. Гизингер, В.А. Дадали // Терапевт. – 2021. – № 9. – С. 36–44.
24. Гильдииков, Д.И. Гепатопротекторное и антиоксидантное действие препарата мексидол-вет® в эксперименте на крысах / Д.И. Гильдииков // Российский ветеринарный журнал. – 2020. – № 5. – С. 38–42.
25. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

26. Глобальные методы исследования системы гемостаза в современной акушерской практике / И.Г. Мустафин, Т.Е. Курманбаев, А.А. Шмидт [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2019. – № 100 (6). – С. 958–965.

27. Гомеостаз как инструмент исследования технологических влияний на здоровье человека / Л.М. Газнюк, Т.И. Липич, В.В. Липич [и др.] // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2022. – Т. 30, № 5. – С. 753–760.

28. Гомеостаз, как постоянство непостоянного (обзор литературы) / В.В. Еськов, К.А. Хадарцева, О.Е. Филатова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2018. – № 4. – С. 132–141. – Режим доступа: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-4/2-8.pdf> (дата обращения: 23.08.2023).

29. Гончаров, Р.Г. Ишемически-реперфузионные поражения: молекулярные механизмы патогенеза и способы их коррекции / Р.Г. Гончаров, М.Г. Шарапов // Молекулярная биология. – 2023. – Т. 57, № 6. – С. 1150–1174.

30. Гуреева, В.С. Влияние активных форм кислорода на здоровье человека и механизмы защиты от свободных радикалов / В.С. Гуреева, В.В. Корнякова // Научный вестник Омского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 2, № 1 (5). – С. 143–147.

31. Домбровский, В.О. Гематологические показатели белых крыс на фоне лечения острого токсического гепатита / В.О. Домбровский, Л.Е. Матросова // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. – 2021. – № 23. – С. 575–577.

32. Домбровский, В.О. Индуцированном ацетаминофеном на фоне лечения силимарином и экстрактом листьев артишока / В.О. Домбровский, Л.Е. Матросова, С.А. Танасева // Наука, технологии, кадры – основы достижений прорывных результатов в АПК: сборник научно-практических материалов Международной научно-практической конференции. – Казань, 2021. – С. 267–274.

33. Еликов, А.В. Некоторые показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в эритроцитах бывших спортсменов / А.В. Еликов // Спортивная медицина: наука и практика. – 2021. – № 11(3). – С. 12–17.
34. Еремеева, Н.Б. Изучение содержания антиоксидантов и их активности в концентрированных экстрактах из ягод клюквы (*Vaccinium Oxycoccus*), облепихи (*Hippophae Rhamnoides L.*), ежевики (*Rubus Fruticosus*), калины (*Viburnum Opulus L.*) и рябины (*Sorbus Aucuparia L.*) / Н.Б. Еремеева, Н.В. Макарова // Химия растительного сырья. – 2021. – № 4. – С. 157–164.
35. Жерегеля, С.Н. Экспериментальное обоснование использования показателей обмена глутатиона в лабораторной диагностике риска развития контраст-индуцированной нефропатии на фоне сахарного диабета / С.Н. Жерегеля, С.И. Глушков, А.И. Карпищенко // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2022. – Т. 23, № 1. – С. 369–384.
36. Зарипова, Т.Н. Лейкоцитарные индексы у больных бронхиальной астмой: информативная значимость использования / Т.Н. Зарипова, И.И. Антипова, Е.В. Тицкая // Терапевтический архив. – 2021. – № 93 (3). – С. 273–278.
37. Заславская, Р. Окислительный стресс и его корреляция с параметрами гемодинамики при ИБС / Р. Заславская, Э. Щербань, М. Тейблём // Journal of Science. Lyon. – 2021. – № 26-1. – С. 19–22.
38. Игибаева, Г.Х. Антиоксиданты как потенциальные компоненты продуктов функционального питания / Г.Х. Игибаева // Инновации в пищевой биотехнологии: сборник тезисов VII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2019. – С. 342–343.
39. Идентификация и количественная оценка фенольных соединений в бутанольной фракции экстракта из цветков пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare*) / Т.А. Кроль, Л.В. Зиннатшина, Д.Н. Балеев [и др.] // Химия растительного сырья. – 2021. – № 4. – С. 129–137.
40. Изучение биологической активности природных антиоксидантов / А.В. Милованова, Е.Н. Офицеров, А.В. Сидоров [и др.] // Актуальные вопросы

эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики инфекционных и онкологических заболеваний: сборник трудов пяти конференций молодых ученых. – М., 2019. – С. 69–75.

41. Изучение эффективности средств растительного происхождения при токсическом поражении печени лабораторных животных / Е.В. Кузьмина, М.П. Семенов, О.И. Василиади [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 87. – С. 117–122.

42. Ильина, М.Б. Состав и содержание некоторых витаминов в листьях ежевики сизой (*Rubus caesius* L.) и водных извлечениях на их основе / М.Б. Ильина, Е.В. Сергунова // Фармация. – 2024. – Т. 73, № 3. – С. 33–37.

43. Интегральная оценка баланса перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы / Б.В. Давыдов, В.Ю. Полумисков, П.П. Голиков [и др.] // Тез докл. 4 Всесоюзного съезда специалистов по клин. лаб. диагностике. – М., 1991. – С. 48–49.

44. Интегральная оценка окислительно-восстановительных процессов в тканях печени крыс на фоне механической травмы глаза / О.Н. Павлова, О.Н. Гуленко, Е.С. Коровина [и др.] // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. – 2021. – № 5 (53). – С. 51–58.

45. Интегральная оценка окислительного гомеостаза ротовой полости при периимплантите / А.Н. Кизим, А.В. Шумский, О.Н. Павлова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 1-2 (115). – С. 106–112.

46. Интегральные гематологические индексы как маркер развития пострезекционной печеночной недостаточности / С.С. Дунаевская, К.В. Сачивко, А.А. Косик [и др.] // Российский медицинский журнал. – 2021. – № 6. – С. 101–104.

47. Интегральные гематологические индексы, как способ оценки реактивных изменений крови на нагрузку антиоксидантами / В.В. Леонов, О.Н. Павлова, О.Н. Гуленко [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2022. – № 4. – С. 133–140.

48. Использование коэффициентов оксидативного стресса для интегральной оценки окислительного гомеостаза организма при воздействии на секреторные кардиомиоциты / П.В. Борискин, О.Н. Павлова, О.Н. Гуленко [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 4-2 (106). – С. 36–41.

49. Исследование витаминного состава расторопши пятнистой / Д.А. Кашолкина М.А. Болгова, Н.Л. Клейменова [и др.] // Ползуновский вестник. – 2022. – № 3. – С. 160–165.

50. Исследование гепатопротекторного действия композиций, содержащих шрот расторопши пятнистой, при моделировании подострого гепатита у крыс / Ю.В. Землянова, Е.В. Полякова, Г.И. Боряев [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 253, № 1. – С. 107–115.

51. Исследование физиологических показателей крови у лабораторных животных при токсическом отравлении четыреххлористым углеродом с коррекцией кисломолочных продуктов с добавленным пищевым волокном / Т.Г. Кириятова, А.А. Габитова, А.К. Телеубекова [и др.] // Вестник КазНМУ. – 2020. – № 1-1. – С. 457–461.

52. Источники и мишени свободных радикалов в крови человека / Ю.А. Владимиров, Е.В. Проскурнина, М.М. Созарукова [и др.] ; под ред. Ю.А. Владимирова. – М. : ООО «МАКС Пресс», 2017. – 304 с.

53. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – М. : Изд. МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.

54. Конструирование и изучение свойств ветеринарного лечебного препарата на основе силимарина и наночастиц золота / Д.А. Солдатов, Н.И. Скворцова, А.Д. Клюкина [и др.] // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 8. – С. 92–96.

55. Королук, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Т. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

56. Костюк, В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кварцетина / В.А. Костюк // Вопр. мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88–91.
57. Краснолобова, Е.П. Диагностическое значение лейкоцитарных индексов у животных / Е.П. Краснолобова, Н.А. Череменина, С.П. Ковалев // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – № (4). – С. 140–143.
58. Краткий курс гистологической техники : учебно-методическое пособие / М.О. Мавликеев, С.С. Архипова, О.Н. Чернова [и др.]. – Казань: Казан. ун-т, 2020. – 107 с.
59. Кровоснабжение печени и клеточный состав крови и лимфы при экспериментальном токсическом гепатите международный / Л.Э. Булекбаева, А.Е. Ерлан, Ш.О. Рыспекова [и др.] // Журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 4. – С. 724–726.
60. Крячко, О.В. Влияние технологического стресса на иммунологическую реактивность поросят / О.В. Крячко, А.О. Будник // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 155–161.
61. Ладыженская, О.В. Анализ вариации количественных признаков ежевики (*Rubus L.*) в условиях московского региона / О.В. Ладыженская, Т.С. Аниськина, В.А. Крючкова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 12 (114). – URL: <https://research-journal.org/archive/12-114-2021-december/analiz-variatsii-kolichestvennykh-priznakov-ezheviki-rubus-l-v-usloviyakh-moskovskogo-regiona> (дата обращения: 04.02.2025).
62. Лейкоцитарные индексы клеточной реактивности крови при крупозной пневмонии жеребят / М.М. Жамбулов, И.Ф. Алимуллин, Е.Б. Шарафутдинова [и др.] // Материалы Международной (заочной) научно-практической конференции ; под общ. ред. А.И. Вострецова. – Нефтекамск, 2018. – С. 382–390.
63. Лекарственные поражения печени (клинические рекомендации для врачей) / В.Т. Ивашкин, А.Ю. Барановский, К.Л. Райхельсон [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2019. – № 29 (1). – С. 101–131.

64. Леонтьева, Н.В. Сравнительная характеристика антиоксидантной активности дигидрокверцетина, витамина С, нефромона плюс, валемидина плюс, полиоксидония / Н.В. Леонтьева, О.В. Ветровой // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины. – 2022. – № 2 (36). – С. 41–47.

65. Леонтьева, Н.В. Флавоноиды – природные антиоксиданты / Н.В. Леонтьева // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины. – 2024. – № 1 (43). – С. 44–50.

66. Луцкий, М.А. Окислительный стресс в патогенезе цереброваскулярных заболеваний и инсульта / М.А. Луцкий // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2014. – Т. 17, № 2. – С. 3–7.

67. Любина, Е.Н. Роль минеральных элементов в регуляции процессов свободнорадикального окисления на фоне применения препаратов витамина А и бета-каротина / Е.Н. Любина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 3 (31). – С. 64–68.

68. Магеррамова, С.И.К. Химический состав и пищевая ценность ежевики, произрастающей в Азербайджанской Республике, и их зависимость от вида и региона произрастания / С.И.К. Магеррамова // Химия растительного сырья. – 2022. – № 2. – С. 147–156.

69. Майорова, Е.А. Развитие окислительного стресса при физических нагрузках у спортсменов / Е.А. Майорова, В.В. Корнякова // Научный вестник Омского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 2, № 2. – С. 17–22.

70. Макарова, Н.В. Изучение содержания антиоксидантов и их активности в концентрированных экстрактах из ягод клюквы (*Vaccinium oxycoccos*), облепихи (*Hippophae rhamnoides* L.), ежевики (*Rubus fruticosus*), калины (*Viburnum opulus* L.) И рябины (*Sorbus aucuparia* L.) / Н.В. Макарова // Химия растительного сырья. – 2021. – № 4. – С. 157–164.

71. Мальцев, Г.Ю. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г.Ю. Мальцев, Н.В. Тышко // Гигиена и санитария. – 2002. – № 2. – С. 69–72.

72. Мамаев, В.Б. Трансдисциплинарный подход к свободнорадикальной теории старения. Вклад Н.М. Эмануэля и его научной школы в геронтологию / В.Б. Мамаев, Р.И. Жданов // Успехи геронтологии. – 2021. – Т. 34, № 5. – С. 658–671.

73. Маннапова, Р.Т. Восстановление перекисного окисления липидов и ультраструктуры печени на фоне комплексной терапии при кандидозах гусей / Р.Т. Маннапова, Р.Р. Шайхулов // Известия Дагестанского ГАУ. – 2024. – № 1 (21). – С. 129–135.

74. Маркеры окислительного стресса, воспаления и эндотелиальной дисфункции у больных ишемической болезнью сердца с сопутствующей дислипидемией / Ю.А. Котова, А.А. Зуйкова, О.Н. Красноручкая [и др.] // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 39–43.

75. Механизм действия флавонола лютеолина на функции митохондрий печени крыс / М.И. Асраров, Э.Дж. Комилов, Н.А. Эргашев [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2015. – № 12. – С. 38–43.

76. Морфологические изменения паренхиматозных органов лабораторных животных при остром воздействии тетрахлорметана / Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов, С.С. Байгильдин [и др.] // Гигиена и санитария. – 2020. – № 99(9). – С. 1001–1006.

77. Морфологические особенности гепатопротекторного действия антигипоксантов при остром поражении печени тетрахлорметаном в эксперименте / Э.Ф. Репина, Н.Ю. Хуснутдинова, Г.В. Тимашева [и др.] // Токсикологический вестник. – 2019. – № (1). – С. 43–48.

78. Мышкин, В.А. Морфофункциональные нарушения при токсическом поражении печени взрослых и старых крыс тетрахлорметаном и коррекция их комплексным соединением янтарной кислоты с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом / В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев, И.Д. Габдрахманова. – Томск, 2020. – С. 86.

79. Новые представления о гомеостазе и эволюции гомеостаза / В.Ф. Пятин, В.В. Еськов, О.Е. Филатова [и др.] // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2019. – № 1. – С. 21–27.

80. Нормативы по обслуживанию лабораторных животных в питомниках зоолаборантами / М.А. Акимова, М.Н. Макарова, С.В. Гущина [и др.] // Лабораторные животные для научных исследований. – 2024. – № 1.

81. Окислительный стресс при старении / Н.К. Зенков, П.М. Кожин, А.В. Чечушков [и др.] // Успехи геронтологии. – 2020. – Т. 33, № 1. – С. 10–22.

82. Оксидативный дистресс в патогенезе алкогольной болезни печени и пути его коррекции / С.П. Смолина, М.М. Петрова, В.И. Шаробаро [и др.] // Общая реаниматология. – 2016. – № 12(1). – С. 35–42.

83. Определение антирадикальной емкости антиоксидантов природного происхождения / Е.Р. Радостева, Д.И. Игдисанова, Е.Л. Герасимова [и др.] // Экологическая безопасность в техносферном пространстве: сборник материалов Второй Всероссийской с международным участием научно-практической конференции молодых ученых и студентов. – Екатеринбург, 2019. – С. 210–215.

84. Основы клинической ветеринарной гематологии : учебное пособие для вузов / С.П. Ковалев, А.В. Туварджиев, В.А. Коноплев [и др.]. – 2-е изд., стер. – СПб. : Лань, 2023. – 120 с.

85. Особенности прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза у свинок в течении воспроизводительного цикла / С.А. Усенко, А.М. Шостя, А.А. Полищук [и др.] // Мир медицины и биологии. – 2019. – Т. 15, № 2 (68). – С. 230–233.

86. Оценка качества плодов расторопши пятнистой, выращенной на территории Республики Бурятия / О.Л. Сайбель, Е.А. Коняева, О.Ю. Куляк [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27, № 3. – С. 30–34.

87. Павлова, О.Н. Исследование динамики активности каталазы в крови и тканях печени старых крыс при экспериментально индуцированной дислиппротеинемии на фоне механического повреждения скелетной мышцы /

О.Н. Павлова, О.Н. Тулаева // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. – 2023. – Т. 13, № 1. – С. 37–43.

88. Патент RU 2739855 Способ восстановления биохимических показателей периферической крови лабораторных животных с токсическим гепатитом: № 2020100837 : заявл. 2020.01.09 : опубл. 2020.12.29 / Гаврилов И.В., Вахрушева В.Ч., Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю.; патентообладатель Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Центр специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий» (RU); Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU).

89. Патент RU 2763478 С1. Способ оценки оксидативного стресса при метаболическом синдроме : № 2021103910 : заявл. 16.02.2021 : опубл. 2021.12.29 / Ю.И. Шрамко, А.В. Кубышкин, И.И. Фомочкина, К.О. Таримов ; Патентообладатели: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (ФГАОУ ВО "КФУ им. В.И. Вернадского») (RU).

90. Петренко, В.М. Гомеостаз индивида: лимфатическая и лимфоидная системы / В.М. Петренко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 8-1. – С. 46–51. – Режим доступа: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=9921> (дата обращения: 05.12.2023).

91. Помазанов, В.В. Польза антиоксидантов / В.В. Помазанов, А.О. Юханова, Я.Р. Высокос // Медицина и фармация. Прошлое, настоящее, будущее: сборник научных материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Орехово-Зуево, 2024. – С. 127–129.

92. Применение показателей свободнорадикального и перекисного окислительных процессов для оценки влияния различных средовых факторов на человека / Ю.Г. Выхованец, Е.В. Пшеничная, С.М. Тетюра [и др.] // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2024. – Т. 33, № 1. – С. 54–60.

93. Променашева, Т.Е. Роль оксидативного стресса и системы глутатиона в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени / Т.Е. Променашева, Л.С. Колесниченко, Н.М. Козлова // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2014. – № 5. – С. 80–83.
94. Рамазанов, А.Ш. Химический состав плодов и масла расторопши пятнистой, произрастающей на территории Республики Дагестан / А.Ш. Рамазанов., Ш.А. Балаева, К.Ш. Шахбанов // *Химия растительного сырья*. – 2019. – № 2. – С. 113–118.
95. Рахымжан, Г.Ж. Оценка влияния фитопрепарата на биохимические показатели крови при экспериментальном гепатите / Г.Ж. Рахымжан, А.Н. Аралбаева, М.К. Мурзахметова // *Образовательный вестник «Сознание»*. – 2016. – № 12. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-vliyaniya-fitopreparata-na-biohimicheskie-pokazateli-krovi-pri-eksperimentalnom-gepatite> (дата обращения: 08.01.2024).
96. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – 3-е изд. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
97. Рогожин, В.В. Повышение чувствительности метода определения концентрации малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / В.В. Рогожин, Т.Т. Курилюк // *Аналитика Сибири и Дальнего Востока: тезисы VII конференции*. – Новосибирск, 2004. – С. 90.
98. Роллс, Д.О. 101 шаг на пути к успеху в гистологии / Джеффри О. Роллс; пер. с англ. Г.А. Франк, П.Г. Мальков, А.М. Клемент, Н.В. Данилова, Л.В. Москвина, Л.Э. Завалишина. – Germany: Leica Microsystems Vetzlar, 2012. – 136 с.
99. Роль окислительного стресса в патофизиологии кардиоваскулярной патологии / И.В. Демко, Е.А. Собко, И.А. Соловьева [и др.] // *Вестник современной клинической медицины*. – 2022. – Т. 15, № 1. – С. 107–117.
100. Роль процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантного статуса в патогенезе хронического панкреатита / Е.В. Акулёнок, Е.В. Иванишкина, И.Н. Нанкевич [и др.] // *Вестник*

Смоленской государственной медицинской академии. – 2024. – Т. 23, № 1. – С. 203–208.

101. Росихин, Д.В. Анализ жирного масла расторопши пятнистой, культивируемой в Самарской области / Д.В. Росихин, Т.К. Рязанова // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2017. – № 17. – С. 214–216.

102. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.

103. Рыбакова, А.А. Оксидативный стресс и его роль в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / А.А. Рыбакова, Н.М. Платонова, Е.А. Трошина // Проблемы Эндокринологии. – 2019. – № 65 (6). – С. 451–457.

104. Рябыкина, Н.В. Возрастная динамика свободнорадикальных процессов у самцов крыс при введении антиоксидантов и в условиях стресса / Н.В. Рябыкина // Молодой ученый. – 2020. – № 23 (313). – С. 68–73.

105. Свободнорадикальное окисление как патогенетическое звено метаболического синдрома / Д.А. Аникин, И.А. Соловьева, И.В. Демко [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2022. – № 19 (3). – С. 306–316.

106. Семёнова, Н.В. Свободнорадикальное окисление при нарушениях сна в андро- и менопаузе (обзор литературы) / Н.В. Семёнова, И.М. Мадаева, Л.И. Колесникова // Acta Biomedica Scientifica. – 2020. – Т. 5, № 1. – С. 31–41.

107. Сидельников, Н.И. Актуальные направления изучения перспективных видов лекарственных растений / Н.И. Сидельников // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2024. – № 14 (2). – С. 128–131.

108. Синусоидальные клетки и цитокиновый ответ при тетрахлорметан-индуцированной гепатотоксичности и способ ее коррекции [Электронный ресурс] / З.А. Шафигуллина, И.Г. Данилова, С.Ю. Медведева [и др.] // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 5. – С. 929–936.

109. Система антиоксидантной защиты: регуляция метаболических процессов, генетические детерминанты, методы определения / О.А. Никитина,

М.А. Даренская, Н.В. Семёнова [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2022. – № 42 (3). – С. 4–17.

110. Содержание и фармакологические свойства биологически активных компонентов ежевики / И.В. Сафронова, И.А. Гольдина, К.В. Гайдуль [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2017. – № (4). – С. 96–106.

111. Созарукова, М.М. Сывороточный альбумин как источник и мишень свободных радикалов в патологии / М.М. Созарукова, Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2016. – № 1. – С. 61–67.

112. Сорокина, Ю.А. Коэффициенты окислительного стресса как способ персонифицирования фармакотерапии в дебюте СД 2 типа / Ю.А. Сорокина, Л.В. Ловцова // Universum: Медицина и фармакология : электрон. научн. журн. – 2015. – № 1 (14). – Режим доступа: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/1868> (дата обращения: 15.09.2024).

113. Сравнительная оценка морфологических механизмов поддержания структурного гомеостаза печени в динамике воздействия на организм угольно-породной пыли и фторида натрия / М.С. Бугаева, О.И. Бондарев, Н.Н. Михайлова [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2020. – № (3). – С. 189–194.

114. Сравнительная оценка обеспеченности микронутриентами с антиоксидантным спектром действия у юношей северного региона с различным уровнем двигательной активности / Т.Я. Корчина, Е.П. Федорова, В.И. Корчин [и др.] // Микроэлементы в медицине. – 2023. – Т. 24, № 1. – С. 30–38.

115. Сравнительная эффективность синтетического и природного антиоксидантов в коррекции неонатального окислительного стресса у телят / А.П. Лашин, Н.В. Симонова, И.Ю. Саяпина [и др.] // Дальневосточный аграрный вестник. – 2021. № 1 (57). – С. 28–35.

116. Сравнительная эффективность синтетического и природного антиоксидантов при токсическом повреждении печени четыреххлористым углеродом / Н.В. Симонова, В.А. Доровских, М.А. Штарберг [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – № 67. – С. 64–69.

117. Сравнительные показатели свободнорадикальных процессов в печени собак с острым панкреатитом под влиянием натуральных и синтетических антиоксидантов / Г.С. Ивченко, А.А. Ивченко, Т.В. Белоусова [и др.] // Современные вопросы биомедицины. – 2024. – Т. 8, № S1 (27).

118. Тиханов, В.И. Реципрокность между м- и н-холинореактивными структурами ткани печени при анализе условий, субстратов и продуктов свободнорадикального окисления липидов печени при пятидневном охлаждении крыс / В.И. Тиханов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2019. – Т. 17, № 3. – С. 51–58.

119. Токсические поражения печени при острых отравлениях и эндогенной интоксикации (обзор литературы) / Р.Н. Акалаев, А.А. Стопницкий, Г.З. Арипходжаева [и др.] // Вестник экстренной медицины. – 2020. – Т. 13, № 6. – С. 95–102.

120. Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья травы пижмы обыкновенной и недопустимой примеси к сырью растений рода лютик / Я.В. Стоянова, А.В. Стреляева, Р.М. Кузнецов [и др.] // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2023. – Т. 22, № 2. – С. 215–222.

121. Фармакотерапевтические эффекты и клинические возможности эталонного препарата Силимарина / Н.Б. Губергриц, П.Г. Фоменко, Г.М. Лукашевич [и др.] // Гастроэнтерология. – 2012. – № 2 (235). – С.24–31.

122. Фурман, Ю.В. Окислительный стресс и антиоксиданты / Ю.В. Фурман, Е.Б. Артюшкова, А.В. Аниканов // Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания. – 2019. – № 1 (17). – С. 1–3.

123. Хилинская, А.В. Краткое описание соединений окислительного стресса, афк и антиоксидантов при сахарном диабете / А.В. Хилинская // Сборник материалов республиканской научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Туревского Абрама Аркадьевича. – Гродно, 2023. – С. 786–787.

124. Хужахметова, Л.К. Особенности свободнорадикальных процессов при иммобилизационном стрессе у крыс в онтогенезе / Л. К. Хужахметова, Д. Л. Теплый // Естественные науки. – 2016. – № 4 (57). – С. 72–78.

125. Цейликман, В.Э. Влияние окислительного стресса на организм человека / В.Э. Цейликман, А.А. Лукин // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 3-1 (117). – С. 94; 206–211.

126. Чаулин, А.М. Статины и окислительный стресс при сердечно-сосудистой патологии / А.М. Чаулин, В.А. Ваньков // Бюллетень науки и практики. – 2022. – Т. 8, № 6. – С. 398–417.

127. Чиряпкин, А.С. Обзор биологической активности флавоноидов: кверцетина и кемпферола / А.С. Чиряпкин, Д.С. Золотых, Д.И. Поздняков // *Juvenis scientia*. – 2023. – Т. 9, № 2. – С. 5–20.

128. Чугунова, О.В. Исследование антиоксидантной активности и ее изменения при хранении плодово-ягодного сырья Свердловской области / О.В. Чугунова, Н.В. Заворохина, А.В. Вяткин // *Аграрный вестник Урала*. – 2019. – № 11 (190). – С. 59–65.

129. Шакирова, Г.Р. Ультраструктура спинномозговых узлов крыс при экспериментальной патологии и коррекции расторопшей пятнистой / Г.Р. Шакирова, Д.М. Шакирова // *Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения: сборник трудов научно-практической конференции ; под общей редакцией С.В. Позябина, Л.А. Гнездиловой*. – Москва, 2022. – С. 75–77.

130. Шичкова, Ю.С. Роль путей клеточной сигнализации в развитии последствий окислительного стресса / Ю.С. Шичкова // *Научный электронный журнал «Меридиан»*. – 2020. – № 3 (37). – С. 6–8.

131. Эффективность гепатопротективных свойств антиоксидантов на примере тиоктовой кислоты / М.Х.Б. Бураева, В.А. Нищенко, И.Б. Месхи [и др.] // *75-я Итоговая научная конференция студентов Ростовского государственного медицинского университета : сборник материалов*. – Ростов н/Д, 2021. – С. 22–23.

132. Antifungal and Synergistic Effects of the Ethyl Acetate Extract of *Tanacetum vulgare* (L.) Against *Candida albicans* / A. Kameri, F. Koçani, Z. Hashani [et al.] // *Medical Science Monitor Basic Research*. – 2019. – Vol. 27. – P. 179–186.

133. Association of oxidative stress with expression of liver fibrosis in patients with *opisthorchis felinus* invasion / V.V. Tsukanov, E.G. Gorchilova, J.L. Tonkikh [et al.] // *Hepatology*. – 2021. – T. 74, № S1. – P. 417A.

134. Biomarkers of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome and Associated Diseases / R. Vona, L. Gambardella, C. Cittadini [et al.] // *Oxid Med Cell Longev*. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1–19.

135. Celecoxib ameliorates liver cirrhosis via reducing inflammation and oxidative stress along spleen-liver axis in rats / Sh. Tang, Zh. Huang, J. Jiang [et al.] // *Life Sciences*. – 2021. – T. 272. – P. 119203.

136. Co-encapsulation of ω -3 LC-PUFAs and carotenoids for enhanced synergistic antioxidant effects / Y. Zhu, Ch. Zhang, X. Sun [et al.] // *eFood*. – 2024. – T. 5, № 5.

137. Combined diabetes and chronic stress exacerbates cytokine production and oxidative stress in rat liver and kidney / H. Dab, S. Ben Hamed, W. Hodroj [et al.] // *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. – 2023. – T. 37, № 1. – P. 250–259.

138. Composition and Antioxidant Activity of Aqueous Extracts Obtained from Herb of Tansy (*Tanacetum Vulgare* L.) / C.A. Mot, A.I. Lupitu, S. Bangau [et al.] // *Revista de Chimie*. – 2018. – Vol. 69, No 5. – P. 1041–1044.

139. Dietary antioxidants in the treatment of male infertility: counteracting oxidative stress / E. Torres-Arce, B. Vizmanos, F. Márquez-Sandoval [et al.] // *Biology*. – 2021. – T. 10. – № 3.

140. Dubey, S. Antioxidants: an approach for restricting oxidative stress induced neurodegeneration in alzheimer's disease / S. Dubey, E. Singh // *Inflammopharmacology*. – 2023. – T. 31, № 2. – P. 717–730.

141. Estrogenic Plants: to Prevent Neurodegeneration and Memory Loss and Other Symptoms in Women After Menopause / V. Echeverria, F. Echeverria, G.E. Barreto [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021-05-20. – T. 12.

142. Expression of CD4+CD25+CD127low regulatory t cells and cytokines in peripheral blood of patients with primary liver carcinoma / W. Zhou, J. Deng, Q. Chen [et al.] // *International Journal of Medical Sciences*. – 2020. – T. 17, № 6. – P. 712–719.

143. Han, X. Effect of combined treatment with human umbilical cord blood mononuclear cells and human umbilical cord mesenchymal stem cells on liver function, inflammation grade, and immune function in patients with hepatitis B cirrhosis / X. Han, S. Yun // *Journal of Clinical Hepatology*. – 2021. – T. 37, № 8. – P. 1822–1828.

144. In vitro study on the antitumor activity of *Tanacetum vulgare* L. extracts / A. Vasileva, I.A. Iliev, V. Lozanov [et al.] // *Bulgarian Chemical Communications*. – 2019. – Vol. 51, No 2. – P. 249–255.

145. Kehrer, J.P. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health / J.P. Kehrer, L.O. Klotz // *Critical Reviews in Toxicology*. – 2015. – Vol. 45 (9). – P. 765–798.

146. Kim, Y.-M., Reactive oxygen species-induced reactive oxygen species release in vascular signaling and disease / Y.-M. Kim, M. Ushio-Fukai // *Endothelial Signaling in Vascular Dysfunction and Disease: From Bench to Bedside*. – 2021. – P. 17–27.

147. Kopcha, V.S. Clinical cases of toxic hepatitis: aspects of differential diagnosis with viral hepatitis / V.S. Kopcha, Y.F. Koshak // *Contemporary gastroenterology*. – 2023. – № 5. – P. 56–69.

148. Kumar, G.L. Education guide / G.L. Kumar, L. Rudbeck // *Immunohistochemical (IHC) staining methods*. Dako North America, Carpinteria, California. – 2009. – 160 p.

149. Liang, S. The Role of NADPH Oxidases (NOXs) in Liver Fibrosis and the Activation of Myofibroblasts / S. Liang, T. Kisseleva, D.A. Brenner // *Front. Physiol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 17.

150. Limón-Pacheco, J. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress / J. Limón-Pacheco, M.E. Gonsebatt // *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. – 2009. – T. 674, № 1-2. – P. 137–147.

151. Lushchak, V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification / V.I. Lushchak // *Chemico-biological interactions*. – 2014. – Vol. 224. – P. 164–175.

152. Mansouri, A. Mitochondrial Dysfunction and Signaling in Chronic Liver Diseases / A. Mansouri, C.H. Gattolliat, T. Asselah // *Gastroenterology*. – 2018. – Vol. 155. – P. 629–647.
153. Mechanochemical synergism of reactive oxygen species influences on rbc membrane / E. Kozlova, V. Sergunova, E. Sherstyukova [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – T. 24, № 6. – P. 5952.
154. Microbial antioxidant defense enzymes / C. Staerck, A. Gastebois, P. Vandeputte [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2017. – Vol. 110. – P. 56–65.
155. Miller, A.F. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights / A.F. Miller // *FEBS Letters*. – 2012. – Vol. 586 (5). – P. 585–595.
156. Mizushima, T. Development of lecithinized superoxide dismutase as a drug for IPF / T. Mizushima // *Yakugaku Zasshi*. – 2014. – Vol. 134 (1). – P. 69–76.
157. Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus / H. Yaribeygi, T. Sathyapalan, S.L. Atkin [et al.] // *Oxid Med Cell Longev*. – 2020. – № 2020 (2). – P. 1–13.
158. Mukherjee, G. An electron transfer competent structural ensemble of membrane-bound cytochrome P450 1a1 and cytochrome P450 oxidoreductase / G. Mukherjee, P.P. Nandekar, R.C. Wade // *Communications Biology*. – 2021. – T. 4, № 1. – C. 55.
159. Natural antioxidants inhibit oxidative stress-induced changes in the morphology and motility of cells / X. Xiang, A.W. Kwame, Y. Qing [et al.] // *Food Bioscience*. – 2023. – T. 52. – P. 102442.
160. New Insights into the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Gut-Derived / D. Ferro, F. Baratta, D. Pastori [et al.] // *Lipopolysaccharides and Oxidative Stress Nutrients*. – 2020. – Vol. 12(9). – P. 2762.
161. Novel mechanisms for superoxide-scavenging activity of human manganese superoxide dismutase determined by the K68 key acetylation site / J. Lu, K. Cheng, B. Zhang [et al.] // *Free radical biology and medicine*. – 2015. – Vol. 85. – P. 114–126.

162. NOX2-Generated Oxidative Stress Is Associated With Severity of Ultrasound Liver Steatosis in Patients With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease / M. Del Ben, L. Polimeni, R. Carnevale [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 14. – P. 81.
163. Omura, T. The carbon monoxide-binding pigment / T. Omura, R. Sato // *Journal Biological Chemistry.* – 1964. – Vol. 7. – P. 2370.
164. Oxidative stress and antioxidants in atherosclerosis development and treatment / A.V. Poznyak, A.V. Grechko, V.A. Orekhova [et al.] // *Biology.* – 2020. – T. 9, № 3. – P. 60.
165. Oxidative stress, reductive stress and antioxidants in vascular pathogenesis and aging / M. Mladenov, L. Lubomirov, O. Grisk [et al.] // *Antioxidants.* – 2023. – T. 12, № 5. – P. 1126.
166. Oxidative Stress: New Insights on the Association of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Atherosclerosis / L. Polimeni, M. Del Ben, F. Baratta [et al.] // *World J. Hepatol.* – 2015. – Vol. 7. – P. 1325–1336.
167. Paulis, G. Role of oxidative stress in peyronie’s disease: biochemical evidence and experiences of treatment with antioxidants / G. Paulis, G. De Giorgio, L. Paulis // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2022. – T. 23, № 24. – P. 15969.
168. Potential of mitochondria-targeted antioxidants to prevent oxidative stress in pancreatic β -cells / L. Plecítá-Hlavatá, H. Engstová, J. Ježek [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2019. – T. 2019. – P. 1826303.
169. Prevention of the harmful effects of free oxygen radicals by using n-acetylcysteine in testicular torsion / S.U. Tangül, A.M. Çakmak, O. Çağlayan [et al.] // *Journal of Pediatric Urology.* – 2020. – T. 16, № 1. – P. 42.e1-42.e8.
170. Prieto, I. ROS homeostasis, a key determinant in liver ischemic preconditioning / I. Prieto, M. Monsalve // *Redox biology.* – 2017. – Vol. 12. – P. 1020–1025.
171. Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways / P. Yao, A. Nussler, L. Liu [et al.] // *J Hepatol.* – 2007 Aug. – Vol. 47 (2). – P. 253–261.

172. Radical response: effects of heat stress-induced oxidative stress on lipid metabolism in the avian liver / N.K. Emami, S. Dridi, U. Jung [et al.] // *Antioxidants*. – 2021. – T. 10, № 1. – P. 1–15.

173. Rasmus, P. Antioxidant and anti-inflammatory effects of carotenoids in mood disorders: an overview / P. Rasmus, E. Kozłowska // *Antioxidants*. – 2023. – T. 12, № 3. – P. 676.

174. Research progress of antioxidants in oxidative stress therapy after spinal cord injury / C. Zhang, T. Zhai, J. Zhu [et al.] // *Neurochemical Research*. – 2023. – T. 48, № 12. – P. 3473–3484.

175. Role of oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in drug-induced liver injury / H. Wu, X. Bao, A.H. Gutierrez [et al.] // *Exploration of Digestive Diseases*. – 2023. – P. 83–99.

176. Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease / Z. Chen, R. Tian, Z. She [et al.] // *Free. Radic. Boil. Med.* – 2020. – Vol. 152. – P. 116–141.

177. Rolo, A.P. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis / A.P. Rolo, J.S. Teodoro, C.M. Palmeira // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 1, No 1. – P. 59–69.

178. Salivary oxidative stress in oral lichen planus treated with triamcinolone mouthrinse / A. Mansourian, F. Agha-Hosseini, H.H. Kazemi [et al.] // *Dental research journal*. – 2017. – Vol. 14 (2). – P. 104–110.

179. Similar Reduction of Cholesterol-Adjusted Vitamin E Serum Levels in Simple Steatosis and Non-Alcoholic Steatohepatitis / D. Pastori, F. Baratta, R. Carnevale [et al.] // *Clin. Transl. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 6. – P. e113.

180. Study of dry extract of tansy (*Tanacetum vulgare*) using the method of high-performance liquid chromatography / M.Y. Zolotaikina, T.M. Hontova, A.H. Kotov [et al.] // *Der Pharma Chemica*. – 2017. – Vol. 9, No 11. – P. 1–4.

181. Superoxide dismutase administration, a potential therapy against oxidative stress related diseases: several routes of supplementation and proposal of an original

mechanism of action / J. Carillon, J.M. Rouanet, J.P. Cristol [et al.]. // *Pharm Res.* – 2013. – Vol. 30 (11). – P. 2718–2728.

182. Surface functionalization of pegylated gold nanoparticles with antioxidants suppresses nanoparticle-induced oxidative stress and neurotoxicity / X. Zhang, X. Guo, X. Kang [et al.] // *Chemical Research in Toxicology.* – 2020. – T. 33, № 5. – P. 1195–1205.

183. The berry constituents quercetin, kaempferol, and pterostilbene synergistically attenuate reactive oxygen species: Involvement of the Nrf2-ARE signaling pathway / C.L.L. Saw, Y. Guo, A.Y. Yang [et al.] // *Food and Chemical Toxicology.* – 2014. – № 72. – P. 303–311.

184. The influence of antioxidants on oxidative stress-induced vascular aging in obesity / H. Sharebiani, Sh. Keramat, A. Chavoshan [et al.] // *Antioxidants.* – 2023. – T. 12, № 6. – P. 1295.

185. The link between selenium, oxidative stress and pregnancy induced hypertensive disorders / T.O. Bizerea, O. Marginean, R. Stroescu [et al.] // *Clinical Laboratory.* – 2018. – T. 64, № 10. – P. 1593–1610.

186. The mechanism and biochemistry in oxidative stress a brief overview / Iu.M. Iancu Greceanu, H.I. Tănase, C.M. Dobrescu [et al.] // *Current Trends in Natural Sciences.* – 2023. – T. 12, № 24. – P. 84–96.

187. Tovmasyan, A. Simple biological systems for assessing the activity of superoxide dismutase mimics / A. Tovmasyan, J.S. Reboucas, L. Benov // *Antioxidants & redox signaling.* – 2014. – Vol. 20 (15). – P. 2416–2436.

188. Trefts, E. The Liver / E. Trefts, M. Gannon, D.H. Wasserman // *Curr. Boil.* – 2017. – Vol. 27. – P. R1147–R1151.

189. Uncovering a new role for peroxidase enzymes as drivers of angiogenesis / V. Panagopoulos, I. Zinonos, D.A. Leach [et al.] // *The international journal of biochemistry & cell biology.* – 2015. – Vol. 68. – P. 128–138.

190. Valeeva, E.T. Polymorphism of glutathione s-transferase genes and the risk of toxic liver damage in petrochemical workers / E.T. Valeeva, G.F. Mukhammadiyeva,

A.B. Bakirov // International Journal of Occupational and Environmental Medicine. – 2020. – T. 11, № 1. – P. 53–58.

191. Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention / S.J. Padayatty, A. Katz, Y. Wang [et al.] // J. Am. Coll. Nutr. – 2003. – Vol. 22. – P. 18–35.

192. Yang, B. Clinical evidence on potential health benefits of berries / B. Yang, M. Kortessniemi // Current Opinion in Food Science. – 2015. – Vol. 2. – P. 36–42.

193. Yang, C.S. Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea polyphenols / C.S. Yang, J.D. Lambert, S. Sang // Arch. Toxicol. – 2009. – Vol. 83. – P. 11–23.

194. Yang, S.P. Cytochrome P450 expression and activities in human tongue cells and their modulation by green tea extract / S.P. Yang, G.M. Raner // Toxicol Appl Pharmacol. – 2005. – Vol. 202 (2). – P. 140–150.