

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**НИКИФОРУК АНДРІЙ ЯРОСЛАВОВИЧ**

УДК 615.32-085]-092.4

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАСОБІВ РОСЛИННОГО  
ПОХОДЖЕННЯ З АНТИОКСИДАНТНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ**

226 – Фармація, промислова фармація (22 Охорона здоров'я)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ А. Я. Никифрук

Науковий керівник: Фіра Людмила Степанівна, доктор біологічних наук,  
професор

Тернопіль – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Никифорок А. Я.* Фармакологічне дослідження засобів рослинного походження з антиоксидантними властивостями. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація, промислова фармація (22 Охорона здоров'я). – Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2021.

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2021.

Дисертація присвячена вивченню протизапальних, антиоксидантних та гепатопротекторних властивостей густого екстракту зі шпинату городнього листа на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів, а також антиоксидантних й анаболічних властивостей сухого екстракту зі шпинату городнього листа за умов харчової депривації.

Одержані результати досліджень гострої токсичності досліджуваних екстрактів дозволили встановити відсутність їх токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам самцям та самицям у дозі 5000 мг/кг маси тіла тварин. Встановлено, що  $LD_{50}$  обидвох екстрактів знаходиться за межами 5000 мг/кг. Це дало змогу віднести дані фармакологічні препарати до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини.

Проведені дослідження з визначення мінімально діючих доз густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа встановили, що густий екстракт, після ураження печінки тварин тетрахлорметаном, проявляє виражені антиоксидантні, гепатопротекторні та мембраностабілізуючі властивості у дозі 150 мг/кг, про що свідчить відновлення проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів, зниження активності процесів ліпопероксидації та відновлення активності ензимів антиоксидантної системи. Сухий екстракт в умовах харчової депривації щурів проявляє виражену анаболічну та

антиоксидантну дію в дозі 100 мг/кг, що підтверджується підвищенням маси тіла тварин, вмісту протеїну в досліджуваних тканинах, відновленням добового діурезу, нормалізацією вмісту сечовини, а також пригніченням активності окислювальних процесів та відновленням активності ензимної ланки антиоксидантної системи захисту.

Встановлено, що густий та сухий екстракти зі шпинату городнього листя не проявляють подразнювальний вплив на слизову оболонку шлунку щурів, що вказує на відсутність ульцерогенного впливу даних засобів.

Результати, отримані під час вивчення протизапальних властивостей густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя на моделі карагенінового набряку лапи щурів, підтверджують їх помірну протизапальну активність, що проявляється вірогідним зменшенням розміру набряку лапи щурів протягом 24-ох годин експерименту.

Після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя у дозі 150 мг/кг, відмічено його позитивний коригувальний вплив на процеси ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, про що свідчить вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження даних показників в організмі щурів із тетрахлорметановим гепатитом. На тлі активованих вільнорадикальних процесів відмічалось вірогідне зниження активності супероксиддисмутази й каталази, вмісту відновленого глутатіону та виражене підвищення вмісту церулоплазміну у сироватці крові (на 55 % в останній термін дослідження). Застосування густого екстракту призвело до нормалізації активності антиоксидантних ензимів, підвищення вмісту відновленого глутатіону, а також зниження вмісту церулоплазміну (на 47 % до кінця експерименту) в сироватці крові тварин із тетрахлорметановим гепатитом.

Після ураження тварин тетрахлорметаном спостерігалось вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) підвищення у сироватці крові та зниження у печінці органоспецифічних ензимів, зокрема аланін- та аспартатамінотрансферази. Застосування густого екстракту в останні терміни дослідження призвело до зниження їх активності у сироватці крові в 1,9 та 1,4 раза та підвищення у

печінці уражених тварин у 1,9 та 1,5 раза відповідно (щодо рівня контрольної патології). Відмічені зміни активності гама-глутамілтранспептидази в уражених тетрахлорметаном тварин, на що позитивно вплинуло використання досліджуваного екстракту. Прогресуюче підвищувалась у сироватці крові і, відповідно, знижувалась у печінці уражених тетрахлорметаном тварин активність лужної фосфатази, яка відновлювалася після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя. У тварин, уражених тетрахлорметаном, спостерігалось підвищення відсотку проникності еритроцитарних мембран (на 10-ту добу на 35,5 %), який після застосування густого екстракту зменшувався. На зниження проявів ендогенної інтоксикації після застосування досліджуваного екстракту в уражених тетрахлорметаном тварин вказує зменшення підвищеного вмісту маркерів даного процесу, а саме молекул середньої маси обох фракцій.

Доведені помірні жовчогінні властивості густого екстракту за умов тетрахлорметанового гепатиту щурів, про що свідчить збільшення об'єму жовчі на 24,2 % та швидкості її секреції на 26,9 % у групах тварин, які піддавались корекції густим екстрактом протягом 10-ти діб дослідження. Після застосування густого екстракту спостерігалось вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту жовчних кислот у сироватці крові й жовчі та вмісту загального білірубіну в сироватці крові тварин за умов токсичного гепатиту.

Отримані результати досліджень на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів доводять антиоксидантні властивості густого екстракту зі шпинату городнього листя, що підтверджуються його здатністю до пригнічення вільнорадикальних процесів, а саме процесів ліпопероксидації та модифікації протеїнових молекул, до відновлення активності ензимної та неензимної ланок антиоксидантної системи в організмі уражених тетрахлорметаном тварин.

Про підтвердження гепатопротекторних та мембранопротекторних властивостей густого екстракту свідчить зниження активності амінотрансфераз, гама-глутамілтранспептидази, лужної фосфатази в сироватці крові, проникності

еритроцитарних мембран та проявів ендогенної інтоксикації, а також відновлення жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій в уражених тетрахлорметаном тварин.

Отримані результати з вивчення гепатопротекторних властивостей густого екстракту зі шпинату городнього листя підтверджені морфологічними дослідженнями структури печінки. Корекція токсичного її ураження була максимально ефективна через 10 діб застосування досліджуваного засобу.

Дослідження антиоксидантних та анаболічних властивостей сухого екстракту зі шпинату городнього листя у дозі 100 мг/кг були проведені в умовах 7-ми денної харчової депривації. За даних умов спостерігалось зниження загальної маси тіла та окремих органів (печінки, серця, правої та лівої нирок) експериментальних тварин. Корекція зниженого рівня даних морфометричних показників сухим екстрактом зі шпинату городнього листя призвела до позитивного його впливу, що свідчить про протекторну активність досліджуваного екстракту.

Відмічено позитивний вплив сухого екстракту на функціональну спроможність нирок та печінки щурів, які піддавались харчовій депривації. В останні терміни дослідження на тлі голодування, спостерігалось пригнічення добового діурезу (на 40 %), підвищення вмісту сечовини у сироватці крові (в 1,9 раза) й сечі (в 2,5 раза) та зниження концентрації креатиніну (на 21,8 %) у сироватці крові й сечі (на 4,9 %) експериментальних тварин. Встановлено зниження вмісту загального протеїну в сироватці крові (на 10 %), печінці й м'язах (на 12,5 %) щурів в умовах харчової депривації. Застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листя протягом 7-ми діб сприяло нормалізації вище описаних показників, а також відновленню протеїнових ресурсів у організмі голодуючих тварин, що підтверджує його анаболічні властивості.

Після застосування протягом 7-ми діб сухого екстракту зі шпинату городнього листя у голодуючих щурів, встановлено його позитивний вплив на показники ліпопероксидації, зокрема на вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові, печінці та м'язах. На тлі харчової депривації відмічено

зниження вмісту церулоплазмину в сироватці крові тварин на 13 %, рівень якого вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищився після застосування досліджуваного екстракту. Встановлено підвищення активності каталази після застосування екстракту, яка прогресуюче знижувалась у сироватці крові, печінці та м'язах голодуючих тварин. Це свідчить про антиоксидантні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листа. Зниження вмісту молекул середньої маси після його застосування вказує на пригнічення ступеня ендогенної інтоксикації, що може бути підтвердженням сорбтивних властивостей екстракту.

Експериментально встановлено, що густий екстракт зі шпинату городнього листа проявляє коригуючий вплив на прооксидантно-антиоксидантний баланс в організмі уражених тетрахлорметаном тварин, нормалізуючий вплив на процеси вільнорадикального окислення, стабілізуючий вплив на плазматичні та цитоплазматичні мембрани, помірні жовчогінні та протизапальні властивості, стимулює детоксикаційну функцію печінки. Все це дозволяє рекомендувати його для подальших досліджень з метою введення у прикладну медицину як протизапального, антиоксидантного та гепатопротекторного засобу. Сухий екстракт зі шпинату городнього листа проявляє протекторні властивості при процесах генералізованого катаболізму протеїнів за умов харчової депривації, сприяє збереженню діуретичної функції, відновлює протеїнові ресурси в організмі, пригнічує активовані окислювальні процеси та процеси катаболізму протеїнів, проявляє сорбтивні властивості та знижує прояви ендогенної інтоксикації. Це дає змогу рекомендувати його для подальших досліджень та введення у прикладну медицину як антиоксидантного та анаболічного засобу.

*Наукова новизна.* Вперше доведена нетоксичність густого та сухого екстрактів з листа шпинату городнього та встановлено, що обидва фармакологічні препарати відносяться до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини. Запропонована мінімально діюча доза густого та сухого екстрактів – 150 мг/кг та 100 мг/кг маси тіла тварин відповідно, які визначені на моделі тетрахлорметанового ураження печінки та харчової депривації щурів.

Встановлена відсутність ульцерогенної дії густого та сухого екстрактів з листя шпинату городнього у запропонованих мінімально діючих дозах. На моделі карагенінового набряку лапи щурів встановлена протизапальна активність екстрактів зі шпинату городнього листя, яка більш виражена у густого екстракту.

Вперше запропоновано для корекції токсичних уражень печінки густий екстракт зі шпинату городнього листя. В експерименті на тваринах зі змодельованим гострим тетрахлорметановим гепатитом доведена ефективність густого екстракту зі шпинату городнього листя як гепатопротекторного засобу, вплив якого проявляється через антиоксидантні та мембраностабілізуювальні властивості. Встановлено позитивний вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя на жовчоутворювальну та жовчовидільну функцію печінки в уражених тетрахлорметаном тварин.

Вперше досліджені анаболічні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листя за умов харчової депривації у щурів. Встановлена протекторна активність сухого екстракту, про що свідчить суттєвий вплив на морфометричні показники щурів на тлі харчової депривації. Доведений позитивний вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на функціональну спроможність нирок, на що вказує підвищення добового діурезу, рівня сечовини та підвищення концентрації креатиніну в тварин із харчовою депривацією, а також відновлення протеїнових ресурсів в організмі.

Вперше встановлений позитивний вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на окиснювальні процеси в організмі щурів за голодування. Виявлені сорбтивні властивості сухого екстракту з листя шпинату городнього, що супроводжується зменшенням проявів ендогенної інтоксикації у щурів за умов повного голодування.

За результатами досліджень отримано патент України на корисну модель (№ 136789 від 27.08.2019).

*Практичне значення одержаних результатів.* Доведена відсутність токсичності та ульцерогенної дії густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа.

Підібрані та запропоновані для подальших досліджень мінімально діючі дози густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа.

Досліджена протизапальна активність густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа дозволить провести подальше вивчення даних екстрактів з метою використання їх при створенні нових рослинних протизапальних засобів, які будуть включені до комплексних схем лікування запалень різної етіології.

Виявлені антиоксидантні, мембраностабілізуювальні та жовчогінні властивості густого екстракту зі шпинату городнього листа дозволять провести подальше вивчення з метою впровадження його у виробництво та використання для лікування захворювань печінки.

Доведені анаболічні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листа роблять доцільними подальші дослідження з метою використання його як рослинного засобу при порушеннях протеїнового обміну.

*Ключові слова:* густий екстракт, сухий екстракт, шпинат городній, тетрахлорметанове ураження печінки, гепатопротекторна активність, антиоксидантна активність, мембраностабілізуювальна дія, протизапальна дія, жовчогінна дія, харчова депривація, анаболічна активність.

## ANNOTATION

*Nykyforuk A. Ya.* Pharmacological research of herbal remedies with antioxidant properties. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on acquisition of a scientific degree of the doctor of philosophy in a specialty 226 – Pharmacy, industrial pharmacy (22 Health Care). – Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2021.



Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2021.

The dissertation is dedicated to the study of anti-inflammatory, antioxidant and hepatoprotective properties of the thick extract from garden spinach leaves on the model of tetrachloromethane liver lesion in rats, as well as antioxidant and anabolic properties of the dry extract from garden spinach leaves in conditions of food deprivation.

The obtained results of determining the acute toxicity of the studied extracts allowed to establish the absence of toxic effects of thick and dry extracts from garden spinach leaves during the single intragastric administration in male and female rats in doses of 5000 mg/kg body weight of animals. It is established that LD50 of both extracts is outside 5000 mg/kg. This made possible to classify these pharmacological drugs to the V class of toxicity - practically non-toxic substances.

Studies of the establishment of the minimum effective doses of the thick and dry extracts from garden spinach leaves found that the thick extract, after the liver damage of animals with carbon tetrachloride, demonstrates pronounced antioxidant, hepatoprotective and membrane-stabilizing properties at a dose of 150 mg/kg, as evidenced by the restoration of permeability of plasma membranes of hepatocytes and erythrocytes, reducing the activity of lipoperoxidation processes and restoring the activity of enzymes of the antioxidant system. The dry extract, in turn, in conditions of food deprivation of rats, shows a pronounced anabolic and antioxidant effect at a dose of 100 mg/kg, as evidenced by an increase in animal body weight, protein content in the studied tissues, restoration of daily diuresis, normalization of urea content, as well as inhibiting the activity of oxidative processes and restoring the activity of the enzymatic link of the antioxidant defense system.

It was found that thick and dry extracts from garden spinach leaves do not irritate the gastric mucosa of rats and do not have ulcerogenic properties.

The results obtained during the study of anti-inflammatory properties of the thick and dry extracts from garden spinach leaves on the model of carrageenan edema of rat paw confirm the moderate anti-inflammatory activity of both extracts, which is

manifested by a probable reduction of rat paw edema during 24 hours of the experiment.

After administration of the thick extract from garden spinach leaves at a dose of 150 mg/kg was marked a positive corrective effect on the processes of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins, as evidenced by the probable ( $p \leq 0,05$ ) reduction of these indicators in rats with carbon tetrachloride hepatitis. On the background of activated free radical processes, there was a probable decrease in the activities of superoxide dismutase and catalase, the content of restored glutathione and a marked increase in ceruloplasmin levels in the serum (by 55 % in the last period of the study). The use of a thick extract led to the normalization of the activity of superoxide dismutase, catalase, increasing the content of restored glutathione, as well as reducing the level of ceruloplasmin (by 47 % by the end of the experiment) in the serum of animals with carbon tetrachloride hepatitis.

After the lesion of animals with carbon tetrachloride, a probable increase in serum and a decrease in liver of organ-specific enzymes, in particular ALT and AST, was observed. The use of the thick extract in the last terms of the study led to a decrease in their activity in the serum by 1.9 and 1.4 times and an increase in the liver of affected animals by 1.9 and 1.5 times, respectively (relative to the level of control pathology). Changes in GGT activity after lesion of animals with carbon tetrachloride were observed and the use of the studied extract provided positive effect on the activity of GGT. The activity of alkaline phosphatase, which was restored after application of the thick extract from garden spinach leaves, progressively increased in the serum and, accordingly, decreased in the liver of animals affected by carbon tetrachloride. An increase in the percentage of permeability of erythrocyte membranes (on the 10th day by 35,5 %) was observed, which decreased in animals, affected by carbon tetrachloride, after administration of the thick extract from garden spinach leaves. The decrease in the manifestations of endogenous intoxication after the use of the studied extract in animals affected by carbon tetrachloride is indicated by the decrease in the increased content of markers of this process, namely molecules of average mass of both fractions.

Moderate choleric properties of the thick extract under conditions of tetrachloromethane hepatitis in rats were proved, as evidenced by an increase in bile volume by 24,2 % and its secretion rate by 26,9 % in groups of animals that were corrected with thick extract within 10 days of the study. After application of the thick extract, a probable decrease in the concentration of bile acids in blood serum and bile and the content of total bilirubin in blood serum of animals was observed under the same conditions of liver damage.

The results of studies on the model of tetrachloromethane liver lesion in rats prove the antioxidant properties of the thick extract from garden spinach leaves, as evidenced by its ability to inhibit free radical processes, namely the processes of lipoperoxidation and modification of protein molecules, to restore the activity of enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant system in the body of animals affected by carbon tetrachloride.

Confirmation of hepatoprotective and membrane-protective properties of the thick extract is evidenced by a decrease in the activity of aminotransferases, gamma-glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase, permeability of erythrocyte membranes and manifestations of endogenous intoxication, as well as the restoration of bile forming and bile secretion functions in animals affected by carbon tetrachloride.

The results obtained from the study of the hepatoprotective properties of the thick extract from garden spinach leaves are confirmed by morphological research of the liver structure. Correction of its toxic lesion was most effective after 10 days of administration of the studied extract.

Studies of the antioxidant and anabolic properties of the dry extract from garden spinach leaves at a dose of 100 mg/kg were performed under conditions of 7-day food deprivation. Under these conditions, there was a decrease in total body weight and individual organs (liver, heart, right and left kidneys) of experimental animals. Correction of the reduced level of these morphometric parameters with the dry extract from garden spinach leaves led to its positive effect, which indicates the protective activity of the studied extract.

The positive effect of the dry extract on the functional capacity of kidneys and liver of rats subjected to food deprivation was noted. In the last terms of the study on the background of starvation, there was a suppression of daily diuresis (by 40 %), an increase of urea in blood serum (by 1,9 times) and urine (by 2,5 times) and a decrease in creatinine concentration (by 21,8 %) in blood serum and urine (by 4,9 %) of experimental animals. A decrease in the content of total protein in blood serum (by 10 %), liver and muscles (by 12,5 %) of rats under conditions of food deprivation was established. The use of the dry extract from garden spinach leaves for 7 days contributed to the normalization of the above indicators, as well as the restoration of protein resources in the body of starving animals, which confirms its anabolic properties.

After application of the dry extract from garden spinach leaves in starving rats for 7 days, its positive effect on lipoperoxidation indicators, in particular on the content of TBA-AP in serum, liver and muscles was observed. On the background of food deprivation, there was a decrease in the content of ceruloplasmin in blood serum of animals by 13%, the level of which probably ( $p \leq 0.05$ ) increased after the administration of the studied extract. An increase in catalase activity, which progressively decreased in the serum, liver and muscles of starving animals, was found after the administration of the extract. This indicates the antioxidant properties of the dry extract from garden spinach leaves. The decrease in the content of molecules of average mass after its application testifies the reduction in the manifestations of endogenous intoxication, which may be a confirmation of the sorbent properties of the extract.

It has been experimentally established that the thick extract from garden spinach leaves has a corrective effect on the prooxidant-antioxidant balance in the body of animals affected by carbon tetrachloride, normalizing effect on the free radical oxidation, stabilizing effect on plasma and cytoplasmic membranes, moderate choleric and anti-inflammatory properties, stimulates liver detoxification function. All this allows to recommend it for further research and introduction into applied medicine as an anti-inflammatory, antioxidant and hepatoprotective agent. The dry

extract from garden spinach leaves has the protective properties in progressions of generalized protein catabolism under conditions of food deprivation, helps to preserve diuretic function, restores protein resources in the body, inhibits activated oxidative processes and processes of protein catabolism, exhibits sorbent properties and reduces the manifestations of endogenous intoxication. This makes it possible to recommend it for further research and introduction into applied medicine as an antioxidant and anabolic agent.

*Scientific novelty.* For the first time, the non-toxicity of thick and dry extracts from garden spinach leaves was proved and it was established that both pharmacological drugs belong to the V class of toxicity - practically harmless substances. Proposed the minimum effective dose of thick and dry extracts – 150 mg/kg and 100 mg/kg body weight of animals, respectively, which were determined on the model of tetrachloromethane liver lesion and food deprivation of rats. The absence of ulcerogenic action in the proposed minimum effective doses of the thick and dry extracts from garden spinach leaves was established.

On the model of carrageenan edema of rat paw, the anti-inflammatory activity of garden spinach extracts was established, which is more pronounced in the thick extract. For the first time, the thick extract from garden spinach leaves was proposed for the correction of the toxic liver damage.

The effectiveness of the thick extract from garden spinach leaves as a hepatoprotective agent, the effect of which is manifested through antioxidant and membrane stabilizing properties, was proved in an experiment on animals with simulated acute carbon tetrachloride hepatitis. The positive effect of the thick extract from garden spinach leaves on the bile forming and bile secretion functions of the liver in animals, affected by carbon tetrachloride, was established.

The anabolic properties of the dry extract from garden spinach leaves under conditions of food deprivation of rats were studied for the first time. The protective activity of the dry extract was established, as evidenced by the significant effect on the morphometric parameters of rats on the background of food deprivation. Confirmed positive effect of the dry extract from garden spinach leaves on the

functional capacity of the kidneys, as indicated by increased daily diuresis, urea levels and increased creatinine levels in animals with food deprivation, as well as the restoration of protein resources in the body. For the first time, a positive effect of the dry extract from garden spinach leaves on oxidative processes in the body of rats during starvation was established. Sorbent properties of the dry extract of garden spinach leaves were revealed, which are accompanied by a decrease in the manifestations of endogenous intoxication in rats under conditions of complete starvation.

According to the results of research, a patent of Ukraine for a utility model was obtained (№ 136789 dated August 27, 2019).

*The practical significance of the obtained results.* The absence of toxicity and ulcerogenic action of thick and dry extracts from garden spinach leaves were confirmed.

The minimum effective doses of thick and dry extracts from garden spinach leaves were designated and proposed for further research.

The studied anti-inflammatory activity of thick and dry extracts from garden spinach leaves will allow further study of these extracts in order to use them in the creation of new herbal anti-inflammatory drugs, which will be included in complex treatment regimens of inflammation of various etiologies.

The discovered antioxidant, membrane-stabilizing and choleric properties of the thick extract from garden spinach leaves will allow further research to introduce it into the production and use for the treatment of liver diseases.

Confirmed anabolic properties of the dry extract from garden spinach leaves make it appropriate for further research in order to use it as the herbal remedy for disorders of protein metabolism.

*Keywords:* thick extract, dry extract, garden spinach, tetrachloromethane liver lesion in rats, hepatoprotective activity, antioxidant activity, membrane stabilizing action, anti-inflammatory action, choleric action, food deprivation, anabolic activity.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:*

1. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Експериментальне обґрунтування безпечності густого екстракту зі шпинату городнього. Український біофармацевтичний журнал. 2018;(3):16–21.

2. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Встановлення ефективної дози густого екстракту з листя шпинату городнього на моделі токсичного ураження печінки. Фітотерапія. Часопис. 2018;(3):38–42.

3. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листя на моделі тетрахлорметанового ураження печінки. Медична та клінічна хімія. 2018;20(4):36–43.

4. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження протизапальних властивостей густого екстракту з листя шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.). Фітотерапія. Часопис. 2019;(1):85–8.

5. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Перспективність застосування густого екстракту з шпинату городнього листя як мембранопротекторного засобу за умов токсичного гепатиту. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):74–82.

6. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P. Determination of the effective dose of dry extract *Spinacia oleracea* L. leaf on the model of food deprivation in rats. International independent scientific journal. 2020;(14):47–51.

7. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P, Pyda V. Experimental research of garden spinach extract as a potential anabolic medicinal product. Pharmacia. 2020;67(4):277–82.

*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:*

8. Петровська УВ, Никифорок АЯ, Журавель ІО, Фіра ЛС винахідники; Петровська УВ, патентовласник. Лікарський рослинний засіб з гепатопротекторною активністю. Патент на корисну модель № 136789. Бюлетень №16. 2019 серпень 27.

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

9. Никифорок АЯ, Фіра ЛС. Дослідження гострої токсичності густого екстракту з листя шпинату городнього. В: Матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2018 верес. 27-28; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018; с. 282-3.

10. Никифорок АЯ. Вплив густого екстракту з листя шпинату городнього на показники ендогенної антиоксидантної системи шурів за токсичного гепатиту. В: Матеріали XXIII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2019 квіт. 15-17; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2019; с. 227.

11. Никифорок АЯ, Фіра ЛС. Дослідження мембранопротекторних властивостей густого екстракту з листя шпинату городнього. В: Матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю. Хімія природних сполук; 2019 трав. 30-31; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ; 2019; с. 98-9.

12. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження гострої токсичності білково-ліпідного комплексу зі шпинату городнього листя. В: Матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції. Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження; 2020 берез. 11; Харків. Харків: НФаУ; 2020; с. 113.

13. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження протизапальної активності сухого екстракту зі шпинату городнього листя. В: Матеріали VIII науково-практичної конференції з міжнародною участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2020 верес. 23-24; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2020; с. 294-5.

14. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження мембранопротекторних властивостей густого екстракту зі шпинату городнього листя. В: Матеріали науково-практичної дистанційної конференції з



міжнародною участю. Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії; 2020 жовт. 2; Харків. Харків: НФаУ; 2020; с. 31.

15. Никифрук АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Активність процесів жовчевиділення в щурів за умов токсичного гепатиту та вплив на них густого екстракту зі шпинату городнього листя. В: Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм, присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О (Галицькі читання II); 2020 жовт. 29-30; Тернопіль. Тернопіль: ТНМУ; 2020; с. 79-80.

## ЗМІСТ

	С.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....	21
ВСТУП .....	22
РОЗДІЛ 1 ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИННИХ ЗАСОБІВ ІЗ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ ТА АНАБОЛІЧНОЮ АКТИВНІСТЮ (огляд літератури) .....	30
1.1 Механізми токсичних уражень печінки та їх поширеність .....	30
1.2 Застосування лікарських засобів із гепатопротекторними властивостями при захворюваннях печінки різного генезу .....	37
1.3 Метаболічні порушення за умов харчової депривації .....	43
1.4 Фармакологічна активність препаратів анаболічної дії .....	49
1.5 Хімічний склад шпинату городнього та його застосування у народній та офіційній медицині .....	55
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	60
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ, ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ, УЛЬЦЕРОГЕННОЇ ДІЇ ГУСТОГО ТА СУХОГО ЕКСТРАКТІВ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ ТА ВСТАНОВЛЕННЯ ЇХ УМОВНО- ТЕРАПЕВТИЧНИХ ДОЗ .....	80
3.1 Вивчення гострої токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа .....	80
3.2 Підбір умовно-терапевтичної дози густого екстракту зі шпинату городнього листа на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів .....	86
3.3 Підбір умовно-терапевтичної дози сухого екстракту зі шпинату городнього листа на моделі харчової депривації щурів .....	93
3.4 Дослідження ульцерогенної дії густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа .....	101
3.5 Дослідження протизапальної активності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа .....	103

РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ТА АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ НА МОДЕЛІ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ .....	110
4.1 Активність окиснювальних процесів у щурів з тетрахлорметановим ураженням печінки та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя .....	110
4.2 Стан антиоксидантної системи щурів, уражених тетрахлорметаном, та після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листя .....	116
4.3 Розвиток цитолітичних процесів та ендогенної інтоксикації в організмі щурів за умов токсичного гепатиту та вплив на них густого екстракту зі шпинату городнього листя .....	124
4.4 Показники жовчоутворювальної та жовчовидільної функції печінки щурів після ураження тетрахлорметаном та застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя .....	134
4.5 Морфо-функціональні зміни печінки за ураження щурів тетрахлорметаном та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину .....	140
РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ АНАБОЛІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СУХОГО ЕКСТРАКТУ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ НА МОДЕЛІ ХАРЧОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ У ЩУРІВ .....	153
5.1 Вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на морфометричні показники у щурів за умов голодування .....	155
5.2 Дослідження функціональної спроможності нирок та печінки в щурів за повного голодування та вплив на них сухого екстракту зі шпинату городнього листя .....	161
5.3 Інтенсивність окиснювальних процесів та ендогенна інтоксикація у щурів в умовах повного голодування та вплив на них сухого екстракту зі шпинату городнього листя .....	169
РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ ..	182

ВИСНОВКИ .....	205
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	209
ДОДАТКИ .....	245

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АлАТ – аланінамінотрансфераза  
АОС – антиоксидантна система  
АсАТ – аспартатамінотрансфераза  
АФО – активні форми кисню  
ВГ – відновлений глутатіон  
ГЕШЛ – густий екстракт зі шпинату листя  
ГГТП – гама-глутамілтранспептидаза  
ГПО – глутатіонпероксидаза  
ГР – глутатіонредуктаза  
ЖК – жовчні кислоти  
ЕІ – ендогенна інтоксикація  
ЕП – еритроцитарний індекс інтоксикації  
КАТ – каталазна активність  
ЛФ – лужна фосфатаза  
МСМ – молекули середньої маси  
ОМП – окисна модифікація протеїнів  
СЕШЛ – сухий екстракт зі шпинату листя  
СОД – супероксиддисмутаза  
ТБК-АП – ТБК-активні продукти  
ЦП – церулоплазмін

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** На сучасному етапі у вивченні патогенезу багатьох захворювань важлива роль відводиться оксидативному стресу, і зараз ця проблема є одним із головних напрямків як клінічних, так і доклінічних досліджень [105, 194, 265, 281]. Оксидативний стрес це стан, що виникає внаслідок гіперпродукції активних форм кисню (АФО), які пригнічують внутрішній антиоксидантний захист організму. Він спровокований багатьма факторами: стресами, факторами зовнішнього середовища, курінням, вживання алкоголю, нестачею антиоксидантів в їжі, використанням лікарських препаратів, тощо [133, 321].

Оксидативний стрес провокує розвиток багатьох захворювань різних органів і систем, зокрема шлунково-кишкового тракту, печінки, мозку, серцево-судинної системи, нирок, легень, тощо [46, 275].

Окисно-відновний стан є важливим фоном численних розладів печінки й бере участь у перебігу запальних, метаболічних та проліферативних захворювань. Гострі та хронічні захворювання печінки майже завжди характеризуються підвищеним оксидативним стресом, незалежно від причини її розладу [214].

Аналіз літератури показав, що захворювання печінки, серця, нирок, тощо супроводжуються гіпопротеїнемією, яка виникає внаслідок деструкції та подальшого використання протеїнів у інших органах, що призводить до функціональних та органічних порушень організму [59]. Одним із стресових факторів, який спричиняє порушення протеїнового обміну є аліментарне голодування. Воно супроводжується активацією вільнорадикального окислення, що зумовлює зміну активності ензиматичної ланки системи антиоксидантного захисту [23].

З огляду на вищесказане можна зробити висновок, що токсичні ураження печінки та порушення протеїнового обміну в організмі сприяють виникненню

оксидативного стресу, який відграє важливу роль у розвитку різних патологічних станів.

Виходячи з вище наведеного, актуальним на сьогодні є пошук нових лікарських засобів, які б могли використовуватись при станах з підвищеним розвитком вільнорадикальних процесів [138, 272, 284]. Пошук таких потенційних ліків проводиться в останні роки серед великої кількості речовин різної структури та походження, але найбільш перспективними є препарати природнього, переважно рослинного походження. З численних засобів, представлених в Україні, лікарські рослинні препарати популярні завдяки багатому вмісту біологічно активних речовин, широкому спектру фармакологічної активності, високому рівню безпеки, низькій токсичності та вартості.

Лікування уражень печінки різної етіології та її захист вимагає фармакотерапію, що включає використання засобів, які б діяли комплексно, завдяки гепатопротекторному, антиоксидантному, протизапальному та інших механізмів, тому поповнення ринку України такими препаратами стає одним із основних напрямків розвитку фармацевтичної галузі [39, 119].

Значні порушення жовчосекреторної функції печінки спостерігаються за більшості уражень гепатобіліарної системи, які призводять до помітних змін у здатності її до секреції жовчі й погіршуються внаслідок пошкодження дрібних жовчних ходів. Порушення функції жовчовивідних шляхів печінки супроводжуються деструктивними змінами в клітинних мембранах гепатоцитів. Тому, застосування препаратів із гепатопротекторними та гепаторегенеративними властивостями є основою сучасних терапевтичних схем лікування хвороб печінки [178].

Окремо можна виділити актуальність профілактики та лікування станів, що супроводжуються порушеннями протеїнового обміну, оскільки останні займають центральне місце у всіх процесів життєдіяльності організму. Звідси, порушення протеїнового обміну є складовою патогенезу усіх патологічних процесів. Для корекції цих порушень набуває особливого значення

застосування рослинних анаболічних засобів, що підвищують активність власних синтезувальних систем організму, його стійкість до фізичних навантажень, гіпоксії, радіоактивного та електромагнітного випромінювання. Ці засоби є практично не токсичними та майже не мають протипоказів [134].

Аналіз літературних наукових джерел свідчить про те, що лікарські препарати, які на сьогодні застосовуються в медичній практиці для корекції порушень протеїнового обміну, не є досконалими та їх асортимент потребує поповнення за рахунок створення нових лікарських засобів з вираженою анаболічною дією та високим ступенем безпечності [58].

Отже, як перспективну сировину для створення нових препаратів нами було обрано шпинату городнього листя, що містить фенольні сполуки, вітаміни А, С, Е, фолієву кислоту, магній, манган, залізо, кальцій, хлорофіли, каротиноїди, протеїни та інші біологічно активні речовини (БАР), які здатні забезпечити гепатопротекторну та анаболічну дію [236, 268, 296].

#### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дисертаційна робота є фрагментом планових наукових тем кафедр медичної біохімії, загальної гігієни та екології, функціональної діагностики, патологічної анатомії, фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України “Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу” (№ державної реєстрації 0116U003353) й “Експериментальне дослідження метаболічних порушень в організмі за дії екзогенних токсикантів та при різних патологічних станах” (№ державної реєстрації 0120U104148), в яких автор є співвиконавцем.

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи було з'ясувати антиоксидантні, мембранопротекторні, протизапальні, гепатопротекторні властивості густого екстракту та анаболічні й антиоксидантні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листя в експерименті на тваринах зі змодельованими токсичними ураженнями печінки й за харчової депривації.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:



1. Вивчити гостру токсичність густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя й підібрати їх ефективну дозу на моделі токсичного ураження печінки та харчової депривації щурів.

2. Дослідити ульцерогенну дію густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя та встановити їх протизапальну активність на моделі карагенінового набряку лапи щурів.

3. Дослідити антиоксидантну й мембраностабілізуювальну активність густого екстракту зі шпинату городнього листя в експерименті на тваринах зі змодельованим тетрахлорметановим гепатитом.

4. Вивчити показники жовчоутворювальної та жовчовидільної функції печінки за умов її токсичного ураження тетрахлорметаном та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя.

5. Дослідити особливості структурної організації печінки за умов токсичного ураження тетрахлорметаном та після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листя.

6. Встановити вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на морфометричні показники й функціональну спроможність нирок та печінки у щурів за умов харчової депривації.

7. Вивчити інтенсивність окиснювальних процесів та ендогенну інтоксикацію у щурів за умов повного голодування та впливу на них сухого екстракту зі шпинату городнього листя.

*Об'єкти дослідження.* Фармакотерапія гострих токсичних уражень печінки, фармакотерапія порушень протеїнового обміну.

*Предмет дослідження.* Фармакологічна активність і механізм гепатопротекторної та анаболічної дій густого та сухого екстрактів з листя шпинату городнього.

*Методи дослідження.* У процесі виконання експериментальної частини роботи використані токсикологічні, фармакологічні, біохімічні, гістологічні та статистичні методи дослідження.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше доведена нетоксичність густого та сухого екстрактів з листя шпинату городнього та встановлено, що обидва фармакологічні препарати відносяться до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини. Запропонована мінімально діюча доза густого та сухого екстрактів – 150 мг/кг та 100 мг/кг маси тіла тварин відповідно, які визначені на моделі тетрахлорметанового ураження печінки та харчової депривації щурів. Встановлена відсутність ульцерогенної дії густого та сухого екстрактів з листя шпинату городнього у запропонованих мінімально діючих дозах. На моделі карагенінового набряку лапи щурів вперше встановлена протизапальна активність екстрактів зі шпинату городнього листя, яка більш виражена у густого екстракту. Вперше запропоновано для корекції токсичних уражень печінки густий екстракт зі шпинату городнього листя. В експерименті на тваринах зі змодельованим гострим тетрахлорметановим гепатитом доведена ефективність густого екстракту зі шпинату городнього листя як гепатопротекторного засобу, вплив якого проявляється через антиоксидантні та мембраностабілізуювальні властивості. Встановлено позитивний вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя на жовчоутворювальну та жовчовидільну функцію печінки в уражених тетрахлорметаном тварин.

Вперше досліджені анаболічні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листя за умов харчової депривації у щурів. Встановлена протекторна активність сухого екстракту, про що свідчить суттєвий вплив на морфометричні показники щурів на тлі харчової депривації. Доведений позитивний вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на функціональну спроможність нирок, на що вказує підвищення добового діурезу, концентрації креатиніну та зниження рівня сечовини у тварин з харчовою депривацією, а також відновлення протеїнових ресурсів в організмі. Вперше встановлений позитивний вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на окиснювальні процеси в організмі щурів за голодування. Виявлені сорбтивні властивості сухого екстракту з листя шпинату городнього,

що супроводжуються зменшенням проявів ендогенної інтоксикації у щурів за умов повного голодування.

За результатами досліджень отримано патент України на корисну модель (№ 136789 від 27.08.2019).

**Практичне значення одержаних результатів.** Доведена відсутність токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа.

Підібрані та запропоновані для подальших досліджень мінімально діючі дози даних екстрактів.

Доведена відсутність ульцерогенної дії густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа.

Досліджена протизапальна активність густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа, що дозволить провести подальше вивчення даних екстрактів з метою використання їх при створенні нових рослинних протизапальних засобів, які будуть включені до комплексних схем лікування запалень різної етіології.

Виявлені антиоксидантні, мембраностабілізуювальні та жовчогінні властивості густого екстракту зі шпинату городнього листа дозволять провести подальше вивчення даного засобу з метою впровадження його у виробництво та використання для лікування захворювань печінки.

Доведені анаболічні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листа роблять доцільними подальші дослідження з метою використання його як рослинного засобу при порушеннях протеїнового обміну.

Результати досліджень застосовуватимуться в фармакології, гепатології, біохімії та фармації.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-навчальний процес кафедри фармації Буковинського державного медичного університету, кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійною завершеною працею. Разом з науковим керівником проф. Фірою Л.С. визначено мету та завдання наукових досліджень, обґрунтовано й сформульовано висновки роботи, а також визначено обсяг методичних підходів. Самостійно виконано патентно- інформаційний пошук, проведений аналіз вітчизняних і зарубіжних інформаційних джерел відповідно до теми дослідження. Безпосередньо автором сформовано групи для дослідження, відпрацьовано моделі та методики, виконано експериментальні дослідження, проведена статистична обробка отриманих результатів та їх аналіз й узагальнення, сформульовані висновки і практичні рекомендації, впроваджені результати в практичну діяльність та навчальний процес. Автором самостійно написано всі розділи дисертації, підготовлено до друку наукові публікації. В усіх наукових працях, які включають результати дисертаційних досліджень, у тому числі й тих, що були опубліковані в співавторстві, використано фактичний матеріал, отриманий здобувачем у процесі виконання роботи. Особистий внесок здобувача достатній.

Співавторами наукових праць є науковий керівник проф. Фіра Л. С. та науковці, спільно з якими проведено деякі дослідження – проф. Лихацький П. Г., доц. Пида В. П.

Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Гістоморфологічні дослідження проведено на базі цього ж університету за консультативної допомоги к. мед. н., доц. Т. В. Дацко. Дисертант вдячний усім науковцям за консультативну допомогу.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення роботи викладено й обговорено на VII науково-практичній конференції з міжнародною участю “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 27-28 вересня 2018 року), XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль,

15-17 квітня 2019 року), V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Хімія природних сполук” (Тернопіль, 30-31 травня 2019 року), II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції “Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження” (Харків, 11 березня 2020 року), VIII науково-практичній конференції з міжнародною участю “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 23-24 вересня 2020 року), науково-практичній дистанційній конференції з міжнародною участю “Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії” (Харків, 2 жовтня 2020 року), науково-практичній конференції Галицькі читання “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 року).

**Публікації.** За темою дисертаційної роботи опубліковано 15 наукових праць, із яких 5 статей у наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України, 2 – у періодичних наукових виданнях інших держав (Польща, Болгарія), які входять до Європейського Союзу (1 – у науковому виданні, що цитується у наукометричній базі Scopus), 1 – патент України на корисну модель № 136789 від 27.08.2019, 7 – у матеріалах і тезах наукових форумів.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку літературних джерел, додатків. Роботу викладено на 257 сторінках машинописного тексту, ілюстровано 47 таблицею та 31 рисунками. Список використаних джерел налічує 342 найменувань, із них 184 кирилицею та 158 латиницею. Бібліографічний опис джерел літератури і додатки викладено на 49 сторінках.

# РОЗДІЛ 1

## ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИННИХ ЗАСОБІВ ІЗ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ ТА АНАБОЛІЧНОЮ АКТИВНІСТЮ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1 Механізми токсичних уражень печінки та їх поширеність

Захворювання гепатобіліарної системи займають значне місце у клініці внутрішніх хвороб. За останні десятиліття екологічні зрушення, пов'язані з науково-технічним прогресом, призвели до значного забруднення довкілля і продуктів харчування, що супроводжується стрімким зростанням частки так званих хімічних гепатозів, які виникають внаслідок кумуляції в організмі різних ксенобіотиків [91, 161]. Печінка є бар'єром на шляху надходження токсичних речовин в організм, оскільки саме в ній відбувається метаболізм і знешкодження їх, тобто вона є органом-мішенню для дії токсичних хімічних речовин [342].

До ксенобіотиків, що надходять в процесі життєдіяльності до організму людини і тварин, і здатних зумовлювати ураження печінки, відносяться промислові отрути, пестициди, канцерогени, синтетичні лікарські речовини, хімічна продукція побутового призначення тощо [104, 176]. Крім того, не втрачають своєї актуальності ураження печінки інфекційної, зокрема, вірусної етіології [322].

Печінка – орган, який здійснює біотрансформацію речовин, що можуть надходити як ззовні, так і утворюватися в організмі. За токсичних пошкоджень печінка сама перетворюється на джерело ендогенної інтоксикації, наслідком чого є розвиток вторинних метаболічних змін, що, у свою чергу, призводять до активації патологічних процесів в організмі, які негативно відображаються на функціонуванні різних органів та їх систем [21]. Вона є основним органом розподілу поживних речовин в організмі, зокрема глюкози, триацилгліцеролів і кетонових тіл. У печінці інактивуються ліки, деякі гормони, депонуються залізо, інші метали, вітаміни А, D, Е, В12, фолієва кислота, синтезуються жовчні

кислоти, відбувається утворення та виділення у кишечник жовчі, що має значення для травлення ліпідів, виведення надлишку холестеролу та деяких продуктів метаболізму. Найменше порушення хоча б однієї з функцій печінки призводить до серйозних наслідків у роботі всього організму [146].

Останніми роками відмічається різке зростання кількості медикаментозних уражень печінки [211, 308]. До 40% усіх випадків діагностованого гепатиту зумовлено лікарськими препаратами [223, 276]. Більша частина не визначених за етіологією гепатитів та цирозів печінки також викликана застосуванням медикаментів. Велике значення для розвитку медикаментозного ураження печінки мають власне гепатопатології: стеатоз, печінкова недостатність або холестаза, що сприяють кумуляції лікарських препаратів та їх метаболітів у гепатоцитах, тяжкі захворювання серцево-судинної, респіраторної, ендокринної систем і нирок, які супроводжуються вираженими порушеннями функціонального стану уражених органів [34, 328, 333].

За останніми даними, понад 900 препаратів, токсичних речовин і продуктів на основі трав викликають ушкодження печінки. При цьому медикаменти є причиною 20–40 % випадків серйозної печінкової недостатності. Близько 75 % ідіосинкратичних реакцій на прийом препаратів призводять до трансплантації печінки або смерті [113].

За частотою отруєнь друге місце серед уражень хімічними чинниками посідають хлоровані вуглеводні, які викликають розвиток тяжких дистрофічно-некротичних змін у печінці [91]. Для тетрахлорметану, як і для парацетамолу, тетрациклінів, цитостатиків характерна «передбачувана» токсичність, яка характеризується залежним від дози утворенням токсичних метаболітів і дозозалежним пошкодженням гепатоцитів. Токсичність виникає при потраплянні даних речовин в дозі, яка перевищує ємність систем біотрансформації, а також під впливом індукторів та інгібіторів ензимів [170].

Згідно з сучасними уявленнями в основі різних за етіологією механізмів уражень внутрішніх органів лежить оксидативний стрес [208].

Результати численних досліджень свідчать про важливу роль активації процесів вільнорадикального окиснення в патогенезі багатьох захворювань печінки [227, 230, 290]. Проте формування оксидативного стресу може відрізнятися певними особливостями щодо частоти його виникнення, участі в ньому різних складових реакцій перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), вільнорадикального окиснення протеїнів, зниження активності ензимів антиоксидантного захисту та вираженості всіх зазначених компонентів [71].

При всьому різноманітті природи пускових факторів, універсальним механізмом токсичного ураження печінки є активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що сприяє прогресуванню патологічних змін у ланцюзі: пошкодження біомембран – цитоліз [299]. Ушкодження клітин, у свою чергу, є загальною ланкою розвитку запалення та фіброгенезу, які при хронізації патологічного процесу призводять до формування цирозу печінки та розвитку його ускладнень.

В останні роки показник смертельних випадків від отруєнь хлорованими вуглеводнями, зокрема тетрахлорметаном, не зменшується. Тетрахлорметан ( $CCl_4$ , чотирихлористий карбон, перхлорметан, ТХМ) є безколірною рідиною з ароматичним запахом, належить до похідних метану. В експериментальній токсикології дана сполука широко використовується для вивчення таких проявів гепатотоксичності, як фіброз, апоптоз, жирова дегенерація та канцерогенез [53, 278]. З літературних джерел відомо, що ТХМ є однією з найсильніших гепатотропних отрут, швидко всмоктується в кров, проявляє цитотоксичний ефект та викликає деструктивні зміни паренхіми печінки. У мембранах ендоплазматичного ретикулуму печінки, нирок, легень піддається метаболічному розпаду, в результаті чого утворюються вільні радикали, які в свою чергу ініціюють реакції перекисного окиснення ненасичених жирних кислот у мембранах, впливають на функціональні групи протеїнів внутрішньоклітинних мембран та ензимів [112, 261]. Найбільшу реакційну здатність серед утворених радикалів проявляє трихлорметильний радикал  $CCl_3\cdot$  [196].



Значна кількість досліджень показала, що кардинальні молекулярні процеси, що лежать в основі гепатотоксичності тетрахлорметану, розвиваються в мембранах ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів. Власне тут проходить біотрансформація ксенобіотика з утворенням вільнорадикальних продуктів його метаболізму, активно взаємодіючих з біоструктурами, у першу чергу, з фосфоліпідами мембран.

Деякими авторами показано, що за гострих і хронічних гепатитів, отруєння гепатотоксичними речовинами відмічається різке зниження біоенергетичного потенціалу хімічних перетворень у гепатоцитах, прогресує індукція вільних радикалів, підвищується інтенсивність перекисного окиснення ліпідів і активність мембранних фосфоліпаз [238, 269]. Це порушує проникність усіх субклітинних структур, знижує електричну міцність мембран, що спричинює деструкцію гепатоцитів [283]. За таких обставин уповільнюються процеси переамінування та дезамінування амінокислот, погіршується їх використання у синтезі протеїнів, складних протеїнових комплексів та біологічно активних речовин [212]. Зазначене негативно позначається на здатності гепатоцитів синтезувати альбумін, фактори згортання крові. Поряд із цим, порушується екскреція кон'югованого білірубіну, естерифікація холестеролу та глюкуронізація багатьох сполук [298, 303]. Водночас це спричиняє порушення детоксикаційної функції печінки [195].

Розвиток токсичного гепатиту у тварин викликає зміни інтенсивності та спрямування біохімічних процесів, які безпосередньо пов'язані з обміном мінеральних речовин і корелюють із функціональним станом печінки [228]. Це свідчить про глибокі порушення метаболізму на клітинному рівні та суттєві розлади структурно-функціонального стану клітинних мембран. Дезорганізація у структурі гепатоцитів і ендотеліоцитів жовчовивідних шляхів, задіяних у патологічному процесі, негативно позначається на обміні макроелементів, що відображається на інтенсивності стабілізації електролітного та кислотно-основного балансу в організмі тварин, у яких відмічається токсичний гепатит [201].

Насьогодні універсальною моделлю патології клітинних мембран, що супроводжується порушенням у клітині оксидантно-антиоксидантного гомеостазу, вважається токсичний гепатит, викликаний введенням тетрахлорметану ( $CCl_4$ ) [286, 337].

У літературі описані різні підходи щодо відтворення моделі  $CCl_4$ -індукованого ураження печінки. Найчастіше в експериментах використовують тетрахлорметан у вигляді 50 % олійного розчину, токсичність якого проявляється незалежно від способу його введення дослідним тваринам: підшкірно [273], внутрішньошлунково [319], внутрішньочеревно [222], внутрішньом'язово [262].

Деякими авторами показано, що після ураження  $CCl_4$  у тканинах печінки насамперед знижується активність глюкозо-6-фосфатази, а також амінотрансфераз і ензимів, які беруть участь у синтезі протеїнів [240, 242]. Доведено, що отруєння  $CCl_4$  супроводжується значними змінами вмісту і активності ензимів мікросомального окиснення. З усіх переносників електронів під дією тетрахлорметану найбільш легко інактивується цитохром P-450. Дана отрута призводить до пригнічення НАДФН2-цитохром C-редуктази – ензиму, який бере участь у відновленні цитохрому P-450 [12, 274]. Активація ПОЛ при отруєнні тетрахлорметаном викликає нагромадження в клітині малонового, пропіонового та гексанового діальдегідів, спиртів, кетонів та ін. Усі ці речовини інгібують реплікацію ДНК, синтез протеїну, здатність ендоплазматичної сітки зв'язувати  $Ca^{2+}$ , зменшувати вміст цитохрому P-450 у мікросомах печінки [107, 199, 239].

Співвідношення сили гепатотоксичного ефекту тетрахлорметану та компенсаторних властивостей антиоксидантної системи визначає перебіг і вираженість метаболічно-морфологічних порушень за токсичного тетрахлорметанового гепатиту. Порушення функціонування ензимних і неензимних антиоксидантів пов'язане із виснаженням їх резервів у зв'язку з інтенсивним споживанням у реакціях детоксикації та з порушенням протеїнсинтезувальної функції печінки [261].

Провідну роль у регуляції вільнорадикальних та перекисних процесів відіграє ензимна антиоксидантна система, серед компонентів якої важливе місце належить супероксиддисмутазі (СОД), одному із основних ензимів цієї системи. Відомо, що даний ензим є ключевим у регуляції рівня активних форм кисню та, зокрема, супероксиданіонрадикалу ( $O_2^{\bullet}$ ) у біологічних тканинах. Він здійснює рекомбінацію  $O_2^{\bullet}$  з утворенням менш токсичних продуктів пероксидації ліпідів: гідрогену пероксиду та триплетного кисню [101].

Виявлено [252, 320] зниження активності СОД при введенні в організм тварин гепатотоксинів, таких як диетилдитіокарбамат та тетрахлорметан.

Активність каталази (КТ) – кінцевого ензиму, який бере участь у розщепленні токсичного для організму гідроген пероксиду, змінюється за різних патологічних станів. При токсичному гепатиті, викликаному введенням щурам тетрахлорметану, виявлена різка активація ПОЛ в гепатоцитах і зниження активності КТ [103]. Ймовірно, деструкція плазматичних мембран та мембран пероксисом, де знаходиться основний вміст ензиму, призводить до його посиленого виходу в кров. Крім цього, причиною зниження активності КТ може бути викликана токсином деградація вільних та зв'язаних з мембранами ендоплазматичної сітки рибосом, які відповідають за синтез ензиму. Цю думку підтверджують дані [42, 202], що вказують на зниження активності цитоплазматичних ензимів у печінці щурів, отруєних СС14.

У руйнуванні гідроперекисів, що утворюються при ПОЛ, основну роль відіграє система глутатіонпероксидаза (ГП) – глутатіонредуктаза (ГР) – відновлений глутатіон (GSH). Основна функція глутатіону полягає в участі його в детоксикації ксенобіотиків [250]. При ураженні печінки СС14 концентрація вільних SH-груп та SH-груп протеїнового та непротеїнового походження зменшується [249, 270]. Для печінки особливо важлива роль глутатіону як антиоксиданта. Зниження його концентрації в тканинах печінки на 30% від норми призводить до різкого збільшення токсичності ксенобіотиків, інтенсифікує пошкодження мембран і порушує гомеостаз іонів кальцію [101].

Одним із компонентів антиоксидантної системи є протеїн із ензиматичною активністю церулоплазмін (ЦП) – купрумвмісний протеїн альфа2-глобулінової фракції крові [193, 277]. Виявлено підвищення його вмісту за токсичних уражень печінки [177]. Отримані дані, які свідчать про протекторну дію ЦП на мембрани ендоплазматичного ретикулуму, що проявляється нормалізацією НАДФН-залежного електронного транспорту та пригніченням інтенсивності ПОЛ у фракції глобулярної ендоплазматичної сітки [260, 309].

Пригнічення активності антиоксидантної системи на тлі активації вільнорадикальних процесів призводить до утворення значної кількості вторинних токсинів, чим поглиблюється ендогенна інтоксикація організму. У літературі є дані, які вказують, що за умов ураження тетрахлорметаном у сироватці крові тварин нагромаджуються маркери ендогенної інтоксикації – молекули середньої маси. Останні є продуктами деградації протеїнів, нуклеотидів, гормонів та пігментів [117, 132].

Деякими авторами встановлено, що тетрахлорметановий гепатит супроводжується цитолізом гепатоцитів, про що свідчить підвищення у сироватці крові маркерів цитолізу – амінотрансфераз (аланін- та аспартатамінотрансферази), а також розвитком запальних процесів і холестазу (відмічається підвищення активності лужної фосфатази уже на 4 добу після потрапляння до організму токсиканта) [33, 96].

У літературі є дані, які вказують на порушення жовчоутворювальної функції печінки при поступленні до організму гепатотропних отрут. Зокрема, Губським Ю. І. та співавт. показано, що ураження щурів тетрахлорметаном призводить до зниження об'єму жовчі протягом 14 днів дослідження [51]. Окрім порушення утворення жовчі, при токсичних гепатитах важливим фактором є затримка її відтоку. Це спричинює інтоксикацію організму компонентами жовчі (розвиток холемії), передусім жовчними кислотами та білірубіном, які проникають у кров [13, 14]. Встановлено, що в умовах ураження

тетрахлорметаном підвищується вміст жовчних кислот та білірубину у сироватці крові та знижуються дані показники у жовчі [17].

Отже, проаналізувавши літературні дані, можна зробити висновок, що в основі патогенезу ураження СС14 лежить деструкція клітинних та субклітинних мембран, що зумовлено активацією вільнорадикальних реакцій, зокрема процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, а також зміни в антиоксидантній системі організму. Найбільш виражені дані порушення спостерігаються у печінці, що підтверджує вибіркочу гепатотоксичність ксенобіотика та його доцільність застосування в модельних експериментах для дослідження механізмів розвитку токсичних гепатитів.

## 1.2 Застосування лікарських засобів із гепатопротекторними властивостями при захворюваннях печінки різного генезу

Сучасний зарубіжний та вітчизняний досвід свідчать, що фітотерапія на сьогодні є одним із перспективних напрямів у медицині. Використання досвіду, накопиченого народною медициною впродовж багатьох століть, наукове його переосмислення, поглиблення уваги наукової та медичної громадськості до вирішення сучасних проблем є запорукою подальшого розвитку фітотерапії в Україні [10].

Пошук потенційних гепатопротекторів проводять в останні роки серед великої кількості лікарських речовин різного походження та структури [309], проте найперспективнішими виявились засоби природного, переважно рослинного, походження [35]. З численних гепатопротекторів, представлених в Україні, популярними є препарати рослинного походження через низьку вартість та високий рівень безпеки. Показано [188], що в основі гепатопротекторних ефектів фітопрепаратів лежать їх антиоксидантна дія та стабілізація проникності біомембран. Пошук нових лікарських рослин із високим вмістом біологічно активних речовин, які б проявляли антиоксидантні властивості, безперервно триває.

Виробництво гепатопротекторів здійснюється 17 вітчизняними виробниками, серед яких провідними є ВАТ «Фармак», ТОВ «Фармацевтична компанія “Здоров’я”», ЗАТ «Фармацевтична фірма “Дарниця”», АТ «Галичфарм».

Закордонні лікарські засоби, що виявляють гепатопротекторну дію, виготовляють 43 виробника, серед яких значну частку займають фармацевтичні підприємства Індії (24,44 %) та Німеччини (22,22 %), по 4,44 % – Болгарії, Польщі, Росії, Франції, Італії, Канади та Таїланду [25].

На даний час найчастіше застосовують гепатопротектори рослинного походження (до 54 %), тоді як частка фосфоліпідних препаратів становить 16 %, інших засобів, зокрема синтетичних органопрепаратів і препаратів амінокислот, — 30 % від загальної кількості гепатопротекторів [120].

Значна кількість наукових праць описує велику кількість рослин та фітопрепаратів з гепатопротекторними властивостями, наприклад екстракту цикорію [185], вербени лікарської [310], гірчака печечуйного [307], шпинату городнього [236, 268], яглиці звичайної [338], лядвенця рогатого [186], розторопши плямистої [336], артишоку посівного [22] та інших рослин.

Розторопша плямиста вважається найбільш вивченою лікарською рослиною, про що свідчить велика кількість публікацій у рецензованих медичних журналах [120]. Більш того, інтерес до цієї рослини і створених на її основі препаратів зростає, причому в останні роки не тільки за рахунок досліджень в традиційній області застосування (при різних хворобах печінки), але і в нових напрямках [190, 297]. Вона є джерелом силімарину, що складається із трьох флаволігнанів – силібіну, силідіаніну та силікрістину. Антиоксидантний, мембраностабілізуювальний, протизапальний, імуномодулювальний, антифібротичний та регенераційний ефекти силімарину підтверджені експертами ВООЗ та міжнародними клінічними дослідженнями [26, 37, 168].

Флаволігнани зі силімарину мають антирадикальні властивості, зменшують перекисне окиснення ліпідів мембран та ліпопротеїнів низької щільності. Антиоксидантні властивості силімарину корелюють із іншими

видами біологічної активності цієї сполуки, а саме здатністю впливати на внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, що контролюють ріст та диференціацію клітин, процеси апоптозу [315, 332]. Силімарин також проявляє протизапальну, протифіброзну дію, стимулює біосинтез протеїнів та регенерацію печінки, підсилює лактацію та чинить імуномодулюючу дію [189].

Існує багато препаратів на основі розторопші плямистої, наприклад монокомпонентні (Карсил, Легалон, Силібор, «Силімар», «Сибектан» [45] тощо), так і полікомпонентні (ЛІВ-52, Галстена, Гепатофальк планта [141]) й комбіновані (Гепатофіл [159], Гепабене, Гепаназе [15]), фітогепатопротектори [3, 160]. Зазначені препарати знайшли широке застосування в лікуванні хронічних захворювань ГБС [32, 160].

Гепатофальк планта – препарат, що містить екстракти трьох рослин: кореневища куркуми, плодів розторопші плямистої, трави і кореня чистотілу великого, виявляє помірну анальгетичну та спазмолітичну дію. Основним алкалоїдом (65 %) є хелідонін, що має папаверино-подібний вплив на гладку мускулатуру верхнього відділу гастроінтестинального тракту [141].

Гепабене – препарат, який містить комбінацію екстрактів плодів розторопші плямистої та дим'янки лікарської. Разом із гепатопротекторним ефектом проявляє жовчогінну та холеспазмолітичну дію завдяки наявності в його складі фумарину. Встановлено високу терапевтичну ефективність гепабене у хворих на хронічний токсичний гепатит (алкогольної та радіаційної етіології), стеатогепатит у поєднанні з хронічним холециститом та підвищеними літогенними властивостями жовчі з різними типами біліарних дискінезій [141].

Застосування гепабене сприяє підвищенню або нормалізації детоксикаційної функції печінки, активності антиоксидантної системи та знижує рівень ПОЛ, викликаючи підвищення резистентності гепатоцитів [141].

До препаратів рослинного походження з гепатопротекторною активністю відноситься комплексний препарат Лів 52, який проявляє гепатопротекторну, гепатостимулюючу, антитоксичну, жовчогінну та спазмолітичну дію.

Використовується як засіб підвищення стійкості при гепатотоксичних ураженнях, для профілактики та лікування дифузних захворювань печінки [235, 253].

У численних літературних даних міститься інформація про екстракт артишоку, який використовується як гепатопротекторний засіб [22, 38, 293, 339]. Цілюща дія артишоку обумовлена комплексом біологічно активних сполук, які входять до його складу. Найважливішими із них є кофеїлхінні кислоти (похідні кавової кислоти), флавоноїди та гіркі речовини. Одним із похідних кофеїлхінних кислот є цинарин. Утім, біологічну цінність сировини визначає не лише цинарин, а й вся сукупність кофеїлхінних кислот. Крім антиоксидантного впливу, екстракт артишоку має холеретичну дію, покращує дезінтоксикаційну функцію печінки, сприяє нормалізації ліпідного обміну, чинить діуретичний ефект [38]. Застосування артишоку у хворих із хронічними токсичними гепатитами сприяє зниженню концентрації малонового діальдегіду, підвищенню активності супероксиддисмутази, що відображає антиоксидантний ефект рослини. Крім того, у результаті лікування ним нормалізується детоксикаційна функція печінки [44]. На основі екстракту артишоку розроблений лікарський засіб Хофітол [141, 73], препарати Холівер, Рафахолін, Фарковіт В12.

Хофітол — очищений сухий екстракт соку свіжих листків артишоку польового, гепатопротекторний ефект якого зумовлений значною концентрацією біологічно активних речовин (флавоноїди, кафеолова та хінна кислоти, секвитерпенлактон, інулін, цимарин, вітаміни та мікроелементи). Крім антиоксидантної дії, він здійснює холеретичний ефект, поліпшує детоксикаційну та протеїнсинтезувальну функції печінки, зменшує вираженість синдромів цитолізу та холестазу вже на 2-3-й тиждень застосування, сприяє нормалізації ліпідного обміну, має діуретичний ефект [141].

Доказ провідної ролі дестабілізації мембран гепатоцитів, а також активація процесів ПОЛ у патогенезі хронічних захворювань печінки диктує необхідність введення в організм екзогенних фосфоліпідів із високим вмістом



поліненасичених жирних кислот, які здатні відновлювати структуру та функції клітинних мембран, а також модулювати ензимну відповідь [141, 215].

Основними діючими речовинами фосфоліпідних препаратів (есенціале форте Н, есел форте, ліволін) є есенціальні фосфоліпіди (субстанція ЕФА) - високоочищена фракція фосфатидилхоліну. Останній є універсальним будівельним матеріалом клітинних мембран, який на 80-90 % є основним мембранним матриксом [141].

Аналіз даних літератури показує, що одним з найбільш вживаних гепатопротекторів є Есенціале. До складу препарату входять есенціальні фосфоліпіди, ненасичені жирні кислоти (лінолева, ліноленова, олеїнова) та комплекс вітамінів (В1, В2, В6, РР, Е) [137].

Механізм дії Есенціале докладно вивчений багатьма авторами, він полягає в тому, що есенціальні фосфоліпіди проникають в мембрани клітин печінки та внутрішньоклітинних органел гепатоцитів і поновлюють динамічну єдність між фосфоліпідами та мембранними ензимами. Есенціале, проникаючи в уражені гепатоцити, активно включається в певні ензиматичні реакції, посилює процеси окислювального фосфорилування та поліпшує оксигенацію в гепатоцитах, таким чином, створює сприятливі умови для регенерації печінкових клітин [137].

Лівонорм і детоксил при токсичному гепатиті проявляють захисний вплив стосовно показників енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в гепатоцитах, у міокарді відновлюють лише маркери окисної модифікації протеїнів та не впливають на показники енергетичного обміну й прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в головному мозку щурів [126].

ПАТ «Фармак» створено ін'єкційний препарат на основі есенціальних фосфоліпідів під назвою Лесфаль. Проведено дослідження гепатопротекторної ефективності препарату на моделі експериментального гепатиту та обґрунтування доцільності його застосування в клініці [20].

Прогепар — оригінальний німецький препарат для лікування пацієнтів з ураженням печінки. Найважливішими компонентами препарату Прогепар вважаються натуральні нутрієнти та гідролізат печінки. Основними діючими компонентами гідролізату печінки є незамінні амінокислоти, олігопептиди, нуклеозиди, вітаміни групи В, макро- і мікроелементи (Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Se та ін.). Крім того, в одній пігулці препарату міститься майже 120 мкг ліпоєвої кислоти. Як відомо, ліпоєва кислота є кофактором піруватдегідрогеназного та альфа-кетоглутаратдегідрогеназного комплексів, що залучені в енергетичний метаболізм [146].

Останньою розробкою фармакології у сфері гепатології є комплексні препарати, які мають у своєму складі декілька гепатопротекторних компонентів (рослинний та фосфоліпідний), що вміщені у фітосоми. Ці структури значно підвищують біодоступність препарату, діючи більш націлено саме на гепатоцити. Представником цієї групи є препарат Лесіл – оригінальний фітосомальний комплекс, у склад якого входять силімарин (запатентований дериват розторопші (*Silybum marianum*) Siliphos) та соєві фосфоліпіди (ЕФ). Фосфоліпіди відновлюють мембрану печінки, а силімарин нормалізує роботу клітин та відновлює кінетику жовчі [26].

До найбільш відомих комплексних гепатопротекторів відносять препарати Гепадиф, Гепамерц та ін. Терапевтична ефективність препарату Гепадиф зумовлена фізіологічно активними речовинами метаболічної дії, що входять до складу препарату: карнітину оротат, карнітину гідрохлорид, антитоксична фракція печінкового екстракту, а також вітаміни групи В (В2, В6, В12). Карнітин — виступає як переносник комплексів жирних кислот із коферментом А (ацил-КоА) через мембрану мітохондрій [163, 182]. Відомо, що жирова інфільтрація печінки є найбільш частою морфологічною ознакою при гепатитах різного генезу. Наявність великої кількості вільних жирних кислот у цитозолі гепатоциту призводить до підсилення процесів вільнорадикального окислення ліпідів з утворенням вільних радикалів та активних форм кисню, які незалежно від причини гепатиту (віруси, алкоголь, ліки та ін.) призводять до пошкодження всіх біологічних сполук з утворенням токсичних альдегідів,

кетонів, спиртів, ізопростанів, ізолейкотрієнів та ін. Вони здатні вступати у взаємодію з азотистими основами ДНК, ензимами її реплікації й репарації, викликати появу мутацій і підсилювати ризик розвитку пухлин. Можливий також розрив нитки спіралі ДНК і загибель клітини. Розвиток стеатозу печінки пов'язують із карнітиновою недостатністю, що призводить до мітохондріальної дисфункції. Наявність у складі препарату Гепадиф карнітину сприяє покращенню енергетичного обміну, зменшує жирову інфільтрацію печінки [163].

Антитоксична фракція екстракту печінки містить незамінні й замінні амінокислоти в збалансованій кількості, ростові фактори, що сприяє регенерації клітин печінки. Рибофлавін (вітамін В2), що входить до складу препарату Гепадиф, є активною групою флавонових ензимів, які регулюють окисно-відновні процеси в клітинах печінки. Піридоксин (вітамін В6) бере участь в обміні амінокислот (особливо триптофану), синтезі глютамінової кислоти, що регулює функцію печінки, нервової системи. Вітамін В6 виявляє детоксикаційні властивості, вважається антидотом деяких речовин, наприклад ізоніазиду. Ціанокобаламін (вітамін В12) та вітамін В6 зменшують жирову інфільтрацію печінки, знижують гіпергомоцистеїнемію [163].

Отже, з літературних джерел видно, що більшу частину усіх гепатопротекторів (68 %) становлять препарати природного походження [25], які, в основному, випускаються закордонними виробниками. Враховуючи досліджену структуру фармацевтичного ринку гепатопротекторів, актуальним є створення нових препаратів на основі безпечної рослинної сировини, які здатні забезпечувати швидкий терапевтичний ефект під час профілактики та лікування захворювань гепатобіліарної системи.

### 1.3 Метаболічні порушення за умов харчової депривації

Відомо, що практично кожне відхилення у функціональному стані організму спричиняє різноманітні зміни в метаболізмі протеїнів. Порушення

механізмів їх біосинтезу та різних рівнів регуляції активного метаболізму може бути пусковим фактором у генезі багатьох патологічних процесів і захворювань, а також супровідних симптомів і синдромів [173].

Однією з патологічних моделей, що використовуються під час доклінічних досліджень із метою оцінки анаболічної активності, є харчова депривація. При повному голодуванні у щурів спостерігаються порушення метаболічних процесів: пригнічення анаболізму та генералізоване підвищення катаболізму протеїнів. Це клінічно проявляється симптоматичним комплексом, який характеризується різким схудненням, збудженням, а потім пригніченням, зниженням діурезу, негативним азотистим балансом [55, 76, 173, 181]. Неминучі зміни у функціонуванні органів і тканин при голодуванні викликають перебудову метаболізму клітини і перехід на ендогенне харчування. Реакція тварин на дію харчової депривації значною мірою залежить від початкової маси, віку, рівня метаболічних процесів. Однак встановлено, що повне харчове голодування протягом декількох діб призводить до пригнічення механізмів біосинтезу протеїнів і порушення різних рівнів регуляції протеїнового обміну [55].

Проаналізовані наукові праці описують різні механізми метаболічних порушень за умов харчової депривації. Аналіз результатів маси тіла та внутрішніх органів щурів на тлі харчової депривації свідчить про те, що в умовах повного голодування спостерігається зниження маси тіла тварин. Отже, голодування призводить до генералізованого катаболізму. При цьому зниження загальної маси тіла проявляється, в першу чергу, за рахунок жирової тканини та розпаду протеїнів скелетної мускулатури, що деякий час сприяє збереженню маси життєвоважливих органів (серця, головного мозку) [173, 294]. Однак, на пізніх етапах голодування можливе зменшення маси тіла за рахунок маси внутрішніх органів, про що свідчить зниження їх відносної маси. Через 5 діб голодування у тварин зафіксовано вірогідне збільшення вмісту сечовини у крові та сечі, що може бути наслідком підвищення протеїнової дисиміляції в період харчової депривації [173].

Маса різних органів при повному голодуванні зменшується неоднаково. Вірогідно змінюється маса печінки та найменш інтенсивно втрачає масу серце. Ці зміни пояснюються перерозподілом ресурсів з метою збереження маси життєво важливих постійно працюючих органів [55].

На тлі харчової депривації спостерігається прогресуюча дискоординація протеїнового обміну, зокрема, негативний азотистий баланс, оскільки організм починає використовувати протеїни як джерело енергії, необхідної для виживання. Збільшений розпад протеїнів призводить до підвищення синтезу сечовини, що проявляється збільшенням її концентрації у сироватці крові та в сечі після голодування [55].

Креатинін — це один із кінцевих продуктів протеїнового обміну в організмі, який дозволяє оцінювати стан нирок і м'язової системи. Дослідження вмісту креатиніну у сироватці крові тварин, які голодують, дозволило зареєструвати достовірне збільшення цього показника. Виявлені зміни є результатом голодування тварини та, найімовірніше, пов'язані з масивною м'язовою дистрофією [55].

Моделювання харчової депривації у щурів змінює прооксидантно-антиоксидантний баланс у сторону розвитку оксидативного стресу. Встановлено, що на фоні аліментарного голодування протягом перших трьох діб рівень ПОЛ практично не відрізнявся від такого в групі інтактного контролю, тоді як на 5-у добу експерименту рівень первинних і вторинних продуктів ПОЛ перевищував дані контролю. Через 7 діб моделювання у тварин харчової депривації встановлено максимально високі результати порівняно з інтактними тваринами та тваринами, які голодували протягом 2, 3 та 5 діб [23].

Порівняння динаміки первинних і вторинних продуктів ПОЛ у плазмі крові виявило односпрямовані їх зміни, що відмічалось зростанням процесів ПОЛ на 5-у добу експерименту та продовженням поглиблення оксидативного стресу до кінця 7-ої доби у тварин при моделюванні харчової депривації [23].

Дані, отримані на експериментальній моделі харчової депривації, вказують на те, що активація ПОЛ у плазмі крові залежить від тривалості аліментарного голодування [23].

Проведений аналіз досліджуваних показників ПОЛ у гомогенаті печінки показав таку ж тенденцію, що й у плазмі крові. Встановлено максимально високі результати вмісту ТБК-АП, ДК та ТК у гомогенаті печінки через 7 діб моделювання харчової депривації. Авторами виявлено, що рівень досліджуваних показників ПОЛ як у групі інтактного контролю, так і в групах щурів, що голодували, був достовірно вищим у гомогенаті печінки на відміну від плазми крові [23].

Активація ПОЛ у печінці може бути зумовлена розвитком стресової реакції. Стрес є відображенням усіх адаптаційних реакцій організму, що виникають у відповідь на певний подразник (харчова депривація), та направлений на реалізацію пристосувальних механізмів [23, 171]. При цьому стресова реакція проявляється зростанням катехоламінів, які активують ПОЛ [114]. З іншого боку, зменшення доставки кисню до органів шлунково-кишкового тракту, в тому числі й до печінки, зумовлює розвиток гіпоксії, при якій теж відбувається активація ПОЛ [23].

Деякими авторами встановлено, що за умов харчової депривації порушується гомеостаз глюкози, внаслідок чого знижується рівень інсуліну та підвищується рівень глюкагону. Це призводить до зростання її вмісту в сироватці крові [198, 288].

Відомо, що підвищення рівня глюкози викликає збільшення продукції активних форм кисню та активацію вільнорадикального окиснення. Активація процесів ПОЛ на тлі харчової депривації в щурів може зумовлювати зміну активності ензимної ланки системи АОЗ. Встановлено, що у плазмі крові відбувається підвищення СОД і каталазної активності з максимумом на 3-тю добу голодування. На 5-у добу експерименту відмічається вірогідне зниження активності досліджуваних ензимів у плазмі крові щурів. Через 7 діб

експерименту виявлено найнижчі параметри серед усіх термінів спостереження [23].

При дослідженні ензимних показників АОЗ у гомогенаті печінки щурів при голодуванні виявлено таку ж тенденцію, яку плазмі крові. Встановлено достовірне зростання досліджуваних показників протягом перших трьох діб експерименту, проте вже через 5 діб харчової депривації відбувалося достовірне зниження активності досліджуваних ензимів [23].

Дані, отримані на моделі харчової депривації, показали, що в щурів протягом 7-ми діб за умов повного голодування виснажувались антиоксидантні резерви, при цьому СОД і каталазна активність у гомогенаті печінки була найнижчою. Такі зміни компонентів антиоксидантного захисту сприяють адаптації і виживанню клітин у несприятливих умовах протягом перших трьох діб, проте через 5 діб аліментарного голодування відбувається їх виснаження [23].

Відомо, що про функціональний стан печінки свідчить активність ензимів переамінування – АлАТ і АсАТ. Так, за голодування щурів активність АлАТ у печінці знижується. Знижена активність ензиму свідчить про нестачу субстратів для трансамінування та використання їх як джерел енергії для поповнення потреб організму [83]. Активність АсАТ у сироватці крові за голодування щурів вища, ніж за повноцінної їх годівлі. Подібні результати стосовно впливу харчової депривації отримані й у інших дослідженнях [151, 181].

Відомо, що вміст у крові тригліцеролів є одним із показників для діагностики порушень жирового обміну. При дослідженні вмісту тригліцеролів у плазмі крові тварин за голодної дієти становлено, що він у 2 рази нижчий, ніж у інтактних щурів. Це підтверджує той факт, що за харчової депривації тригліцероли використовуються як джерело поживних речовин для забезпечення життєдіяльності організму [83].

Виявлено, що активність ЛФ у сироватці крові за голодної дієти зростає майже в 2 рази, що може свідчити про порушення функціонування печінки,

пошкодження внутрішньопечінкових жовчних шляхів та інтрагепатитний холестаза [83].

Найбільш ранньою відповіддю організму голодуючої тварини є мобілізація печінкового глікогену, як результат зниження глікемії і відношення інсулін/глюкагон. Тривале голодування призводить до деякого зниження вмісту глюкози та таких гліколітичних інтермедіатів, як фосфоенолпіруват, піруват, лактат. Вміст глікогену до 72 годин голодування повністю вичерпується. Гомеостаз глюкози практично зберігається, що досягається як обмеженням її утилізації, так і активацією процесів глюконеогенезу. Цьому сприяє зниження активності ензимів гліколізу та пентозофосфатного шляху, альдолази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. В умовах харчової депривації перетворення в глікоген амінокислот, необхідних для відновлення протеїнів і поліпептидів, організму не вигідно. Тому, зниження активності АлАТ та АсАТ на 3-4 добу голодування у всіх органах голодуючих щурів пояснюється перебудовою метаболізму на використання жирних кислот [87].

Т. А. Косматых та співавт. (2001) [87] показано, що через три доби голодування істотно збільшується синтез кетонів з ацетил-КоА, оскільки ЦТК не здатний окислити всі ацетильні групи, які утворюються при розщепленні жирних кислот. Кетонів тіла потрапляють у кров і переносяться до мозку, м'язів, серця, де вони інтенсивно використовуються для задоволення енергетичних потреб.  $\beta$ -окислення жирних кислот в м'язах зупиняє перетворення пірувату в ацетил-КоА. У результаті піруват, лактат і аланін переносяться в печінку, де вони перетворюються в глюкозу.

Отже, головним завданням метаболізму при голодуванні залишається підтримка досить високої концентрації глюкози в тканинах організму, в першу чергу, в мозку і серці, що досягається перебудовою метаболізму на такі домінуючі процеси, як мобілізація жирних кислот і глюконеогенез в печінці.

Відомо, що печінка бере участь у синтезі протеїнів. У тварин за харчової депривації вміст протеїнів печінки низький у зоні рухливості альбуміну та  $\gamma$ -



глобулінів. При цьому незначно підвищується вміст преальбумінів,  $\alpha$ -глобулінів та  $\beta$ -глобулінів [85].

У літературі є дані про те, що за харчової депривації в період органогенезу виникає порушення балансу між ГАМК і глутаміною кислотою. ГАМК як одна зі стрес-лімітуючої системи системи [108] активізує адаптацію до харчової депривації [64].

Отже, за умов харчової депривації виникають порушення метаболізму, які проявляються активацією окиснювальних процесів, зниженням активності захисних сил організму, а також змінами в обміні протеїнів та процесах енергозабезпечення клітин. Це зумовлює пошук нових засобів, які б змогли вплинути на вищевказані процеси та призвести до відновлення організму.

#### 1.4 Фармакологічна активність препаратів анаболічної дії

Сучасні анаболічні засоби або мають слабку анаболічну активність, або виявляють низку серйозних побічних ефектів [8, 192, 257, 267, 317]. У зв'язку з цим актуальним напрямком сучасної фармації є створення нових анаболічних препаратів із високою фармакологічною активністю та низькою токсичністю. Особливу увагу з цієї позиції привертають препарати з рослинної сировини. Рослинні препарати проявляють, незважаючи на невисоку анаболічну дію, здатність підвищувати працеспроможність, перевершувати більшість синтетичних препаратів за показниками фармакологічної дії; крім того, рослинні анаболічні засоби практично не проявляють токсичність, добре переносяться, мають незначну кількість протипоказань. Їх можна застосовувати як самостійно, так і з іншими анаболічними засобами з метою взаємопотенціювання їх дії [80, 89, 243, 331].

Найважливішою особливістю дії рослинних анаболічних засобів є їх здатність підвищувати активність власних анаболічних систем організму за рахунок потенціювання дії інсуліну, соматотропного та гонадотропного гормонів. Цей ефект досягається за рахунок підвищення активності синтезу

цАМФ, цГМФ та інших медіаторів, які посилюють чутливість клітин до власних гормонів організму; цАМФ, наприклад, підвищує чутливість клітин-мішеней до дії ендogenous соматотропіну та інсуліну [184].

Усі рослинні анаболічні засоби умовно підрозділяють на дві великі групи: рослинні анаболічні адаптогени та рослинні анаболічні препарати з гіпоглікемічною дією. Рослинні анаболічні адаптогени, окрім анаболічної дії, підвищують резистентність організму до будь-яких несприятливих факторів (фізичного навантаження, гіпоксії, токсинів, радіоактивного та електромагнітного випромінювання і т.п.) [184].

Одним із представників анаболічних засобів рослинного походження є екстракт з трави люцерни посівної (ЕТЛП) з доведеними властивостями коректора протеїнового обміну з анаболічною дією [56, 62]. Механізм специфічної фармакологічної дії ЕТЛП обумовлений складом біологічно активних речовин (БАР), який представлений великою кількістю протеїна, амінокислот, флавоноїдів, дубильних речовин, оксикоричних кислот, тощо. Різноманітність БАР обґрунтовує широку фармакодинаміку ЕТЛП: анаболічну дію та здатність коректувати протеїновий обмін, мембраностабілізуючу, цитопротекторну та імунотропну властивості [56, 62, 172].

Досліджено вплив екстракту на розвиток гострої карагенінової запальної реакції та доведено, що ЕТЛП здатний пригнічувати вивільнення таких медіаторів запалення, як серотонін, гістамін та кініни. Це можна пояснити здатністю ЕТЛП підвищувати щільність клітинних мембран за рахунок поповнення його БАР внутрішнього резерву протеїнів [61] та, як наслідок, збереженням мембранних протеїнів, що перешкоджає порушенню цілісності мембран клітин [56].

Екстракт пирію повзучого є ще одним представником вище описаної групи. В експерименті [183] доведено, що екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого збільшує масу тіла і внутрішніх органів (печінки, серця, нирок, селезінки) інтактних щурів при 23-денному пероральному введенні та сприяє збільшенню вмісту загального протеїна у тканинах органів. Екстракт пирію

повзучого впливає на добовий спонтанний діурез та зменшує вміст сечовини у крові та сечі тварин. Доведено, що екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого проявляє анаболічну дію.

Тищенко І. Ю. (2001) [154] було досліджено анаболічну активність рослинного комплексу БАР з *Paliurus spina-christi* Mill, умовно названого “Христабол” на моделі аліментарної протеїнової дистрофії. Отримані результати дозволили зробити висновок про те, що комплекс БАР з *Paliurus spina-christi* Mill проявляє активну анаболічну дію на моделі протеїнового голодування. Це можна пояснити активним впливом препарату на протеїносинтезувальний апарат клітини, активацією процесів трансамінування, затримкою азоту в організмі (створення позитивного азотистого балансу) і прискоренням включення <sup>14</sup>C-мічених амінокислот у протеїни, які знову синтезуються.

На кафедрі хімії природних сполук НФаУ під керівництвом проф. Кисличенко В. С. був отриманий гідрофільний екстракт з трави сої (ГЕТС), який у своєму складі містить значну кількість БАР. Серед них 20,4% припадає на вільні та зв'язані амінокислоти [66]. Результати проведених досліджень показали, що на моделі гідрокортизоніндукованого катаболізму ГЕТС запобігає різкому зниженню маси тіла тварин, сприяє зберіганню вмісту протеїна у тканинах серця, селезінки та нирок, викликає збільшення діурезу. ГЕТС попереджає генералізацію катаболізму та сприяє проявам анаболічної активності [174].

На моделі доксорубіциніндукованого катаболізму доведена анаболічна та кардіопротекторна активність. Лікувально-профілактичне введення ГЕТС за умов доксирубіциніндукованого катаболізму перешкоджає розвитку порушень протеїнового обміну на ранніх етапах патології [175].

В експерименті й на практиці в спортивній медицині встановлено анаболічний ефект L-карнітину. L карнітин бере участь у синтезі деяких амінокислот, підвищує працездатність, прискорює ріст і регенерацію тканин, сприяє збільшенню м'язової маси та сили м'язів [36, 180].

Успішним виявилось лікування карнітином анорексії та виснаження у дорослих хворих і пацієнтів старечого віку [180]. В інших клінічних дослідженнях показано, що завдяки анаболічному ефекту карнітин сприяє регенерації слизової оболонки шлунково-кишкового тракту при гастритах і виразковій хворобі, а також оптимізації продукції травних ензимів при гіпоацидних гастритах і хронічних панкреатитах [36]. Результати деяких [128] досліджень показали, що цукерки та топінг з L-карнітином та глюкозаміном мають виражений анаболічний ефект та протизапальну активність, завдяки чому можуть бути запропоновані особам, діяльність яких пов'язана зі тривалими статико-фізичними навантаженнями, що супроводжуються проявами втоми, зокрема можуть бути використані в харчуванні особового складу Збройних Сил України.

На кафедрі фармацевтичної хімії НФаУ під керівництвом професора І. В. Українця синтезований ряд нових похідних хінолон-карбонових кислот, які були досліджені на наявність анаболічної дії. На стадії скринінгу для подальшого вивчення була відібрана найбільш ефективна та найменш токсична субстанція, умовно названа "Хіноболін". Введення хіноболіну попереджає загибель тварин, знижує активність лактатдегідрогенази та нормалізує біоелектричну активність серцевого м'яза, підвищує резистентність організму тварин до некротичного ушкодження міокарда [89].

Г. О. Макарова, Р. Д. Сейфула вважають патогенетично обґрунтованим застосування при високих фізичних навантаженнях похідних піримідинів (метилурацил, пентоксил, калія оротат, нуклеїнат натрію, сафінор), які сприяють синтезу нуклеїнових кислот, протеїнів, зокрема імуноглобулінів, збільшують активність нейтрофілів і макрофагів, включаючи тканинні форми, стимулюють лейкопоез. Зазначені препарати є активними антиоксидантами. Механізм їх дії пов'язаний із пригніченням перекисного окислення жирних кислот та інгібуванням утворення супероксидних радикалів. Ці препарати підвищують стійкість мембранних структур клітини до вільних радикалів, які

утворюються у процесі активації фагоцитів і нейтрофілів при збільшенні утворюваних супероксидних радикалів [162].

Дослідження Г. О. Макарової свідчать про те, що пентоксил, метилурацил та оксіметацил значно перевершують по своєму антикатаболічному впливу на нуклеїновий і протеїновий обмін такі анаболічні стероїди, як тестостеронфенілпропіонат і діанабол, і одночасно не поступаються їм по силі анаболічної дії. Окрім того, піримідинові похідні вигідно відрізняються від анаболізаторів стероїдної структури відсутністю андрогенного ефекту [162].

Похідні піримідинів проявляють антиоксидантну, протизапальну, антитоксичну, протипухлинну, радіопротекторну, анаболічну та антикатаболічну активності. Окрім того, їм властиві психотропний, кардіотропний та гепатопротекторний ефекти [162, 289].

Оскільки піримідини, маючи властивості імуномодуляторів, також стимулюють кровотворення, проявляють антиоксидантну, анаболічну, антикатаболічну, кардіотонічну та гепатопротекторну дії, тобто патогенетично значущі для вираженої імунопротективної дії, можна використовувати їх в самий напружений для спортсменів період – період передзмагальної підготовки [162].

Як самостійний препарат в клінічній практиці використовують калію оротат. Він має виражений анаболічний ефект, на чому ґрунтується його застосування в лікуванні хронічних гепатитів та цирозів печінки, серцево-судинних захворювань, гіпотрофії у дітей, м'язової дистрофії та т. д. [36]. Оротат калію, який, за даними літератури, має виразну анаболічну дію, не чинить андрогенного ефекту, прискорює процеси репаративної регенерації та формування рубця при деяких патологічних процесах в серцевому м'язі, а також є засобом для профілактики некрозів міокарда та бере активну участь у біосинтезі нуклеїнових кислот. Калію оротат проявляє позитивний вплив на динаміку відносної маси серця тварин при експериментальній мікрокардіодистрофії [89].

Ретаболіл є синтетичним похідним тестостерону, анаболічним стероїдом пролонгованої дії для системного застосування. Ретаболіл має суттєву перевагу перед іншими препаратами цієї групи у зв'язку зі зручністю застосування, оскільки вводиться тільки кілька разів на місяць [63].

Метандієнон. За фармакологічною дією метандієнон має яскраво виражені анаболічні та помірні андрогенні властивості. Лікарські засоби на основі метандієнону випускають, як правило, у вигляді таблеток. Фармацевтичні підприємства виготовляють препарати, що містять метандієнон, під такими назвами: «Анабол», «Метандростенолон», «Динобол», «Андроредан», «Енсепан», «Пронабол», «Стенолон» тощо [8].

Нандролон. Препарат є активним стероїдом анаболізму зі слабким андрогенним ефектом. Для швидшого та кращого засвоювання організмом пацієнта препарат, як правило, використовують у вигляді таких сполук, як нандролон деканоат, нандролон фенілпропіонат, нандролон циклогексанкарбоксилат, нандролон пропіонат тощо. Лікарські засоби, що містять нандролон, випускають у формі олійних ін'єкцій. Найбільше поширення отримали препарати під такими марками: «Ретаболіл», «Дека – Дюраболин», «Нандролон Деканоат», «Екстраболін», «Еболан», «Нурецан», «Стероболін», «Турінабол», «Ціремілон» тощо [8].

Речовина LES-2222 (похідне тіопіранотіазолу) - синтезована на кафедрі органічної, біоорганічної та фармацевтичної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького під керівництвом проф. Р. Б. Лесика [85]. Дана речовина запобігає зниженню маси тіла, печінки, нирок, сім'яника, селезінки і серця за харчової депривації у щурів. При цьому, ретаболіл, тестостерону пропіонат і речовина LES-2222 гальмують процеси катаболізму в організмі тварин, що проявляється меншими втратами маси тіла в цілому і внутрішніх органів зокрема [82].

Під керівництвом В. В. Болотова на кафедрі аналітичної хімії НФаУ була досліджена активність синтезованих похідних 2-гідрокси-оцтової та 2-бензоїламіно-оцтової кислот. Під час вивчення наявності анаболічної активності досліджуваних сполук встановлено, що активність похідних 2-

гідрокси-оцтової кислоти дещо нижча, ніж у похідних 2-бензоїламіно-оцтової кислоти [2].

Анаболічні стероїдні препарати і інсулін можна вважати ефективними і безпечними засобами патогенетичного лікування в комплексному лікуванні хворих на ко-інфекцію ТБ/ВІЛ, їх призначення сприяє більш швидкій регресії клінічних симптомів захворювання. Інсулін у порівнянні з ретаболілом показав дещо вищу ефективність щодо впливу на окремі клінічні параметри, зокрема, прояви кахексії та вираженість інтоксикаційного синдрому [130].

Є вірогідним, що коло медичних показань до застосування анаболіків буде постійно розширюватися, тому що анаболічні засоби завдяки своїй загальнозміцнювальній та біостимулюючій дії здатні чинити сприятливу дію при лікуванні практично будь-якого захворювання. Однак, поряд з активним впливом на протеїновий обмін ці засоби чинять виразний андрогенний ефект, який суттєво обмежує межі їх клінічного використання, особливо при тривалих курсах терапії, а також при лікуванні хворих жінок та дітей [89].

Аналізуючи ринок застосовуваних анаболічних препаратів можна відмітити, що перевагами рослинних анаболіків над синтетичними препаратами, окрім менш виражених токсичних проявів та побічних реакцій, є близькість хімічної структури біологічно активних речовин, які входять до складу рослинних засобів і клітин організму людини, та їх здатність легко вступати в метаболічні процеси [184].

### 1.5 Хімічний склад шпинату городнього та його застосування у народній та офіційній медицині

Шпинат городній (*Spinacia oleracea* L.) – одно, рідше дворічна рослина, яка раніше відносилась до родини Лободові (*Chenopodioideae*), а зараз відноситься до родини Амарантових (*Amaranthaceae*). Популярність шпинату серед населення стимулює його культивування на території України та селекцію нових сортів [47]. За даними літератури шпинат городній має різноманітний

вміст біологічно активних речовин. Насамперед, це флавоноїди, вітаміни, мінеральні речовини та карбонові кислоти [264, 300]. Шпинат має високу харчову цінність і є надзвичайно багатий антиоксидантами, особливо коли свіжий, пропарений або швидко відварений. Він є багатим джерелом вітамінів А, С, Е, К, макро- та мікроелементів (магнію, марганцю, заліза) [296]. У шпинаті відмічено значний вміст карбонових кислот, яким притаманний широкий діапазон фармакологічної активності. Це пояснюється тим, що цей клас сполук дуже різноманітний і представлений аліфатичними (насиченими та ненасиченими), гетероциклічними й ароматичними сполуками. Жирні кислоти, які є представниками аліфатичної групи, є життєвоважливими речовинами для організму людини. Вони беруть участь в обміні вітамінів і жирів, є структурними компонентами фосфоліпідів, проявляють антисклеротичну активність, виконують енергетичну функцію тощо [144]. Важливо те, що такі кислоти як лінолева, ліноленова та арахідонова є незамінними та не здатні синтезуватись організмом людини [314]. Їх добова потреба забезпечується лише потраплянням з їжею. Крім того, вони регулюють ліпідний обмін, забезпечують нормальний ріст та розвиток нашого організму, обумовлюють міцність та еластичність кровоносних судин, підвищують стійкість організму до шкідливого впливу ультрафіолетового та радіаційного опромінення. Недостатнє надходження з їжею незамінних жирних кислот зумовлює порушення ліпідного обміну, виникнення атеросклерозу та онкологічних захворювань [30, 179].

Аналіз літературних джерел показує, що за сумарним вмістом в листі шпинату городнього переважали ненасичені жирні кислоти [30]: ліноленова, олеїнова, ерукова та лінолева, ідентифіковано пальмітолеїнову кислоту. У кількості менше 1,00 % в листі шпинату городнього були присутні насичені жирні кислоти: лауринова, міристинова, стеаринова та лігноцерінова.

Надземні частини шпинату містять рутин, гіперозид, астрагалін, кофеїнову, хлорогенну та неохлаорогенну кислоти. У насінні міститься зв'язаний із глікопротеїном гексозамін [296].



Шпинат дуже багатий на вміст флаваноїдів: кверцетин; міріцитин; кампеферол [325]; апігенін; лютеолін; патулетин; шпинацетин; яцеїдин; 4'-глюкуронід; 3,5,7,3', 4'пентагідрокси-6-метоксифлавоон [232].

I. З. Кернична та співавт. визначили елементний склад шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.) родини лободових (*Chenopodiaceae*). У результаті проведених досліджень виявлено, що листки шпинату городнього містять велику кількість калію та магнію. Також наявний достатній вміст натрію і кальцію. Серед мікроелементів у листках шпинату городнього визначено цинк, ферум, кобальт, манган, купрум та нікель. Проведені дослідження показали, що серед мікроелементів у *Spinaci Folia* найбільший вміст складає залізо [68].

Зі шпинату (*Spinacia oleracea*) було виділено мітохондрії, що не містять хлорофілу, з фотосинтетичної (листяної) та нефотосинтетичної тканини (черешок). Виявлено, що в мітохондріях листя більше фосфатидилхоліну, ніж у фосфатидилетаноламіну, порівняно з мітохондріями черешків [224].

Спектрофотометричним методом встановлено [31] кількісний вміст хлорофілу а, хлорофілу b та каротиноїдів. Виявлено, що кількість хлорофілу а в 2,3 рази більша, ніж хлорофілу b.

У роботі Jaime L. та співавт. [263] було вивчено вплив каротиноїдів та фенольних сполук на антиоксидантні та протизапальні властивості екстрактів шпинату. Доведено, що фенольні сполуки шпинату мають високу антиоксидантну активність, тоді як каротиноїди виявляють більш високу протизапальну активність. Деякими авторами [123] встановлено, що в найбільшій кількості в усіх досліджуваних видах шпинату міститься геміцелюлоза А.

Окрім харчового значення, для шпинату характерні різні прояви біологічної дії, такі як інгібітор вірусів [191], протиглисна [304], антиоксидантна [334], гепатопротекторна [236, 268], мембранопротекторна [296], протизапальна [236, 268] дії та зменшення ризику виникнення раку молочної залози [236, 266, 268].

Шпинат має важливе значення для лікування цукрового діабету за рахунок великого вмісту вітамінів, мінеральних речовин, фітогормонів, органічних кислот тощо [259].

У народній медицині шпинат використовується як вітрогінний, проносний засіб; корисний при захворюваннях крові та мозку, астмі, проказі, порушенні жовчовиділення. Його застосовували при лікуванні сечокам'яної хвороби.

Листя корисні при запаленні легенів і кишечника, болі у горлі, суглобах, спразі, простуді і чханні, лейкодермії, при зупинці блювоти, метеоризмі. Рослину використовують при лікуванні гарячкових станів. Насіння корисне при лихоманці, лейкорейі, порушеннях сечовиділення, люмбаго, хворобах мозку та серця. Зелена рослина використовується для розчинення сечових каменів [296].

Шпинат городній вживають в їжу у свіжому та вареному вигляді, застосовують при шлунково-кишкових розладах, при анемії та як загальнозміцнюючий засіб при застудах [314]. Також рекомендують споживати рослину в їжу при захворюваннях нервової системи, шлунково-кишкового тракту, порушенні росту в дітей, анемії. У вигляді супів, пюре його призначають при ожирінні. Рекомендують споживати шпинат дітям, вагітним та хворим на гіпохромну анемію, діабет і гіпертонію, при гіпоацидному гастриті й ентероколіті, порушеннях секреторної функції щитоподібних та надниркових залоз, а також при м'язово-суглобовому ревматизмі з больовими відчуттями і набряками нижніх кінцівок [68].

Отже, серед фармакологічних активностей шпинату можна виділити антиоксидантну активність, захист від гамма-випромінювання, протиракову, гепатопротекторну активність, пригнічення кластогенності, депресивний ефект на ЦНС, пригнічення проліферації клітин аденокарциноми шлунка людини та антигельмінтну активність [296], що зробило його перспективним і актуальним засобом для проведення фармакологічних досліджень.

Враховуючи різноманітний хімічний склад усіх органів шпинату городнього та його широке застосування в народній медицині, ми вважали за

доцільне вивчити антиоксидантні та гепатопротекторні властивості густого екстракту з листя рослини на моделі токсичного ураження печінки тетрахлорметаном з метою подальших доклінічних досліджень та впровадження його в клінічну практику для лікування токсичних гепатитів різного генезу.

Окрім того, значний вміст протеїнів у рослині зумовив дослідження анаболічної активності фармакологічних препаратів з неї, що дозволить виявити ефективність їх застосування за виснаження організму, в післяопераційному періоді, а також запропонувати використання білкових комплексів для спортсменів.

Вищесказане спонукало нас до досліджень, які наведені в наступних розділах і сформульовані як мета та завдання у вступі даної роботи.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експерименти виконані на 372 білих безпородних щурах-самцях масою тіла  $180-200 \pm 20$  г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

При виконанні роботи керувались Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгодженими з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1986) [54, 77].

Матеріалом для проведення фармакологічних досліджень слугували густий та сухий екстракт зі шпинату городнього листя, які виготовлені та надані для досліджень кафедрою хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету під керівництвом проф. Журавель І. О. Способи одержання та стандартизації густого та сухого екстракту зі шпинату городнього листя висвітлені у кандидатській дисертації Петровської У. В. «Фармакогностичне вивчення шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.)», яка захищена під керівництвом проф. Журавель І. О. у 2021 році.

ГЕШЛ – одержували методом трикратної дробної мацерації 40% етанолом при співвідношенні сировини й екстрагенту 1 : 5 та температурі нагріву водяної бані близько  $60^{\circ}\text{C}$  та з подальшим згущуванням витяжки під зниженим тиском. Вихід готового продукту складав не менше 38 % від маси повітряно-сухої сировини.

Шпинату городнього листя екстракт густий – в'язка маса зелено-бурого кольору. Одержаний екстракт легко розчинявся у воді та 40 % етанолі, частково – у 96 % етанолі, етилацетаті та бутанолі і майже не розчинявся у петролейному етері.

В одержаному екстракті ідентифіковано яблучну, лимонну, винну, щавлеву, малонову, аскорбінову, хлорогенову, неохлорогенову, кофейну

кислоти, рутин, ізокверцитрин, кемпферол, лютеолін, гіперозид та апігенін. Крім того, ідентифіковано та визначено кількісний вміст 18 амінокислот (ГАМК, серину, аспарагінової, глютамінової кислот, проліну, гліцину, аланіну, цистеїну, тирозину, лізину, гістидину, аргініну, треоніну, валіну, метіоніну, ізолейцину, лейцину, фенілаланіну), який становив ( $308,15 \pm 7,70$  мг/кг), та 19 мінеральних елементів (силіцію, фосфору, магнію, кальцію, натрію, калію, феруму, алюмінію, мангану, ніколу, молібдену, купрум, цинку) – ( $14170,92 \pm 354,37$  мкг/100 г).

У екстракті встановлено кількісний вміст суми полісахаридів ( $1,35 \pm 0,04$  %), щавлевої кислоти ( $0,06 \pm 0,01$  %), суми вільних амінокислот ( $6,96 \pm 0,33$  %), суми поліфенольних сполук ( $26,52 \pm 0,66$  %), гідроксикоричних кислот ( $3,73 \pm 0,11$  %), флавоноїдів ( $8,10 \pm 0,20$  %), суми стероїдних сполук ( $1,63 \pm 0,04$  %). Визначено вміст неохлорогенової кислоти ( $27,94 \pm 0,70$  мг/кг), хлорогенової кислота ( $505,00 \pm 12,63$  мг/кг), кофейної кислоти ( $883,04 \pm 22,08$  мг/кг), рутину ( $1046,43 \pm 26,16$  мг/кг), гіперозиду ( $115,74 \pm 2,89$  мг/кг), ізокверцитрину ( $5,97 \pm 0,15$  мг/кг), апігенін-7-глюкозиду ( $8,05 \pm 0,20$  мг/кг), лютеоліну ( $176,37 \pm 4,41$  мг/кг), апігеніну ( $923,46 \pm 23,09$  мг/кг) та кемпферолу ( $86,89 \pm 2,17$  мг/кг).

Шпинату городнього листя екстракт густий запропоновано стандартизувати за якісним складом фенольних сполук (кофейної, хлорогенової кислот, апігеніну та рутину) та кількісним вмістом суми поліфенольних сполук (не менше 20,0 %), гідроксикоричних кислот (не менше 3,5 %), флавоноїдів (не менше 7,0 %) та щавлевої кислоти (не більше 0,1 %).

СЕСЛ – одержували методом настоювання сировини 0,1 М розчином натрію гідроксиду при кімнатній температурі у співвідношенні сировини й екстрагенту 1 : 5 з подальшим висушуванням під зниженим тиском. Вихід готового продукту складав не менше 22 % від маси повітряно-сухої сировини.

Шпинату городнього листя екстракт сухий – аморфний порошок світло-коричневого кольору. Одержаний екстракт легко розчинявся у воді та 40 % етанолі, майже не розчинявся – у 96 % етанолі, хлороформі, етилацетаті та бутанолі і петролейному етері.

В одержаному екстракті методом ТШХ ідентифіковано флавоноїди рутин, кверцетин, лютеолін, гіперозид та апігенін, амінокислоти аланін, лейцин, фенілаланін, валін, аспарагін, гліцин, метіонін. У одержаному екстракті гравіметричним методом визначили кількісний вміст полісахаридів ( $21,35 \pm 1,00$  %), методом абсорбційної спектрофотометрії – суми поліфенольних сполук ( $10,52 \pm 0,27$  %), флавоноїдів ( $2,87 \pm 0,07$  %) та вільних амінокислот ( $9,62 \pm 0,24$  %).

Дослідження амінокислотного складу сухого екстракту зі шпинату городнього листя проводили методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії.

За результатами експерименту у шпинату городнього листя екстракті сухому ідентифіковано 18 амінокислот, з яких 9 – незамінні. Загальний вміст амінокислот у досліджуваному екстракті складав 945,28 мг/кг. Близько 60 % за вмістом складали незамінні амінокислоти (572,02 мг/кг). Серед незамінних амінокислот у лікарському засобі превалювали лейцин (160,51 мг/кг), аргінін (137,77 мг/кг) та лізин (82,42 мг/кг).

Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту сполук фенольної природи у шпинату городнього листя екстракті сухому проводили методом ВЕРХ.

За результатами експерименту у шпинату городнього листя екстракті сухому ідентифіковано рутин, гіперозид, лютеолін та апігенін, загальний вміст яких становив 534,64 мг/кг. В одержаному екстракті домінували рутин (225,04 мг/кг) та апігенін (218,31 мг/кг), вміст яких був майже однаковий.

Шпинату городнього листя екстракт сухий запропоновано стандартизувати методом ТШХ за якісним складом флавоноїдів (апигеніну та рутину) та методом абсорбційної спектрофотометрії за кількісним вмістом суми поліфенольних сполук (не менше 10,0 %), флавоноїдів (не менше 2,5 %) та вільних амінокислот (не менше 9,0 %).

Для фармакологічних досліджень використовували ГЕШЛ та СЕШЛ. Програма проведення фармакологічних досліджень наведена на рис. 2.1.

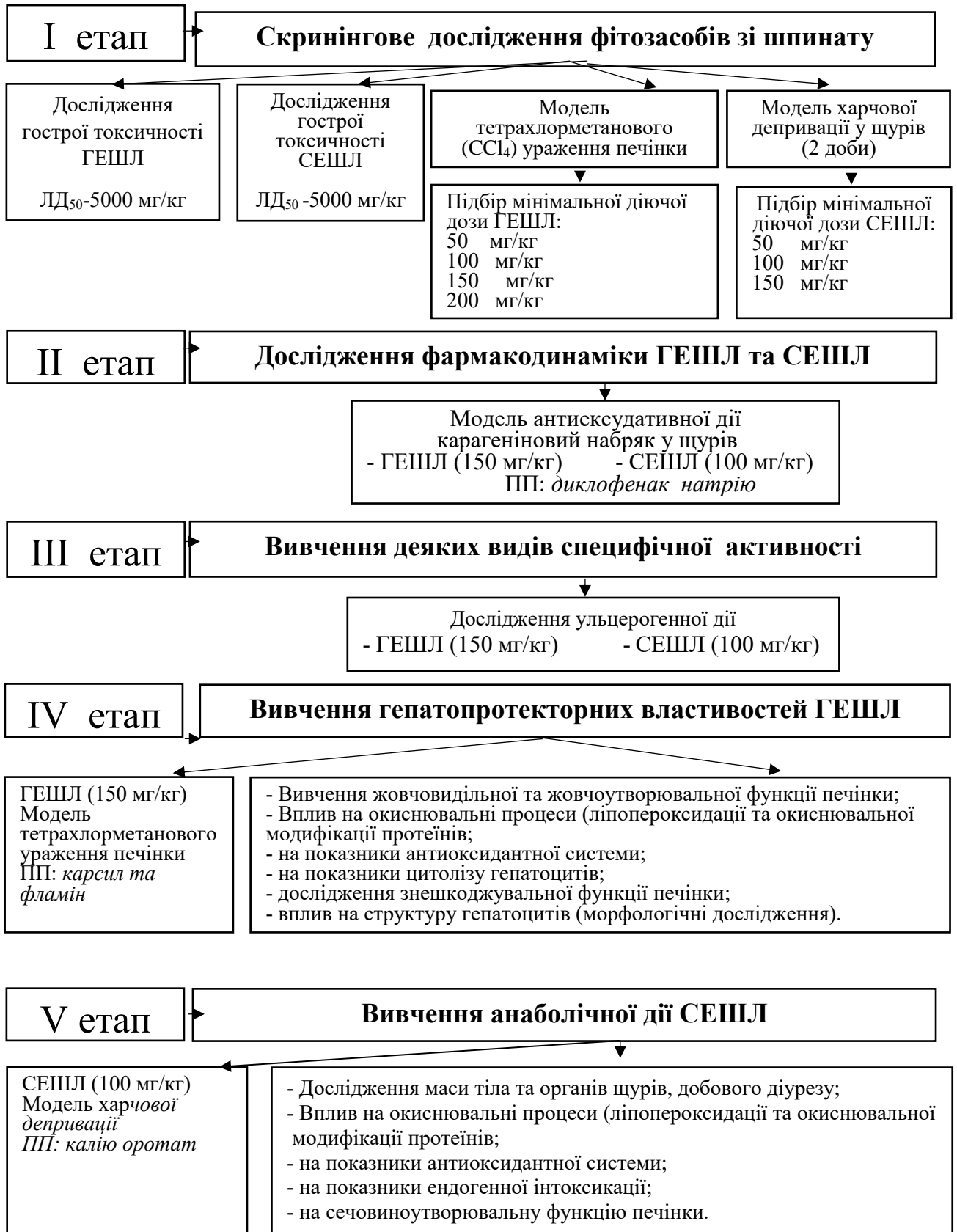


Рисунок 2.1 – Дизайн проведення фармакологічних досліджень

Гепатопротекторні, мембраностабілізуючі та антиоксидантні властивості ГЕШЛ вивчали на моделі тетрахлорметанового ураження печінки [143, 147].

Тетрахлорметан тваринам вводили внутрішньочеревно, дворазово (через день) у вигляді 50% олійного розчину у дозі 1 мл/кг маси тіла тварини, згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України.

У роботі використано препарати порівняння: гепатопротектор рослинного походження Карсил (діюча речовина силімарин, виробник – АТ «Sopharma»), який щури отримували у вигляді 1% крохмальної суспензії у дозі 100 мг/кг маси тіла [29, 96].

У досліджах з вивчення жовчовидільної та жовчоутворювальної функції печінки як препарат порівняння використовували таблетки фламін виробництва АТ «Галичфарм», які тваринам вводили перорально у дозі 250 мг/кг [11].

Анаболічну активність СЕШЛ вивчали на моделі харчової депривації у щурів. Як препарат порівняння використовували препарат калію оротат у дозі 100 мг/кг маси тіла [60]. Значення дози препаратів порівняння обирали, опираючись на інструкцію до застосування та, використовуючи коефіцієнти видової чутливості Риболовлева Ю.Р. і його метод перерахунку дози для людини на дозу для щура [136].

При вивченні протизапальної активності препаратом порівняння були таблетки натрію диклофенаку, який є еталонним протизапальним засобом, у дозі 8 мг/кг ( $ED_{50}$  на даній моделі) [147].

*Дослідження фармакологічних та біохімічних показників проводили за нижче наведеними методиками.*

Гостру токсичність вивчали на білих беспородних щурах обох статей масою 180-200±20 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.



Для визначення гострої токсичності (показника  $LD_{50}$ ) ГЕШЛ та СЕШЛ використовували експрес-метод Пастушенко Т. В. і співав. [121]. Проводили досліди на білих безпородних щурах – самцях та самицях при внутрішньошлунковому введенні препаратів. Клас токсичності визначали за класифікацією К. К. Сидорова [139].

Дослідження фармакологічної корекції порушень протеїнового обміну на моделі харчової депривації проводили на білих щурах, які протягом 7 діб знаходилися в умовах абсолютного харчового голодування при достатньому доступі води. Для оцінки анаболічної дії СЕШЛ експериментальних тварин розподілили на 4 групи: перша - інтактні тварини, друга — контрольна — тварини в умовах повного голодування, третя — тварини, що перорально отримували СЕШЛ дозою 100 мг/кг, четверта — тварини, яким перорально вводили референс-препарат — калію оротат (КО) дозою 100 мг/кг [60]. У експериментальних тварин усіх груп у перший день дослідження визначали такі показники: масу тіла, добовий спонтанний діурез, вміст сечовини у сироватці крові та сечі, вміст загального протеїну в сироватці крові, печінці та м'язах. Протягом 7 діб експерименту оцінювали динаміку маси тіла щурів. Евтаназію тварин проводили на 24 годину, 2-гу, 3-ю, 5-ту та 7-му доби експерименту.

Перед евтаназією визначали діурез і вміст сечовини у сечі. Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом, після чого визначали масу внутрішніх органів (печінки, серця, нирок, селезінки) та їх масові коефіцієнти. Потім вивчали біохімічні показники: вміст загального протеїну в м'язах і внутрішніх органах (біуретовим методом), а також вміст сечовини у сироватці крові, продуктів ліпопероксидації, активність антиоксидантних ензимів. Матеріали експерименту обробляли методом варіаційної статистики.

Вивчення впливу екстрактів шпинату городнього листя на стан слизової оболонки шлунку проводили за методом Н. І. Андрєєвої і С. Д. Шарової [4]. Білих щурів утримували 48 годин на голодній дієті без обмеження прийому води. Густий екстракт вводили в дозі 150 мг/кг маси тіла, сухий екстракт – в дозі

100 мг/кг. Через три години тварин знеживлювали, виймали шлунок і візуально, за допомогою лупи, досліджували стан слизової оболонки шлунку.

Протизапальну активність ГЕШЛ та СЕШЛ вивчали на моделі карагенінового набряку лапи щурів, які вводили у встановленій попередньо мінімально діючій дозі 150 мг/кг та 100 мг/кг маси тіла відповідно. Як препарат порівняння використовували таблетки натрію диклофенаку, який є еталонним протизапальним засобом, у дозі 8 мг/кг (ЕД50 на даній моделі) [147]. Препарати тваринам вводили внутрішньошлунково за 1 годину до введення флаготропного агента. Запалення викликали шляхом субплантарного введення в задню лапу щура 0,1 мл 1% розчину карагеніну [111, 147]. За розвитком набряку спостерігали в динаміці на 1, 3, 6 та 24 години та за допомогою механічного онкометра вимірювали об'єм лап.

Для визначення гепатопротекторних властивостей білим щурам-самцям моделювали токсичний гепатит шляхом ураження печінки тетрахлорметаном (в дозі 1,0 мл/кг маси тіла тварин). Густий екстракт зі шпинату городнього листя використовували у дозі 150 мг/кг маси тіла, препарат порівняння силімарин у дозі 100 мг/кг маси тіла. Евтаназію щурів проводили під тіопенталовим наркозом на 4-ту, 7-му та 10-ту доби експерименту з дотриманням усіх правил Конвенції із захисту хребетних тварин. Активність мембранодеструктивних процесів оцінювали за аланін- та аспрататамінотрансферазною, гаммаглутамілтранспептидазною активністю та еритроцитарним індексом інтоксикації.

Активність окиснювальних процесів і стан антиоксидантної системи оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів, 2,4-динітрофенілгідрозонів, церулоплазміну, активністю каталази, супероксиддисмутази та вмістом відновленого глутатіону.

Розвиток ендогенної інтоксикації в уражених тетрахлорметаном тварин оцінювали за вмістом молекул середньої маси у сироватці крові.

Дослідження жовчовидільної та жовчоутворювальної здатності печінки щурів [147] після корекції густим екстрактом зі шпинату листя (150 мг/кг),

проводили на моделі тетрахлорметанового ураження печінки. Тварини в експерименті були розділені на 4 групи: 1 – інтактні щури, 2 – уражені щури ( $\text{CCl}_4$ ), 3 – уражені + корекція екстрактом, 4 – уражені + корекція фламіном.

Жовчовидільну та жовчоутворювальну функцію печінки оцінювали на 4-ту, 7-му та 10-ту доби експерименту. Під тіопенталовим знеболенням (60 мг/кг) у щурів катетеризували загальну жовчну протоку та збирали жовч годинними порціями протягом 3-х годин [147]. Секреторну функцію печінки оцінювали за швидкістю секреції жовчі за годину спостереження (мг/хв/100) та за загальною кількістю жовчі за весь час досліду (мл/100) [51]. Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом. Проводили забір крові для подальших досліджень.

Жовчоутворювальну функцію печінки оцінювали за вмістом у сироватці крові загальних жовчних кислот [17] та загального білірубину, для визначення якого використовували стандартний набір реактивів «Філісіт – Діагностика».

#### *Визначення вмісту жовчних кислот (ЖК)*

Принцип методу: реакція базується на утворенні забарвлених продуктів конденсації у разі взаємодії жовчних кислот з оксиметилфурфуролом. Останній утворюється з фруктози, що є продуктом гідролізу внаслідок додавання до сахарози концентрованої сульфатної кислоти [147].

Для визначення вмісту жовчних кислот наливали в центрифужну пробірку 0,2 мл сироватки крові, додавали 0,7 мл етанолу та змішували. Центрифужну пробірку витримували 5 с у кип'ячій водяній бані, а далі центрифугували 10 хв при 1000 об/хв. Після центрифугування відбирали 0,02 мл центрифугату в хімічну пробірку та добавляли 0,4 мл 2% сахарози і 5 мл 67%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , перемішували. Вміст пробірки інкубували 15 хв при температурі 60°C. Після інкубації пробірку охолоджували до кімнатної температури. Для приготування контролю у пробірку вносили 0,4 мл 2% сахарози і 5 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Вимірювали оптичну густина дослідної проби проти контрольної при  $\lambda = 580-610$  нм. Розрахунок вмісту жовчних кислот проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом таурохолевої кислоти і виражали в г/л.

#### *Визначення вмісту загального білірубіну в сироватці крові (ЗБ)*

Принцип методу: в присутності кофеїнового реактиву діазотована сульфанілова кислота утворює з непрямим та зв'язаним (прямим) білірубіном азобілірубін рожево-фіолетового кольору. Інтенсивність забарвлення дослідного розчину прямо пропорційна концентрації загального білірубіну у пробі [318].

Для визначення загального білірубіну пробу для розвинення забарвлення витримували 20 хв (при температурі від плюс 180С до плюс 250С), після чого фотометрували. При подальшій експозиції забарвлення не змінювалося. Вимірювали оптичну густина дослідної проби проти холостої на ФЕК (КФК-2) при довжині хвилі  $\lambda = 540-560$  нм. Кювета з довжиною оптичного шляху 10 мм або 5 мм.

Розрахунок концентрації загального білірубіну в сироватці крові проводили за калібрувальним графіком. Концентрацію вираховували в мкмоль/л або в мг/л.

#### *Визначення вмісту ТБК – активних продуктів (ТБК-АП)*

Принцип методу: в кислому середовищі при високій температурі малоновий діальдегід та схожі сполуки утворюють з тіобарбітуровою кислотою забарвлений комплекс червоного кольору з максимумом поглинання при 532 нм [3, 152].

В центрифужні пробірки наливали по 1 мл  $H_2O$  та 1 мл 10 % гомогенату або 0,5 мл сироватки крові. Після цього в пробірки додавали 2 мл 30 % розчину трихлороцтової кислоти, 0,1 мл 5М  $HCl$  і 2 мл тіобарбітурової кислоти. Пробірки поміщали в кип'ячу водяну баню на 15 хв, після чого охолоджували.

Осад відділяли центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 40 хв. Надосадову рідину зливали в чисті пробірки і фотометрували на ФЕКУ при 535 нм.

Вміст малонового діальдегіду розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинції забарвленого комплексу, який дорівнює  $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ моль}^{-1}$  і виражали в мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини.

#### *Визначення каталазної активності (КТ)*

Принцип методу оснований на здатності пероксиду гідрогену утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс.

Дослідженню подавали плазму крові і тканину печінки, з якої на холоді готували 10 % гомогенат на 0,05 М тріс-буфері (рН = 7.8). Реакцію запускали додаванням 0.1 мл плазми або гомогенату до 2 мл 0.03 % розчину перексиду гідрогену. Паралельно готували холосту пробу, в яку замість досліджуваного матеріалу вносили 0.1 мл дистильованої води. Через 10 хв реакцію зупиняли додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі ULAB при 410 нм проти контрольної проби, в яку замість пероксиду гідрогену додавали 2 мл води [81].

Активність каталази виражали в каталазних одиницях і розраховували за формулою:

$$A = (E_k - E_d) / V \times t \times k, \quad (2.1)$$

де А – каталазна активність;

$E_k$  і  $E_d$  – екстинції холостої і дослідної проб;

t – час інкубації (с);

k – коефіцієнт молярної екстинції перексиду гідрогену, який дорівнює  $22,2 \times 10^3 \text{ моль}^{-1} \text{ см}^{-1}$ .

#### *Визначення вмісту церулоплазміну в сироватці крові (ЦП)*

Принцип методу базується на здатності п-фенілендіаміну в присутності церулоплазміну окислюватись з утворенням забарвлених сполук рожевого

кольору. Кількість церулоплазміну пропорційна інтенсивності забарвлення [78].

Дослідженню піддавали сироватку крові. У дві пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В одну з них (контроль) для інактивації ферменту вносили 1 мл 0,5 % розчину солянокислого гідроксиламіну. В обидві пробірки додавали по 8 мл 0,4 М розчину ацетатного буферу (рН=5,5) і по 1 мл п-фенілендіаміну. Пробірки інкубували в термостаті при 37 °С протягом 1 год. Потім у дослідну пробірку додавали 1 мл солянокислого гідразину. Всі проби витримували 30 хв при 4 °С і по закінченні визначали оптичну щільність дослідної проби проти контрольної на спектрофотометрі ULAB при 530 нм. Розрахунок проводили за формулою:

$$C = E \times 87,5, \quad (2.2)$$

де С – вміст церулоплазміну в мг/л сироватки крові;

Е – екстинкція проби.

*Метод визначення окиснювальної модифікації протеїнів (2,4 – динітрофенілгідразонів) (2,4-ДНФГ)*

Принцип методу визначення окиснювальної модифікації протеїнів сироватки крові ґрунтується на здатності радикальних залишків аліфатичних амінокислот утворювати альдегідні й кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру реєструють при 370 нм, основного характеру - при 430 нм. На основі молярного коефіцієнту екстинції ( $2,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) знаходять вміст фенілгідразонів основного та нейтрального характеру [110].

У центрифужні пробірки вносили 0,8 мл 0,85 % розчину NaCl, 0,2 мл сироватки крові (або гомогенату печінки), 1 мл 0,1 М 2,4-динітрофенілгідразину, розчиненого в 2 М соляній кислоті та 1 мл 10 % трихлороцтової кислоти. У контрольні проби замість 2,4-динітрофенілгідразину

додавали 1 мл 2 М соляної кислоти. Проби інкубували 1 год при 37 °С, а далі центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Одержаний осад промивали тричі 5 % трихлороцтовою кислотою (по 5 мл), кожний раз ресуспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду додавали 5 мл 8 М розчину сечовини, витримували 5 хв у кип'ячій водянній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 і 430 нм проти контролю. Паралельно проводили визначення в сироватці крові вмісту білка біуретовим методом.

Кількість 2,4-динітрофенілгідразонів розраховували за формулою:

$$A = 10^3 E / 21 c, \quad (2.3)$$

де А – вміст 2,4-динітрофенілгідразонів в ммоль/г протеїну;

Е – оптична густина проб;

С – вміст білка в 0,2 мл сироватки крові;

21 – коефіцієнт, який відповідає 1 ммоль/г.

#### *Визначення вмісту відновленого глутатіону (ВГ)*

Для визначення вмісту відновленого глутатіону використовували метод [129], принцип якого полягає у взаємодії 5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону з утворенням тіонітрофенильного аніону жовтого кольору, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп.

До 0,2 мл сироватки крові або гомогенату печінки (1:10) додавали 1,6 мл  $H_2O_2$  і 0,2 мл сульфосаліцилової кислоти. Центрифугували 15 хв при 3000 об/хв, потім до 0,5 мл центрифугату додавали 2,5 мл 0,2 М трис-буферу (рН=8,4) і 0,05 мл 0,04 % розчину реактиву Елмана. В контрольну пробу замість досліджуваного матеріалу вносили 0,2 мл води. Через 10 хв проби фотометрували на спектрофотометрі ULAB при 412 нм проти контролю. Концентрацію відновленого глутатіону розраховували, виходячи з коефіцієнта

молярної екстинції для тіонітрофенильного аніону, який дорівнює  $11400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Вміст відновленого глутатіону виражали в ммоль/л або ммоль/кг.

#### *Визначення супероксиддисмутазної активності (СОД)*

Активність СОД визначали за відомим методом [167] у модифікації. В основі методу знаходиться здатність ензиму інгібувати відновлення нітротетразолію синього.

Доводили об'єм до 5 мл фосфатним буфером (рН=8,3). Проводили експозицію 10 хв у темному місці. Оптичну густину визначали при  $\lambda = 540 \text{ нм}$  проти проб, до яких не додавали НАДН2.

Спочатку визначали % гальмування реакції відновлення НТЗС в дослідній пробі за 1 хв (Т%):

$$T\% = 100 \times (\text{Еконт.} - \text{Едосл.}) / \text{Еконт.}, \quad (2.4)$$

де Еконт. – екстинкція контрольної проби;

Едосл. – екстинкція дослідної проби.

Активність СОД визначали за формулою:

$$A_{\text{СОД}} = T\% / (100\% - T\%) \quad (2.5)$$

Виражали в умовних одиницях на 1 мг дослідної тканини.

#### *Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ)*

В основі методу лежить уява про еритроцит як адсорбент, тобто здатність еритроцитарної мембрани поглинати і пропускати забарвлені речовини [5, 65].

В пробірку, що містить 1 мл 3,8 % розчину цитрату натрію, поміщали 4 мл цільної крові. Перемішували і відділяли еритроцити шляхом центрифугування протягом 10 хв при 3000 об/хв. Сироватку видаляли. Переносили 1мл еритроцитарної маси в пробірку, що містить 3 мл метиленової синьки (0,025 %), виготовленої на фізрозчині. Перемішували та інкубували 10-12 хв при кімнатній температурі. Після цього центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Надосадкову рідину відбирали і фотоколориметрували на КФК при 630



нм проти фізіологічного розчину. Кількість поглинутого барвника (у %) вираховували за наступною формулою:

$$A = 100 - \frac{C \cdot 100}{B}, \quad (2.6)$$

де А – кількість поглинутого барвника (в %);

В – оптична щільність вихідного розчину (метиленова синька) в одиницях екстинкції;

С – оптична щільність розчину барвника після інкубації з еритроцитами (в од. екстинкції);

100 – відсоток щільності мембрани в нормі.

#### *Визначення вмісту молекул середньої маси (МСМ)*

Метод полягає у виділенні кислоторозчинної фракції молекул середньої маси з наступною детекцією десятикратно розведеної надосадової рідини при довжинах хвиль 254 та 280 нм [157].

До 0,5 мл сироватки крові додавали 4,5 мл 10 % ТХО. Наступне центрифугування проводили при 3000 об/хв протягом 30 хв. Виділену фракцію в об'ємі 0,5 мл розводили дистильованою водою в співвідношенні 1:10 та визначали оптичну густину при довжині хвилі 254 та 280 нм проти дистильованої води на ULAB. Результати виражали в одиницях, чисельно рівних показникам екстинкції.

#### *Визначення креатиніну у сироватці крові та сечі*

Принцип методу: Пікринова кислота у лужному середовищі утворює з креатиніном продукт жовто- червоного кольору (похідне 2,4,6-три-нітроцнклогексадієну). Інтенсивність забарвлення дослідного розчину прямопропорційна концентрації креатиніну у пробі. У сироватці крові креатинін досліджується після депротейнування розчином трихлороцтової кислоти, у сечі - після розведення. Визначенню креатиніну у сироватці крові

заважають речовини з активною метиленовою групою, кетони та відновники (глюкоза і т.п.) [1, 153, 203, 229].

Перед аналізом розвести сечу в 100 разів. Фотометрувати проти холостої проби при 490-520 нм в діапазоні (0-1) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм. Отриманий результат з визначення креатиніну в сечі помножити на коефіцієнт розведення (50).

Розрахунок концентрації креатиніну у добовій сечі визначають за формулою:

$$C = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{кал}}} \times 5,0(442,5) \quad (2.7)$$

де С – концентрація креатиніну в пробі, мг% (мкмоль/л);

5,0 (442,5) – калібрувальна концентрація креатиніну, мг% (мкмоль/л);

$E_{\text{досл}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{кал}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності;

Кількість креатиніну у добовій сечі визначають за формулою:

$$KK = \frac{C \times A}{B \times 100} \quad (2.8)$$

де КК – кількість креатиніну у добовій сечі, мг;

С – концентрація креатиніну в сечі, мг%;

А – добова кількість сечі, мл;

В – кількість сечі, взятої для аналізу, мл.

#### *Визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ)*

Принцип методу: внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. При взаємодії ПВК з 2,4-динітрофенілгідразином в лужному середовищі утворюються 2,4-динітрофенілгідразони, що мають високий коефіцієнт молярної екстинції, тому оптична щільність їх, яка реєструється на ФЕКу, прямопропорційна активності ензиму [311].

Для визначення активності АлАТ в дві пробірки наливали по 0,4 мл субстратно-буферного реактиву (фосфатний буфер, D, L-аланін та 2-оксоглутарова кислота). Пробірки витримували 3 хв при температурі 37<sup>0</sup>С. В одну з них, яка була холостою пробою, додавали 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину та 0,08 мл сироватки крові. В іншу (дослідна проба) вносили тільки 0,08 мл сироватки крові. Після цього обидві пробірки інкубували 60 хв при температурі = 37<sup>0</sup>С. В дослідну пробу після інкубації вносили 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину. Обидві пробірки витримували 20 хв при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли, додаючи у всі проби 4 мл 0,4 N NaOH. Через 10 хв вимірювали оптичну густина дослідної проби проти холостої при  $\lambda = 490-540$  нм. Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

#### *Визначення активності аспаратамінотрансферази (АсАТ)*

Принцип методу: в результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке проходить під дією аспаратамінотрансферази, утворюються L-глутамінова і щавелево-оцтова кислоти. Остання самовільно декарбоксілюється з утворенням піровиноградної кислоти [311].

Визначення базується на вимірюванні оптичної густини 2,4-нітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинкції, спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної густини реакційного розчину від активності ензиму.

Для визначення активності АсАТ в дві пробірки наливали по 0,4 мл субстратно-буферного реактиву (фосфатний буфер, D, L-аланін та 2-оксоглутарова кислота). Пробірки витримували 3 хв при температурі 37<sup>0</sup>С. В одну з них, яка була холостою пробою, додавали 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину та 0,08 мл сироватки крові. В іншу (дослідна проба) вносили тільки 0,08 мл сироватки крові. Після цього обидві поробірки інкубували 60 хв при температурі 37<sup>0</sup>С. У дослідну пробу після інкубації

вносили 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину. Обидві пробірки витримували 20 хв при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли, додаючи у всі проби 4 мл 0,4N NaOH. Через 10 хв вимірювали оптичну густина дослідної проби проти холостої при  $\lambda = 490-540$  нм. Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

#### *Визначення активності гама-глутамілтранспептидази (ГТТ)*

Принцип методу: Під дією гамма-глутамілтранспептидази глутаміновий залишок гамма-L-(+)-глутаміл-4-нітроаналіда переходить на дипептидний акцептор - гіцилгліцин. При цьому звільняється хромоген-п-нітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють після гальмування ферментативної реакції ацетатною кислотою [148].

У чотири пробірки (дослідна проба, холоста проба, калібрувальна проба та проба порівняння) поміщали по 1 мл субстратного розчину. Інкубували 5 хв при температурі 37 °С. Після цього у дослідну пробу додавали 0,1 мл сироватки крові (гомогенату тканин). Всі проби інкубували 15 хв при 37 °С.

По закінченні інкубування в калібрувальну пробу додавали 0,05 мл калібратора. У всі чотири проби вносили по 6 мл розчину ацетатної кислоти. У холосту пробу додавали 0,1 мл сироватки крові (гомогенату тканин). У калібрувальну пробу додавали 0,05 мл дистильованої води, у пробу порівняння – 0,1 мл. Усі проби витримували 5 хв при кімнатній температурі. Вимірювали оптичну щільність при 430 нм дослідної проби (Е<sub>дос</sub>) проти холостої проби, оптичну щільність калібрувальної проби (Е<sub>кал</sub>) проти проби порівняння.

Розрахунок проводили за формулою:

$$C = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{кал}}} \times 3,0, \quad (2.9)$$

де С – активність гама-глутамілтранспептидази, мкат/л;

3,0 – фактор перерахунку, мкат/л;

Едос – оптична щільність дослідної проби, од.опт.щільності;

Екал – оптична щільність калібрувальної проби, од.опт.щільності.

#### *Визначення активності лужної фосфатази (ЛФ)*

Принцип методу полягає в здатності лужної фосфатази (ЛФ) розщепляти фенілфосфат з утворенням фенолу та фосфату [19, 28].

У пробірки вносили 0,6 мл субстратно-буферного розчину, доводили до 37 °С, потім додавали 0,02 мл сироватки крові чи гомогенату печінки та інкубували 10 хв при температурі 37 °С. Додавали 0,6 мл окиснювального розчину та витримували 5 хв при кімнатній температурі. Колориметрували при довжині хвилі 500 нм у кюветі довжиною 10 мм проти холостої проби. Холосту пробу готували аналогічно дослідним, але сироватку (гомогенат) вносили перед колориметруванням. Розрахунок активності ензиму проводили за допомогою калібрувального графіку, побудованого для фенолу та виражали в нмоль/(с · л) для сироватки крові та нмоль/(с · г) для гомогенату печінки.

#### *Визначення загального протеїну в сироватці крові*

Принцип методу: протеїни реагують з сірчаною міддю в лужному середовищі з утворенням сполук фіолетового забарвлення (біуретова реакція). Інтенсивність забарвлення реакційного розчину прямопропорційна концентрації протеїнів у дослідній сироватці [217].

Вимірюють оптичну щільність при довжині хвилі 540-560 нм калібрувальної або дослідної проби проти холостої проби.

Розрахунок вмісту загального протеїну проводять за формулою:

$$C = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{кал}}} \times 50, \quad (2.10)$$

де С – вміст загального протеїну в дослідній пробі, г/л;

50 – вміст загального протеїну в калібрувальному розчині, г/л;

Е<sub>дос</sub> – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{кал}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності.

#### *Визначення сечовини у біологічних рідинах уреазним методом*

Принцип методу: сечовина піддається уреазному гідролізу з утворенням аміаку і вуглекислого газу. Аміак, що виділився, реагує з гіпохлоритом і саліцилатом з утворенням розчину зеленого кольору [329]. Збільшення оптичної щільності реакційного розчину при (560 - 580) нм пропорційно концентрації сечовини в зразку. Вимірюють оптичну щільність дослідної проби і калібрувальної проби проти холостої проби. Фотометрують при 560 – 580 нм.

Розрахунок вмісту сечовини проводять за формулою:

Для сироватки чи плазми	Сечовина	
	мг/100 мл	ммоль/л
$\frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{кал}}} \times$	60	10
Для сечі	г/л	ммоль/л
$\frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{кал}}} \times$	60	1000

#### *Гістологічні дослідження*

Для гістологічних досліджень брали печінку піддослідних тварин через 4, 7 та 14 доби розвитку гепатиту. Порівняння проводили після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листя та силімарином у відповідні доби.

Зразки органу фіксували в 10 %-му розчині формаліні, дегідратували у спиртах зростаючої концентрації та заливали у целоїдин-парафін за загальноприйнятими методиками. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [27, 145]. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень виконували цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500.

*Методи математичного аналізу*

Результати досліджень піддавали статистичному аналізу [225, 94] за допомогою статистичної програми Statistica 6.0 з використанням параметричного критерію Ст'юдента та непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Зміни вважали вірогідними при  $p \leq 0,05$ .

### РОЗДІЛ 3

## ДОСЛІДЖЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ, ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ, УЛЬЦЕРОГЕННОЇ ДІЇ ГУСТОГО ТА СУХОГО ЕКСТРАКТИВ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ ТА ВСТАНОВЛЕННЯ ЇХ УМОВНО- ТЕРАПЕВТИЧНИХ ДОЗ

У сучасній медичній практиці знайшли широке застосування рослинні гепатопротектори, антиоксиданти та засоби з анаболічною активністю. Нашу увагу привернув шпинат городній, який містить білки, жири, незамінні амінокислоти, вітаміни А, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, С, К, Р, РР, D, Е, Н, мінеральні солі, органічні сполуки феруму, калію, кальцію, фосфору, магнію, натрію, багато йоду, сапоніни, флавоноїди, органічні кислоти (лимонну, серотинову, щавлеву), вуглеводи (глюкозу, фруктозу, сахарозу). Більшість із цих речовин має антиоксидантні властивості і дана рослина ще не знайшла практичного застосування в офіційній медицині.

Дослідженням токсичності та специфічних видів активності, а також встановленню мінімально діючої дози густого та сухого екстрактів з листя шпинату городнього присвячений даний розділ дисертаційної роботи.

### 3.1 Вивчення гострої токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя

При дослідженні нового лікарського засобу обов'язковою характеристикою поряд з вивченням лікувальних властивостей є визначення показника ЛД<sub>50</sub> (середньолетальна доза), що визначається при вивченні гострої токсичності і є її критерієм [72]. Це дозволяє оцінити ступінь токсичності препарату, широту його терапевтичної дії і співвідношення безпечність/небезпечність в умовах застосування препарату в дозах, що у декілька десятків та сотень разів перевищують терапевтичну [57].



Експериментальні дослідження з визначення гострої токсичності густого та сухого екстрактів із листя шпинату городнього проводили на білих щурах обох статей при одноразовому внутрішньошлунковому введенні досліджуваних лікарських форм та обирали значення доз згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [147].

При виборі доз для внутрішньошлункового введення лімітуючим показником у ході визначення ЛД<sub>50</sub> є максимальна доза четвертого класу токсичності (практично нешкідливі речовини) - 5000 мг/кг. Якщо за цих умов при введенні тваринам зазначеної дози не відбувається їх загибель, введення більшої дози є не доцільним.

При визначенні гострої токсичності густого та сухого екстрактів з листя шпинату городнього для проведення досліджень нами була обрана доза – 5000 мг/кг, яку вводили внутрішньошлунково щурам самцям та самицям з масою тіла 180-200±20 г. Розчин готували шляхом розведення 1 г екстракту в 5 мл води, який отримувала одна тварина. Контрольним тваринам вводилась питна вода.

Тварин розділили на 6 груп (по 3 групи кожної статі), кожна з яких включала 6 тварин (табл. 3.1): 1 група – контрольні тварини, яким вводили еквівалентну кількість питної води; 2 група – тварини, які отримували густий екстракт зі шпинату городнього (розчин готували шляхом розведення 1 г екстракту в 5 мл води, який отримувала 1 тварина); - 3 група – тварини, які отримували сухий екстракт зі шпинату городнього (розчин готували шляхом розведення 1 г екстракту в 5 мл води, який отримувала 1 тварина).

Таблиця 3.1 – Рандомізація щурів в експерименті з вивчення гострої токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя (n=36)

Групи тварин	Доза	Кількість щурів	
		самці	самиці
Контрольні тварини (питна вода)	20,0 мг/кг	6	6
ГЕШЛ	5000 мг/кг	6	6
СЕШЛ	5000 мг/кг	6	6

Густий та сухий екстракти зі шпинату городнього в дозі 5000 мг/кг вводили протягом доби, група контролю отримувала питну воду в дозі 20 мл/кг. Проводили спостереження за тваринами, оцінювали їх поведінку, загальний стан, летальність, динаміку маси тіла та внутрішніх органів після введення препаратів протягом 14 днів.

Провівши аналіз отриманих результатів при експериментальному дослідженні гострої токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього встановлено, що ознак інтоксикації в день введення та протягом 14 діб у групі тварин контролю (питна вода) та у групах тварин, які отримували ГЕШЛ та СЕШЛ не виявлено.

Усі 14 діб, упродовж яких за тваринами спостерігали, вони реагували на звукові та світлові подразники, залишалися охайними, активними, процеси дефекації та сечовиділення були в нормі, судом та порушення дихання не спостерігалось, рефлекторна збудливість була збережена. Споживання води та їжі щурами обох дослідних груп знаходилось у нормі.

Не зареєстровано випадків летальності щурів протягом усього періоду спостереження (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Дослідження гострої токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа за одноразового внутрішньошлункового введення щурам обох статей (n=36)

Групи тварин	Доза	Самці	Самиці
		Кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі	Кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі
Контрольні тварини (питна вода)	20,0 мл/кг	0/6	0/6
ГЕШЛ	5000 мг/кг	0/6	0/6
СЕШЛ	5000 мг/кг	0/6	0/6

Згідно з методикою вивчення гострої токсичності [147], проводили дослідження динаміки маси тіла тварин всіх досліджуваних груп (на 3, 7 та 14 доби), для оцінки токсичного впливу потенційних лікарських засобів на організм.

Аналіз приросту маси тіла піддослідних тварин показав, що при застосуванні ГЕШЛ та СЕШЛ у дозі 5000 мг/кг маси тіла не встановлено вірогідних змін зазначеного показника в усіх групах піддослідних тварин. Як видно з результатів досліджень (табл. 3.3), у групі контролю спостерігалось рівномірне збільшення маси тіла щурів-самців у всі терміни експерименту. Вірогідне зростання маси тіла ( $p \leq 0,05$ ) відмічено на 7 та 14 добу дослідження у групах експериментальних щурів відносно вихідних даних.

Таблиця 3.3 – Динаміка маси тіла щурів обох статей за одноразового внутрішньошлункового введення густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа ( $M \pm m$ ;  $n=36$ )

Групи тварин	Вихідні дані	3 дні	7 днів	14 днів
Самці				
Контрольні тварини (питна вода)	182,50±5,60	190,00±4,75	196,50±6,85	200,30±6,80
ГЕШЛ	190,00±3,15	198,3±4,35	207,5±5,50*	212,50±5,30*
СЕШЛ	195,50±4,30	205,00±3,75	215,30±4,15*	225,507±3,50*
Самиці				
Контрольні тварини (питна вода)	196,00±4,33	205,50±4,25	212,70±5,33	219,50±6,15
ГЕШЛ	200,00±3,65	210,80±4,05*	215,50±3,45*	218,3±3,57*
СЕШЛ	185,00±3,20	194,00±3,92	207,00±4,10*	223,50±4,25*

Примітка. \* - відхилення показника вірогідне щодо вихідних даних,  $p \leq 0,05$

При аналізі маси тіла тварин відмічено відсутність токсичного впливу густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього на даний показник. Упродовж усього терміну спостереження відбувалося фізіологічне збільшення маси тіла дослідних тварин, яке було вірогідним відносно вихідних даних у кінці експерименту.

В експериментальних групах протягом всього терміну дослідження спостерігалось збільшення маси тіла тварин обох статей. У самців, яким вводили ГЕШЛ, на 14-й день дослідження маса тіла збільшилась на 22,5 г, у самиць на 18,3 г порівняно з вихідними даними. Маса тіла самців та самиць, які отримували СЕШЛ збільшилась на 30 г та на 38,5 г відповідно, у порівнянні з вихідними даними.

На 14-ту добу спостережень щури були виведені з експерименту шляхом евтаназії (під тіопенталовим наркозом), після чого провели розтин тіла, макроскопічний огляд внутрішніх органів та визначена їх маса.

Усі тварини на час розтину мали незмінені слизові оболонки природних отворів та охайний шерстний покрив. Серозні покриття в черевній порожнині були незмінені. Всі органи в грудній порожнині розташовані анатомічно правильно. Поверхня органів гладенька, розміри, форма та колір – звичайні. Встановлено, що вони не відрізнялись від тварин контрольної групи за розміром, формою і забарвленням.

Огляд внутрішніх органів усіх експериментальних тварин показав, що поверхня печінки, нирок і наднирникових залоз гладка, форма, колір та розмір органів звичайні. Слизова оболонка шлунка має виражений рельєф і типову анатомічну структуру. Слизова оболонка кишечника незмінена. Вміст кишечника відповідає його відділам. Підшлункова залоза сірувато – рожевого кольору. Селезінка пружна, повнокровна. У грудній порожнині всі органи розташовані анатомічно правильно, типові за формою, розмірами і забарвленням. М'яз серця на розрізі трохи волокнистий, однорідний, темно – червоний. Легені повітряні, листки плеври незмінені (табл. 3.4).

Дослідження масових коефіцієнтів органів в умовах дослідження гострої токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя у щурів-самиць наведені у табл. 3.5.

Таблиця 3.4 – Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів-самців (г) за одноразового внутрішньошлункового введення густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя ( $M \pm m$ ;  $n=18$ )

Орган	Печінка	Серце	Легені	Нирки	Селезінка
Групи тварин					
Контрольні тварини (питна вода)	3,22±0,12	0,35±0,015	0,56±0,021	0,64±0,030	0,40±0,019
ГЕШЛ	3,27±0,14	0,37±0,016	0,58±0,025	0,62±0,028	0,42±0,022
СЕШЛ	3,67±0,13	0,39±0,02	0,65±0,02	0,60±0,03	0,38±0,03

Таблиця 3.5 – Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів-самиць (г) за одноразового внутрішньошлункового введення густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя ( $M \pm m$ ;  $n=18$ )

Орган	Печінка	Серце	Легені	Нирки	Селезінка
Групи тварин					
Контрольні тварини (питна вода)	3,18±0,15	0,32±0,018	0,60±0,022	0,65±0,045	0,38±0,017
ГЕШЛ	3,23±0,16	0,33±0,016	0,62±0,025	0,65±0,038	0,40±0,022
СЕШЛ	3,52±0,12	0,37±0,02	0,68±0,02	0,65±0,03	0,42±0,03

Провівши аналіз наведених у таблицях 3.4 та 3.5 масових коефіцієнтів внутрішніх органів щурів обох статей і результатів макроскопічного огляду після одноразового внутрішньошлункового введення густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя та у групі контрольних тварин, можна стверджувати про відсутність патологічних змін у функціональному стані дослідних тварин у порівнянні з щурами контрольної групи.

Отже, результати проведених досліджень з вивчення гострої токсичності дозволили встановити, що при внутрішньошлунковому введенні щурам самцям та самицям густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя у дозі 5000

мг/кг маси тіла відсутня токсична дія. Про це свідчить незмінена поведінка тварин, відсутність змін у масових коефіцієнтах внутрішніх органів у порівнянні з групою контролю та відсутність загибелі у дослідних групах тварин.

Проведеними дослідженнями з вивчення гострої токсичності густого та сухого екстрактів з листя шпинату городнього встановлена відсутність його токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам-самцям та щурам-самицям у дозі 5000 мг/кг, що вказує на те, що середня летальна доза ЛД<sub>50</sub> знаходиться за межами введеної тваринам дози – 5000 мг/кг. Це дає змогу віднести ГЕШЛ та СЕШЛ до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин, що відповідає токсикологічній класифікації речовин за К. К. Сидоровим [139].

### 3.2 Підбір умовно-терапевтичної дози густого екстракту зі шпинату городнього листя на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів

Наступним етапом перед проведенням подальших фармакологічних досліджень було встановлення мінімально діючої дози густого екстракту зі шпинату городнього листя. Дані дослідження проводили на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів. Попередньо експериментальними даними встановлено ЛД<sub>50</sub> для густого екстракту зі шпинату городнього листя (ГЕШЛ), яка знаходиться за межами 5000 мг/кг маси тіла.

Виходячи з цього, для дослідження коригуючого впливу ГЕШЛ, обрали дози 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг маси тіла тварин (4 групи). Додатково, одна група була обрана для проведення контролю (інтактні тварини, які отримували фізіологічний розчин), друга – тварини, уражені тетрахлорметаном (без корекції). Розвиток процесів ліпопероксидації в уражених тварин та стан ензимної ланки антиоксидантного захисту у сироватці крові та печінці вивчали на 4-у добу від останнього введення тетрахлорметану, так як у літературі є дані, що свідчать про найбільший розвиток метаболічних

порушень саме у цей період [40]. Тетрахлорметан вводили дворазово (через день) у вигляді 50 % олійного розчину в дозі 1,0 мл/кг маси тіла. Тварин піддавали евтаназії з використанням тіопенталу натрію.

Для досліджень обрали сироватку крові та печінку щурів. Вивчали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП), церулоплазміну (ЦП), каталазну активність (КТ), еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІ) та активність амінотрансфераз (АлАТ і АсАТ) у сироватці крові, у печінці вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП), каталазну активність (КТ) та активність амінотрансфераз (АлАТ і АсАТ).

В організмі тварин після введення  $CCl_4$  зафіксовано пригнічення активності антиоксидантної системи захисту та активацію процесів ПОЛ, про що свідчить вірогідне зниження каталазної активності та підвищення вмісту ТБК-АП у сироватці крові (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Вплив різних доз ГЕШЛ на біохімічні показники у сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, 4-та доба ( $M \pm m$ ;  $n=36$ )

Показники	Група тварин					
	Інтактний контроль	Уражені $CCl_4$	Уражені+ 50 мг/кг екстракту	Уражені+ 100 мг/кг екстракту	Уражені+ 150 мг/кг екстракту	Уражені+ 200 мг/кг екстракту
ТБК-АП, мкмоль/л	1,15± 0,07	2,34± 0,11*	2,14± 0,10	1,98± 0,10	1,41± 0,08**	1,28± 0,10**
Каталаза, мккат/л	0,401± 0,019	0,205± 0,010*	0,207± 0,010	0,231± 0,010	0,325± 0,012**	0,367± 0,012**
ЦП, г/л	23,33± 2,16	43,75± 2,26*	43,75± 1,60	35,73± 2,09	25,52± 2,09**	21,87± 1,60**
ЕІ, %	32,71± 1,69	77,50± 3,54*	77,08± 2,03	70,21± 2,17	60,62± 2,13**	48,96± 1,53**
АлАТ, мкмоль/л год	0,97± 0,07	2,09± 0,08*	2,05± 0,07	1,98± 0,06	1,22± 0,11**	1,19± 0,11**
АсАТ, мкмоль/л год	0,99± 0,08	1,37± 0,09*	1,28± 0,06	1,12± 0,07	1,04± 0,07**	1,01± 0,06**

Примітка. Тут і в наступних таблицях розділу\* - вірогідні зміни між інтактними щурами та ураженими тетрахлорметаном; \*\* - вірогідні зміни між ураженими щурами та лікованими густим екстрактом зі шпинату городнього листя.

Аналогічні зміни відмічено і в печінці токсикованих тетрахлорметаном щурів (табл. 3.7).

У даний термін дослідження (4 доба) вміст ТБК-АП у сироватці крові уражених  $CCl_4$  щурів підвищився в 2 рази, у печінці в 1,6 раза. У гомогенаті печінки вміст ТБК-АП виявився дещо нижчим від його рівня у сироватці крові. Отримані результати є підтвердженням активації вільнорадикальних процесів, зокрема ліпопероксидації, що мають місце за тетрахлорметанового ураження даного органу.

Після застосування ГЕШЛ у дозах 50 та 100 мг/кг маси тіла тварин спостерігалась тенденція до пригнічення процесів ПОЛ в обидвох досліджуваних тканинах.

Таблиця 3.7 – Вплив різних доз густого екстракту зі шпинату городнього листя на біохімічні показники у печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, 4-та доба ( $M \pm m$ ;  $n=36$ )

Показники	Група тварин					
	Інтактний контроль	Уражені тетрахлорметаном	Уражені+ 50 мг/кг екстракту	Уражені+ 100 мг/кг екстракту	Уражені+ 150 мг/кг екстракту	Уражені+ 200 мг/кг екстракту
ТБК-АП, мкмоль/кг	11,11± 0,32	17,95± 0,68*	16,13± 0,51	15,81± 0,56	13,25± 0,71**	11,54± 0,37**
Каталаза, мккат/кг	0,263± 0,012	0,158± 0,007*	0,178± 0,008	0,197± 0,009**	0,217± 0,004**	0,242± 0,006**
АлАТ, мкмоль/кг год	1,27± 0,10	0,50± 0,04*	0,58± 0,05	0,63± 0,05	0,98± 0,06**	1,05± 0,08**
АсАТ, мкмоль/кг год	2,80± 0,17	1,80± 0,18*	1,89± 0,11	2,07± 0,13	2,53± 0,09**	2,73± 0,08**

Встановлено, що дози 150 та 200 мг/кг викликали вірогідне зниження ( $p \leq 0,05$ ) вмісту продуктів ліпопероксидації як у сироватці крові, так і в печінці тварин, уражених тетрахлорметаном (рис. 3.1).



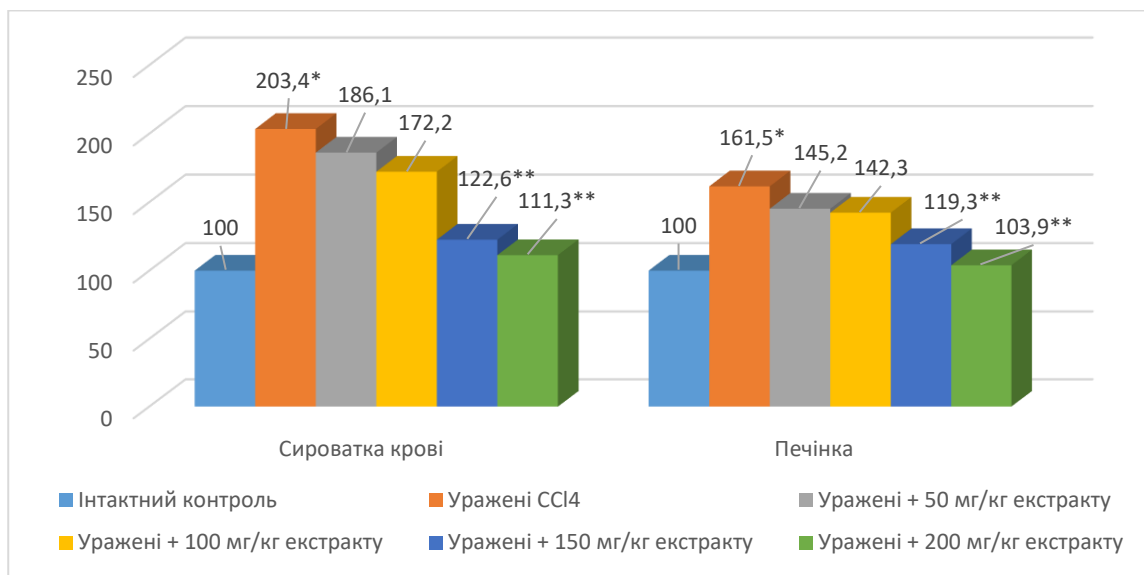


Рисунок 3.1 – Вміст ТБК-АП у сироватці крові та печінці тварин, уражених тетрахлорметаном, після застосування коригуючих доз густого екстракту зі шпинату городнього листя, %

Примітка. Тут і в наступних рисунках розділу \* - вірогідні зміни між інтактними щурами та ураженими тетрахлорметаном; \*\* - вірогідні зміни між ураженими щурами та лікованими густим екстрактом зі шпинату городнього листя.

Поряд з активацією окиснювальних процесів, зокрема ліпопероксидації, відмічено зміни в ензимній ланці антиоксидантної системи. Ми дослідили у щурів після ураження токсикантом вміст ЦП – протеїну з ензиматичною активністю, який бере участь у знешкодженні АФО на початку зародження вільнорадикального ланцюга.

Дослідження вмісту ЦП показало його вірогідне підвищення у сироватці крові (в 1,9 раза) після ураження токсикантом, що свідчить про активне включення протеїну в процес знешкодження вільних радикалів (рис. 3.2).

Доза екстракту 50 мг/кг не проявила позитивного впливу на вміст ЦП. Після застосування дози 100 мг/кг спостерігалась тенденція до зниження даного показника. До вірогідного зниження ( $p \leq 0,05$ ) вмісту протеїну призвело використання ГЕШЛ у дозах 150 та 200 мг/кг маси тіла тварин. Вміст ЦП після застосування вищевказаних доз знизився на 78,1 % та 93,8 % відповідно.

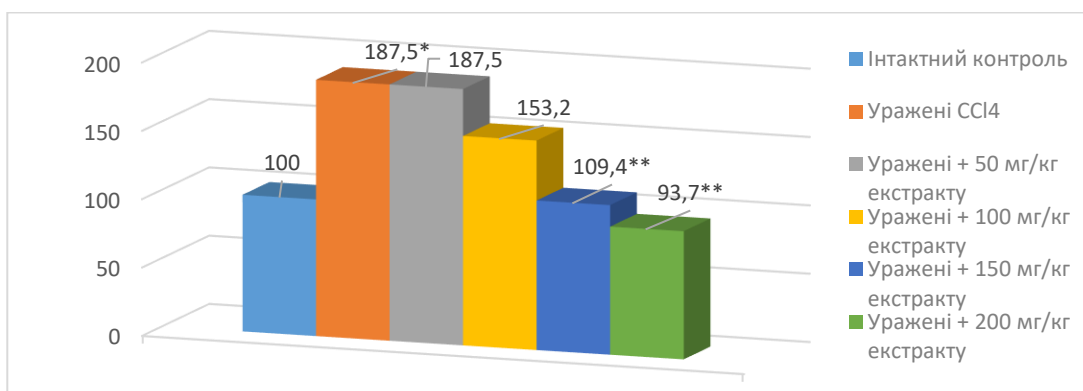


Рисунок 3.2 – Вміст церулоплазміну у сироватці крові тварин, уражених тетрахлорметаном, після застосування коригуючих доз густого екстракту зі шпинату городнього листя, %

Наступним етапом дослідження було вивчити каталазну активність у сироватці крові та печінці щурів після ураження тетрахлорметаном та вплив на даний показник ГЕШЛ.

Відомо, що даний ензим бере участь у знешкодженні токсичного для організму гідроген пероксиду на термінальних стадіях вільнорадикального ланцюга [133].

Ураження щурів тетрахлорметаном призвело до зниження активності каталази у сироватці крові в 2 рази, у печінці – в 1,7 раза (рис. 3.3).

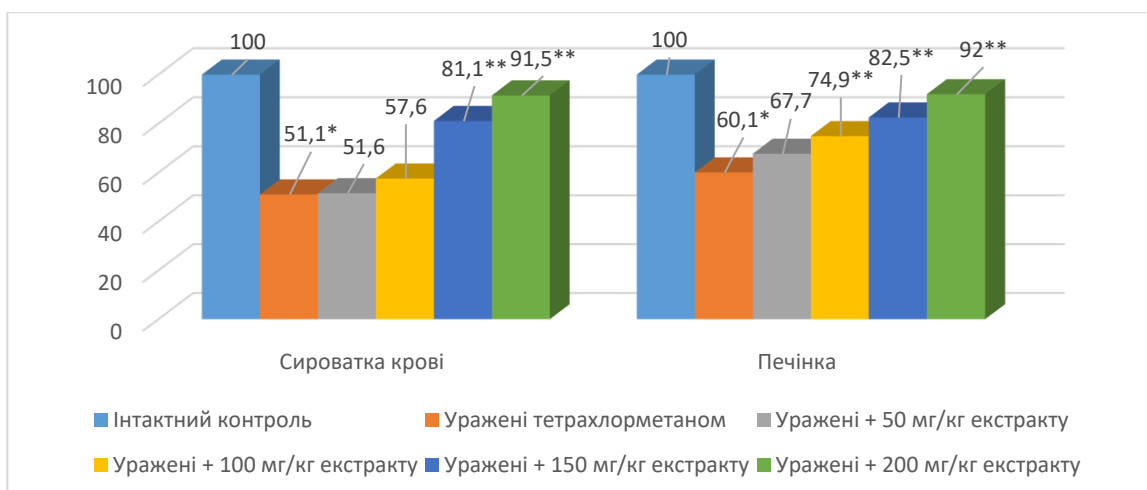


Рисунок 3.3 – Каталазна активність у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя, %

Вірогідне підвищення зниженої після ураження тетрахлорметаном каталазної активності у сироватці крові та печінці дослідних тварин свідчить про позитивний вплив ГЕШЛ на показники ензимної ланки антиоксидантної системи організму.

Введення в уражений організм ГЕШЛ виявилось ефективним для доз 150 та 200 мг/кг маси тіла, після чого активність ензиму вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) зростала. У печінці на даний показник ефективний вплив проявили дози екстракту 100, 150 та 200 мг/кг (каталазна активність зросла в 1,25, 1,4 та 1,5 раза відповідно).

Отже, застосований нами екстракт зі шпинату городнього листа пригнічує активність процесів ліпопероксидації в організмі щурів за умов токсичного гепатиту та призводить до відновлення показників ензиматичної ланки антиоксидантної системи.

При вивченні функціонального стану печінки в умовах ураження щурів тетрахлорметаном ми діагностували цитолітичний синдром за показниками активності АлАТ та АсАТ. Підвищення активності в сироватці крові таких ензимів свідчить про порушення цілісності гепатоцитів і є індикатором гострих уражень печінки [330].

В уражених тетрахлорметаном щурів (через 4 доби з початку розвитку токсичного гепатиту) активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові підвищились на 115 % та 38 % відповідно (рис. 3.4).

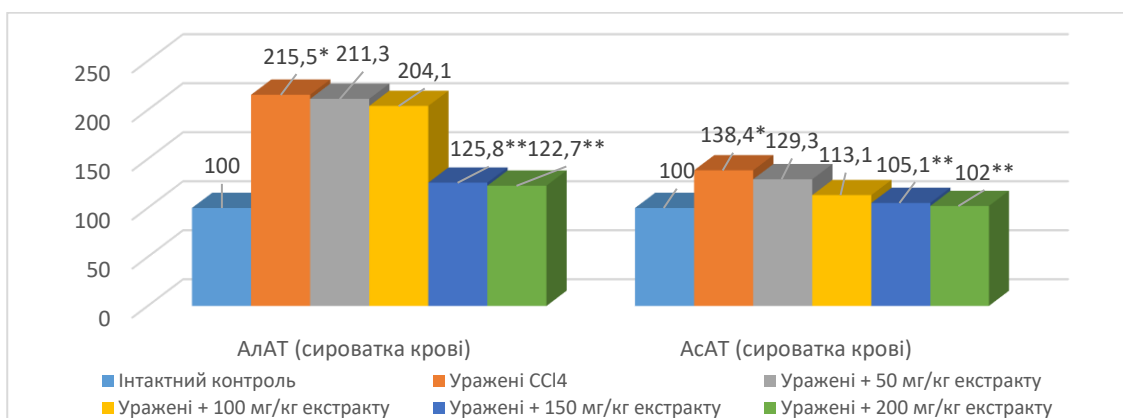


Рисунок 3.4 – Активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрасферази у сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа, %

Введення токсикованим тваринам екстракту в дозах 150 та 200 мг/кг маси тіла викликало вірогідне зниження ( $p \leq 0,05$ ) активностей АлАТ та АсАТ у сироватці крові. Дози 50 та 100 мг/кг маси тіла виявились неефективними щодо активності ензимів. При їх застосуванні спостерігалась тенденція до відновлення активності даних показників, але вірогідних змін відмічено не було.

У цей самий термін (розвиток тетрахлорметанового гепатиту на 4-ту добу) активності АлАТ та АсАТ у печінці знизались на 61 % та 36 % відповідно. Ефективний вплив на дані показники проявив густий екстракт у дозах 150 та 200 мг/кг. Дози 50 та 100 мг/кг маси тіла також виявились неефективними щодо активності ензимів.

Доцільним було дослідити відсоток проникності еритроцитарних мембран у щурів за умов ураження їх токсичними дозами тетрахлорметану та вплив на даний показник ГЕШЛ. На 4-у добу після останнього введення тетрахлорметану в крові вірогідно зростав ЕІІ (рис. 3.5) і становив 77,5 % проти 32,7 % у контрольних тварин.

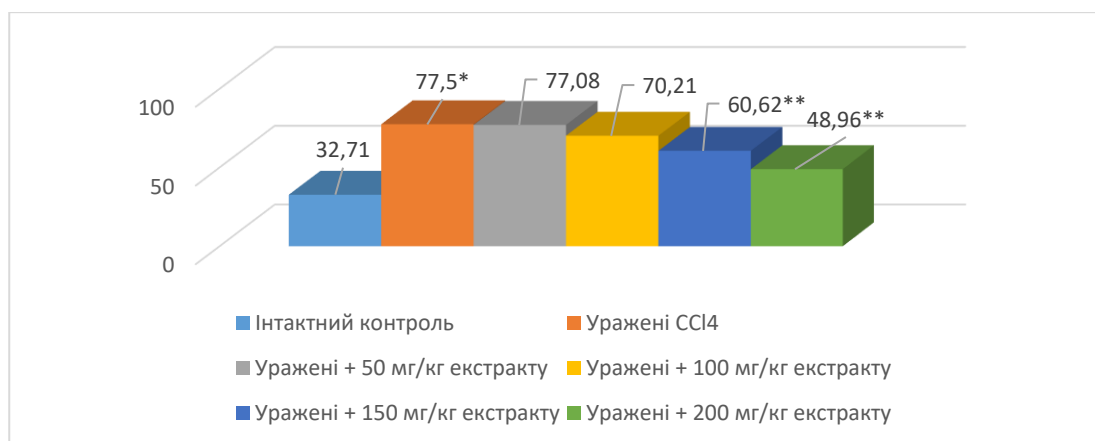


Рисунок 3.5 – Еритроцитарний індекс інтоксикації в крові щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування різних доз густого екстракту зі шпинату городнього листа, %

Збільшення відсотку еритроцитарного індексу інтоксикації свідчить про підвищення проникності еритроцитарної мембрани для різних речовин. Ефективними щодо даного показника виявились дози екстракту 150 та 200

мг/кг, після застосування яких відсоток проникності плазматичної мембрани еритроцитів знизився на 17 % та 28 % відповідно.

Отримані результати підтверджують мембранопротекторний вплив використаного нами екстракту, що призводить до нормалізації активності органоспецифічних ензимів печінки, а також відновлення проникності еритроцитарної мембрани. Останнє підтверджується зменшенням відсотку еритроцитарного індексу інтоксикації.

Таким чином, проведені дослідження показали, що мінімально діючою дозою за умов тетрахлорметанового гепатиту є доза густого екстракту з листя шпинату городнього 150 мг/кг маси тіла щурів. У цій дозі екстракт проявляє виражені антиоксидантні та гепатопротекторні властивості, що підтверджується відновленням проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів. На це вказує зниження активності процесів ліпопероксидації (зменшення вмісту ТБК-активних продуктів) та відновлення активності таких антиоксидантних ензимів як каталаза та церулоплазмін. Визначення активності амінотрансфераз може бути діагностичним критерієм для оцінки ступеня ураження печінки в умовах токсичного гепатиту.

Отримані результати дозволяють рекомендувати дозу 150 мг/кг густого екстракту з листя шпинату городнього для подальших фармакологічних досліджень.

### 3.3 Підбір умовно-терапевтичної дози сухого екстракту зі шпинату городнього листя на моделі харчової депривації щурів

Відомо, що практично кожне відхилення у функціональному стані організму спричиняє різноманітні зміни в метаболізмі протеїнів. Порушення механізмів біосинтезу протеїнів і різних рівнів регуляції активного метаболізму може бути пусковим фактором у генезі багатьох патологічних процесів і захворювань, а також супровідних симптомів і синдромів [173].

Окрім того, стресові ситуації для організму, зокрема гострі (інфаркт міокарду, гепатит В) та хронічні (аутоімунні, ниркова недостатність, цироз

печінки) захворювання внутрішніх органів і систем різноманітної етіології призводять до гіпопротеїнемії, і як наслідок – функціональних та органічних порушень [305].

З метою відновлення протеїнового балансу під час таких станів необхідно по-перше – адекватне надходження до організму ззовні амінокислот та інших біологічно активних речовин та амінокислот-коректорів протеїнового обміну, а по-друге – використання лікарських засобів, здатних стимулювати синтез протеїнів, тобто чинити анаболічну дію [58].

Метою наступного етапу роботи було визначення умовно-терапевтичної дози сухого екстракту зі шпинату городнього листя. Дослідження проводили на моделі харчової депривації, яка є однією із патологічних моделей при дослідженні анаболічної активності [221] та при якій спостерігаються порушення метаболічних процесів: пригнічення анаболізму та генералізоване підвищення катаболізму протеїнів [181].

Для проведення дослідження обрали 30 білих щурів-самців масою тіла 180-200 г. Тварини протягом 2 діб знаходилися в умовах абсолютного харчового голодування при достатньому доступі води. Попередньо експериментальними даними встановлено  $LD_{50}$  для сухого екстракту зі шпинату городнього листя (СЕШЛ), яка знаходиться за межами 5000 мг/кг маси тіла. Виходячи з цього, тварини на тлі голодування, отримували сухий екстракт зі шпинату городнього листя в дозах 50 мг/кг, 100 мг/кг та 150 мг/кг маси тіла.

Для визначення ефективної дози сухого екстракту зі шпинату городнього листя експериментальних тварин розподілили на 5 груп: 1-ша група – тварини контрольної групи (забір крові, сечі та органів робили до початку експерименту); 2-а група – тварини, які протягом 2 діб були на голоді з вільним доступом до води; 3-я група – щури, які на тлі голодування отримували СЕШЛ в дозі 50 мг/кг маси тіла та вільний доступ до води; 4-а група – щури, які на тлі голодування отримували СЕШЛ в дозі 100 мг/кг маси тіла та вільний доступ до води; 5-а група – щури, які на тлі голодування отримували СЕШЛ в дозі 150 мг/кг маси тіла та вільний доступ до води.

Через 2 доби від початку голодування тварин піддавали етаназії під тіопенталовим наркозом. На дослідження брали сироватку крові, печінку та м'язи щурів усіх дослідних груп. Активність окиснювальних процесів та стан антиоксидантної системи оцінювали за вмістом ТБК-АП та КТ у сироватці крові, м'язах та печінці щурів. Окрім того, у сироватці крові визначали вміст загального протеїну та сечовини, у гомогенаті печінки та м'язах – вміст протеїну.

В експериментальних тварин усіх груп перед початком дослідження і через 2 дні голодування визначали масу тіла та добовий спонтанний діурез. Аналіз цих даних свідчить про те, що дефіцит маси тварин в умовах повного голодування протягом 2-ох днів становив (12,2) г, отже, голодування призводить до генералізованого катаболізму. При цьому, очевидно, зниження загальної маси тіла здійснюється, в першу чергу, за рахунок жирової тканини та розпаду протеїнів скелетної мускулатури [173]. Також, у тварин, що знаходились на повному голоді добовий діурез через 2 дні знизився в 1,5 раза. (табл. 3.8).

Таблиця 3.8 – Динаміка маси тіла та добовий діурез у щурів, які отримували сухий екстракт зі шпинату листя на тлі дводенного голодування ( $M \pm m$ ;  $n=30$ )

Групи тварин	Маса тіла, г	Добовий діурез, мл
Контрольна група (до голодування)	190,6±4,2	4,2±0,2
Тварини, які голодували 2 дні	178,4±4,1	2,8±0,2*
Тварини, які голодували 2 дні+СЕСЛ у дозі 50 мг/кг	180,0±3,3	3,0±0,2
Тварини, які голодували 2 дні+СЕСЛ у дозі 100 мг/кг	186,7±4,2	3,8±0,1**
Тварини, які голодували 2 дні+СЕСЛ у дозі 150 мг/кг	188,8±2,1	4,0±0,2**

Примітка: Тут і в наступних таблицях розділу \*- вірогідні зміни між тваринами контрольними та тими, які знаходилися на голодуванні; \*\* - вірогідні зміни між тваринами, що голодували та тваринами, які отримували на тлі голодування СЕСЛ

Експериментально встановлено, що в умовах голоду в групах тварин, які отримували СЕШЛ відбувалося збільшення загальної маси тіла по відношенню до групи тварин, які його не отримували. Досліджуваний нами екстракт призвів до більш вираженого збільшення маси тіла тварин в дозах 100 та 150 мг/кг маси тіла.

В умовах харчової депривації СЕШЛ сприяє збереженню діуретичної функції, про що свідчить збільшення добового діурезу у щурів після застосування його в дозах 100 та 150 мг/кг. Після застосування СЕШЛ у дозі 100 мг/кг даний показник підвищився в 1,36 раза, а після застосування екстракту в дозі 150 мг/кг – в 1,43 раза.

Результати, одержані при визначенні загального протеїну в сироватці крові, м'язах та печінці свідчать, що дослідний екстракт стимулює анаболічні процеси (табл. 3.9).

Таблиця 3.9 – Вміст загального протеїну в сироватці крові (г/л), печінці та м'язах (г/кг) щурів, які отримували сухий екстракт зі шпинату листя на тлі дводенного голодування ( $M \pm m$ ;  $n=30$ )

Групи тварин	Сироватка крові	Печінка	М'язи
Контрольна група (до голодування)	58,75±2,03	23,88±0,67	24,31±0,28
Тварини, які голодували 2 дні	51,28±1,40*	19,65±0,55*	18,90±0,26*
Тварини, які голодували 2 дні+СЕШЛ у дозі 50 мг/кг	51,86±0,71	19,70±0,40	19,50±0,24
Тварини, які голодували 2 дні+СЕШЛ у дозі 100 мг/кг	56,32±0,45**	22,88±0,55**	22,24±0,23**
Тварини, які голодували 2 дні+СЕШЛ у дозі 150 мг/кг	57,05±0,37**	24,13±0,40**	22,50±0,38**

Після 2-денного голодування у сироватці крові щурів вміст загального протеїну знизився на 13 %, у печінці на 18 % та у м'язах – на 22 %. Застосування СЕШЛ сприяло відновленню вмісту протеїну у всіх досліджуваних тканинах, проте доза 50 мг/кг маси тіла виявилась неефективною щодо даного показника.



Екстракт у дозах 100 та 150 мг/кг призвів до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) підвищення вмісту загального протеїну в сироватці крові, печінці та м'язах дослідних щурів (рис. 3.6). Найбільш вираженим це підвищення було у печінці тварин.

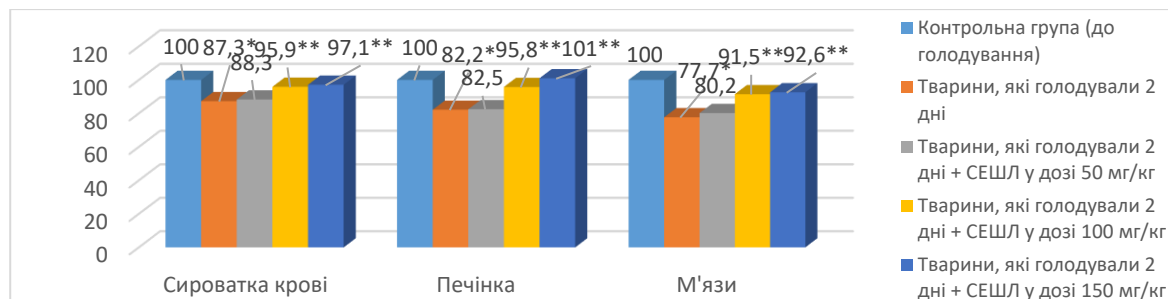


Рисунок 3.6 – Вміст загального протеїну в сироватці крові, печінці та м'язах щурів, які отримували сухий екстракт зі шпинату листя на тлі дводенного голодування, %

Примітка. Тут і в наступних рисунках розділу \* - вірогідні зміни між інтактними щурами та ураженими тетрахлорметаном; \*\* - вірогідні зміни між ураженими щурами та лікованими СЕШЛ

Наприкінці експерименту (2-га доба) у тварин контрольної групи було зафіксовано вірогідне збільшення ( $p \leq 0,05$ ) вмісту сечовини у сироватці крові та сечі, що свідчить про підвищення протеїнової дисиміляції в період харчової депривації. Вміст сечовини у сироватці крові щурів збільшився в 1,6 раза, в сечі – в 2 рази (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Вміст сечовини в сироватці крові та сечі (ммоль/л) щурів, які отримували сухий екстракт зі шпинату листя на тлі дводенного голодування ( $M \pm m$ ;  $n=30$ )

Групи тварин	Сироватка крові	Сеча
Контрольна група (до голодування)	6,47±0,17	340,5±9,2
Тварини, які голодували 2 дні	10,30±0,28*	670,2±9,8*
Тварини, які голодували 2 дні+СЕШЛ у дозі 50 мг/кг	9,87±0,17	635,4±12,1
Тварини, які голодували 2 дні+СЕШЛ у дозі 100 мг/кг	8,47±0,23**	540,8±12,6**
Тварини, які голодували 2 дні+СЕШЛ у дозі 150 мг/кг	7,30±0,15**	462,5±14,4**

Під впливом СЕШЛ у сечі та сироватці крові дослідних тварин спостерігається зниження рівня сечовини порівняно з тваринами, які голодували. У щурів, які отримували екстракт в дозах 100 та 150 мг/кг даний показник вірогідно відрізнявся від такого у щурів, які його не отримували. Так, доза екстракту 100 мг/кг маси тіла призвела до зниження вмісту сечовини у сироватці крові на 28 %, доза 150 мг/кг – на 46 % ( $p \leq 0,05$ ). У сечі спостерігалось аналогічне зниження вмісту сечовини у щурів, які отримували вищевказані дози екстракту. Дослідний екстракт в дозі 50 мг/кг маси тіла не вплинув на вміст сечовини як у сироватці, так і в сечі тварин, що його отримували і перебували на голоді (рис. 3.7).

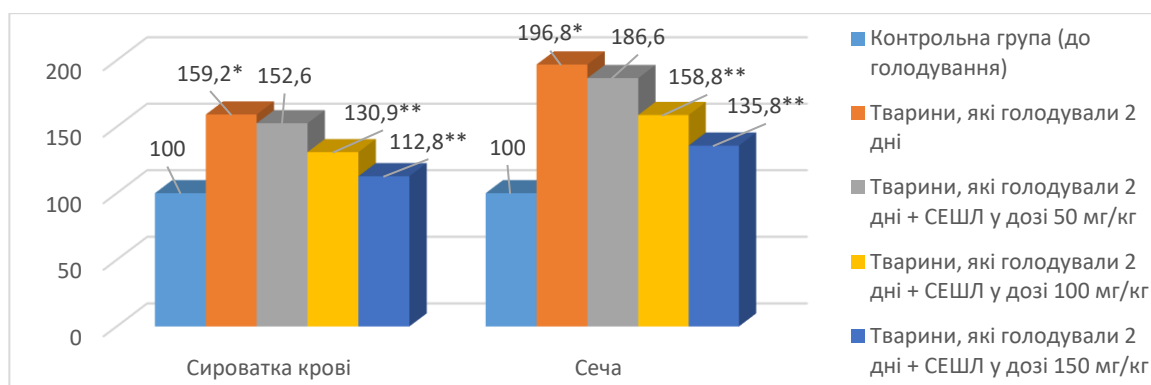


Рисунок 3.7 – Вміст сечовини в сироватці крові та сечі щурів, які отримували сухий екстракт шпинату листя на тлі дводенного голодування, %

Враховуючи те, що зміни у харчовому статусі потребують відносно швидкої адаптації метаболізму, важливим є дослідження регуляторних механізмів у тварин. При цьому печінка відіграє основну роль у регуляції прооксидантно-антиоксидантного балансу. У літературі є лише окремі дані щодо розвитку оксидативного дисбалансу за умов повного харчового голодування при достатньому доступі до води [23].

Виходячи з цього, ми дослідили активність вільнорадикальних процесів, а зокрема ліпопероксидації, та стан ензимної ланки антиоксидантної системи в організмі щурів за умов експериментального голодування та вплив на них СЕШЛ.

Одним із проміжних продуктів ліпопероксидації є ТБК-АП, підвищення яких в організмі супроводжується розвитком оксидативного стресу. Ми визначили даний показник у сироватці крові, печінці та м'язах дослідних тварин.

Проведені дослідження показали, що у всіх досліджуваних тканинах щурів вміст ТБК-АП вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищувався після 2-денного голодування (у сироватці крові на 28 %, у печінці на 74 %, у м'язах на 32 %). Отримані результати вказують на те, що найбільша активація окиснювальних процесів за голодування відбувається у печінці. На нашу думку, це може бути зумовлено розвитком стресорної реакції.

Стрес є відображенням усіх адаптаційних реакцій організму, що виникають у відповідь на певний подразник (у нашому дослідженні це харчова депривація), та направлений на реалізацію пристосувальних механізмів. При цьому стресорна реакція проявляється зростанням рівня катехоламінів, які активують ПОЛ. З іншого боку, зменшення доставки кисню до органів шлунково-кишкового тракту, в тому числі й до печінки, зумовлює розвиток гіпоксії, при якій теж відбувається активація ПОЛ [171] (табл. 3.11).

Таблиця 3.11 – Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові (мкмоль/л), печінці та м'язах (мкмоль/кг) щурів, які отримували сухий екстракт зі шпинату листя на тлі дводенного голодування ( $M \pm m$ ;  $n=30$ )

Групи тварин	Сироватка крові	Печінка	М'язи
Контрольна група (до голодування)	1,29±0,03	19,00±0,65	18,20±0,30
Тварини, які голодували 2 дні	1,65±0,03*	33,08±1,23*	24,03±0,60*
Тварини, які голодували 2 дні+СЕСЛ у дозі 50 мг/кг	1,62±0,01	30,83±0,97	23,23±0,55
Тварини, які голодували 2 дні+СЕСЛ у дозі 100 мг/кг	1,37±0,02**	27,25±0,58**	20,90±0,38**
Тварини, які голодували 2 дні+СЕСЛ у дозі 150 мг/кг	1,32±0,01**	23,60±0,80**	19,51±0,50**

Доцільним було визначити вміст продуктів ліпопероксидації у щурів, які на тлі голодування отримували СЕСЛ. Ми відмітили, що екстракт у дозах

100 мг/кг та 150 мг/кг маси тіла призвів до пригнічення активності окиснювальних процесів, на що вказує вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту ТБК-АП у сироватці крові, печінці та м'язах дослідних тварин. Застосування екстракту в дозі 50 мг/кг маси тіла не проявило ефективного впливу на даний показник.

Активація ПОЛ на фоні харчової депривації може зумовлювати зміну активності ензимної ланки системи антиоксидантного захисту, що було наступним етапом нашого дослідження.

Одним із могутніх антиоксидантних ензимів, який бере участь у знешкодженні токсичного для організму гідрогену пероксиду є каталаза. Даний ензим включається у реакції знешкодження АФО на термінальних етапах цього процесу [133].

Голодування щурів протягом 2-ох днів призвело до підвищення каталазної активності у сироватці крові на 11 %, у печінці на 17 % і найвищим даний показник виявився у м'язах тварин (на 24 % перевищував рівень норми). Очевидно, підвищення активності даного ензиму є захисною реакцією організму на пригнічення активованих окиснювальних процесів при голодуванні (рис. 3.8).

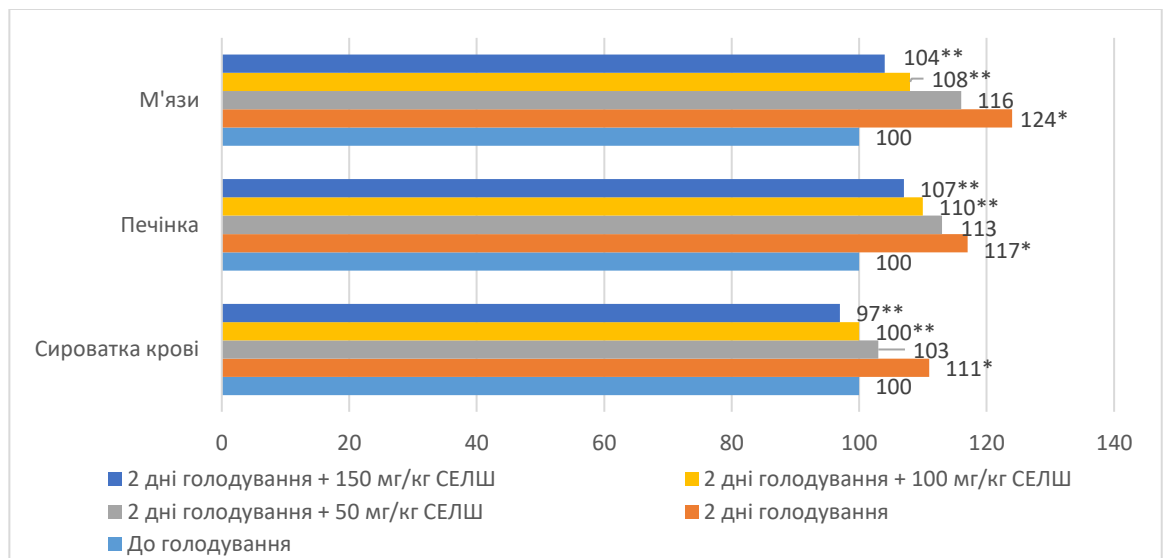


Рисунок 3.8 – Каталазна активність у сироватці крові, печінці та м'язах щурів, які отримували сухий екстракт зі шпинату листя на тлі дводенного голодування, %

Такі зміни в активності ензиму антиоксидантного захисту можуть сприяти адаптації та виживанню клітин у несприятливих умовах протягом перших двох діб, що сприятливо впливатиме на функціональний стан печінки завдяки збереженню киснево-транспортної функції крові, зменшенню ступеню мікроциркуляторних порушень та рівня тканинної гіпоксії.

Після застосування всіх доз СЕШЛ у досліджуваних тканинах у щурів спостерігалась тенденція до зниження даного показника, але вірогідних змін отримано не було. На нашу думку, це пов'язано з невеликим терміном дослідження (2 доби).

Таким чином встановлено, що екстракт у дозі 100 мг/кг проявляє позитивний вплив на масу тіла тварин, а також відновлює добовий діурез в умовах харчової депривації. У цій же дозі екстракт призводить до підвищення вмісту протеїну в сироватці крові, печінці та м'язах тварин, а також пригнічує активність окиснювальних процесів в організмі та відновлює активність ензимної ланки антиоксидантної системи. Результати досліджень дозволяють визначити дозу екстракту 100 мг/кг як мінімально діючу дозу, що проявляє анаболічну та антиоксидантну дію, та запропонувати подальше дослідження фармакологічної активності екстракту в цій дозі.

#### 3.4 Дослідження ульцерогенної дії густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя

При дослідженні фармакологічної активності нових біологічно активних сполук важливим є оцінка безпечності їх застосування з боку шлунково-кишкового тракту. Більшість лікарських препаратів, що застосовуються перорально, сприяють негативному впливу на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Можуть спостерігатися побічні ефекти зі сторони ШКТ – подразнення слизової оболонки, нудота, відчуття здуття живота, втрата апетиту, закреп або діарея, порушення травлення. Деякі лікарські засоби можуть стимулювати виділення соляної кислоти, затримувати вироблення

слизу або гальмувати процеси природного оновлення слизової оболонки шлунку, що створює передумови до утворення виразок [135].

Протекторна роль слизової оболонки шлунку (СОШ) зумовлена існуванням низки захисних чинників з відповідними механізмами дії, які можуть бути передепітеліальними, епітеліальними та постепітеліальними [210, 271]. Ушкодження ліками слизової оболонки шлунку є варіантом симптоматичних виразок верхніх відділів ШКТ і складає 20-23 % від числа всіх вторинних ерозивно-виразкових ушкоджень ШКТ. Згідно даних деяких авторів, лікування ацетилсаліциловою кислотою провокує шлунково-кишкові кровотечі у 50 % випадків, індометацином – у 30 %, диклофенаком – у 26 %, глюкокортикостероїдами – у 14 % [135].

Тому, доцільним було дослідити вплив густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя на СОШ при внутрішньошлунковому введенні.

Дослідження впливу густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя на стан СОШ проводили за методом Н. І. Андрєєвої і С. Д. Шарової [4].

На третю годину, після введення густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя в дозах 150 мг/кг та 100 мг/кг відповідно, тварин піддавали евтаназії з використанням тіопенталу натрію з наступним макроскопічним оглядом слизової оболонки шлунку (табл. 3.12).

Таблиця 3.12 – Вплив густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя на стан слизової оболонки шлунку щурів (n=18)

Групи тварин	Кількість тварин в групі	Локальна гіперемія
Інтакний контроль	6	0,12±0,02
ГЕШЛ	6	0,16±0,01
СЕШЛ	6	0,15±0,01

Дані, які були отримані після проведених досліджень показують, що ГЕШЛ та СЕШЛ у дозах 150 мг/кг та 100 мг/кг відповідно, не чинять подразнюючого та ульцерогенного впливів на слизову оболонку шлунку. На це

вказує відсутність змін між СОШ щурів інтактного контролю та тих, які отримували обидва екстракти у мінімально діючих дозах. При макроскопічному дослідженні шлунку пошкоджень слизової оболонки шлунково-кишкового тракту та симптомів, що передують деструкції – ін'єкції судин, згладженості складок та набряку не виявлено.

Отже, доведено, що густий та сухий екстракти зі шпинату городнього листя не проявляють ульцерогенних властивостей.

### 3.5. Дослідження протизапальної активності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя

Відомо, що природні антиоксиданти різної хімічної будови мають протизапальні властивості, як при зовнішньому, так і при внутрішньому застосуванні. Окрім того, препарати рослинного походження містять речовини, які беруть участь в обмінних процесах людини, що дозволяє застосовувати їх при хронічних захворюваннях, які супроводжуються запаленням, протягом тривалого часу. Тому в світі зберігається підвищена зацікавленість у пошуку нових протизапальних засобів, можливо, з нетрадиційним механізмом дії і, безумовно, з мінімальними побічними ефектами. Перспективними у цьому відношенні є субстанції рослинного походження з протизапальними властивостями [127].

Однією з груп лікарських препаратів, які найчастіше використовують у терапії запальних захворювань, є нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) [233]. Але відомо, що попри клінічну ефективність використання НПЗЗ має певні обмеження, які можна пояснити серйозними побічними ефектами та ускладненнями, пов'язаними з механізмом їх дії [231].

Запальний процес є розповсюдженим симптомом багатьох захворювань людини, в розвитку якого, важлива роль належить міграції лейкоцитів у мікроциркуляторному руслі тканин. Такі медіатори запалення, як інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин, фактор активації тромбоцитів, цитокіни, лейкотрієн

В4 та простагландини відіграють основну роль в реалізації запального процесу [316].

Ізоферменти циклооксигенази (ЦОГ), які відповідають за утворення таких медіаторів запалення, як простагландини, діляться на два типи – ЦОГ-1 та ЦОГ-2. В нормі, ізофермент ЦОГ-1 контролює утворення простагландинів (ПГ) із захисною функцією, яка реалізовує посилення перфузії нирок, регуляцію утворення тромбоцитів та гастропротекцію. Ізофермент ЦОГ-2 стимулює утворення ПГ безпосередньо в осередку запалення, які провокують запальний процес, підвищення температури, біль, та утворюється переважно в зоні запалення, коли індукується утворення ЦОГ-2 з ЦОГ-1 [287].

В основі механізму дії більшості НПЗЗ лежить властивість інгібувати синтез в організмі простагландинів шляхом блокади ензимів ЦОГ обох типів: ЦОГ<sub>1</sub> і ЦОГ<sub>2</sub> [124]. У результаті цього блокуються реакції арахідонового каскаду та порушується синтез простагландинів, тромбоксану А<sub>2</sub>, простацикліну, лейкотрієнів, пригнічується агрегація тромбоцитів [312]. Крім того, деякі НПЗЗ здатні інгібувати утворення вільних радикалів, результатом чого є їх антиокиснювальна, антиоксидантна та мембраностабілізуюча дія [200]. На жаль, позитивний вплив НПЗЗ супроводжується великою кількістю побічних ефектів (ульцерогенна дія, бронхоспастичні реакції, пригнічення тканинного метаболізму тощо), що суттєво обмежує можливість їх застосування [124].

Дослідження потенційних протизапальних засобів проводяться з урахуванням патогенезу запальних захворювань (ексудація, альтерація) [147]. Тому, при доклінічному вивченні фармакологічних ефектів потенційних протизапальних засобів, одним із інформативних критеріїв їх активності є дослідження протинабрякових властивостей на різних моделях ексудації [323]. Відомо, що за розвиток ексудації відповідають біологічно активні похідні арахідонової кислоти.

Альтерація є першою фазою запального процесу, яка запускає весь каскад запалення, зумовлюючи деструктивні зміни в ураженій тканині [109]. Саме



тому пригнічення запалення на стадії його ініціації є важливою складовою успіху протизапальної терапії.

Вивчення протизапальної активності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа проводили на ексудативній фазі гострого асептичного запалення, індукцію якого проводили шляхом субплантарної ін'єкції 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [197].

В експерименті використовували безпородних білих щурів-самців вагою 180-200 г. Досліджувані зразки ГЕШЛ та СЕШЛ вводили дослідним щурам внутрішньошлунково у профілактичному режимі одноразово за 1 год до індукції запалення у дозі 150 мг/кг та 100 мг/кг маси тварини відповідно. Контрольні тварини отримували питну воду.

Як препарат порівняння використовували диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг, який є еталонним протизапальним засобом та механізми впливу якого, на усі фази запального процесу, є добре вивченими. Він блокує обидва ізоферменти циклооксигенази (ЦОГ), особливо ЦОГ – 2. Також відомо, що окрім блокування простагландинів, диклофенак може порушувати міграцію лейкоцитів у вогнище запалення [124].

Дослідні тварини були розподілені на 4 групи: 1-а – контрольні тварини (із запаленням); 2-а – тварини, які до введення карагеніну отримували густий екстракт зі шпинату городнього листа в дозі 150 мг/кг маси тіла; 3-я – тварини, які до введення карагеніну отримували сухий екстракт зі шпинату городнього листа в дозі 100 мг/кг маси тіла; 4-а – тварини, які до введення флоготропного агента отримували диклофенак натрію.

Вираженість запального процесу оцінювали за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який вимірювали до введення флогогену та через 1, 3, 6 та 24 години після введення флоготропного агента за допомогою механічного онкометра. Це дозволяє зробити припущення про характер та вираженість впливу досліджуваних засобів на утворення простагландинів. Ступінь пригнічення набряку під дією препаратів визначали у порівнянні з нелікованими тваринами згідно з методичними рекомендаціями ФК МОЗ України [147].

Вплив екстрактів оцінювали за здатністю пригнічувати набряк лапи щурів. Протизапальну ефективність розраховували за формулою:

$$\% \text{ пригнічення запалення} = (V_k - V_0) / V_k \cdot 100, \quad (3.1)$$

де  $V_k$  – середнє збільшення об'єму набряклої лапи в контролі;

$V_0$  – середнє збільшення об'єму набряклої лапи у лікованих тварин.

Дослідження, які проведені з вивчення протизапальної активності ГЕШЛ та СЕШЛ показали, що у контрольній групі тварин, яким вводили тільки розчин карагеніну, максимальний об'єм набряку лапи (в 2,3 раза більший у порівнянні з початковим розміром) був зареєстрований на третю годину після введення флогогену (табл. 3.13).

Таблиця 3.13 – Протизапальна активність густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа ( $M \pm m$ ;  $n=24$ )

Групи тварин		Динаміка розвитку запалення, години				
		До введення флогогену	1 год	3 год	6 год	24 год
Контрольні тварини	$\Delta V$	3,70± 0,06	6,07± 0,22*	8,50± 0,20*	7,83± 0,19*	7,13± 0,32*
	Активність, %		2,30	18,80	30,70	30,90
Густий екстракт, 150 мг/кг	$\Delta V$	3,85±0,08	5,93± 0,22*	6,90± 0,20*#	5,43± 0,13*#	4,93± 0,12*#
	Активність, %		4,50	21,80	29,10	29,50
Сухий екстракт, 100 мг/кг	$\Delta V$	3,75±0,05	5,80± 0,35*	6,65± 0,40*#	5,55± 0,25*#	5,03± 0,30*#
	Активність, %		12,70	38,00	36,10	37,90
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	$\Delta V$	3,70±0,08	5,30± 0,16*#	5,27± 0,14*#	5,00± 0,09*#	4,43± 0,14*#
	Активність, %		12,70	38,00	36,10	37,90

Примітка:  $\Delta V$  – величина набряку; \* - відхилення показника вірогідно по відношенню до контрольної групи,  $p < 0,05$ ; # - відхилення показника тварин з корекцією по відношенню до показника щурів з карагеніновим набряком (не лікованих).

На максимальному піку запалення (3 год) у щурів, які отримували ГЕШЛ та СЕШЛ, набряк зменшився в 1,2 та 1,3 раза відповідно. У групі тварин, які отримували препарат порівняння диклофенак натрію об'єм лапи зменшився у цей термін у 1,6 раза. Протизапальна активність густого екстракту у цей термін становила 18,8 %, сухого – 21,80 %, препарату порівняння – 38 %.

На 6-у та 24 год дослідження ефективність застосування обох екстрактів була максимальною і відмічалась майже на одному і тому ж рівні. Для густого екстракту цей показник склав 30,70 – 30,90 %, для сухого екстракту – 29,10-29,50%.

Через 6 годин після застосування ГЕШЛ та СЕШЛ набряк зменшився, але величина лапи тварин ще перевищувала початковий розмір у середньому в 1,4 та 1,5 раза відповідно. До кінця експерименту (24 год) набряк ще більше зменшився, але перевищував початковий об'єм лапи в 1,3 раза після застосування як густого, так і сухого екстракту.

У тварин, які отримували диклофенак натрію, починаючи з 3-ї години дослідження до кінця експерименту протизапальна активність трималась на рівні 36 – 38 % (рис. 3.9).

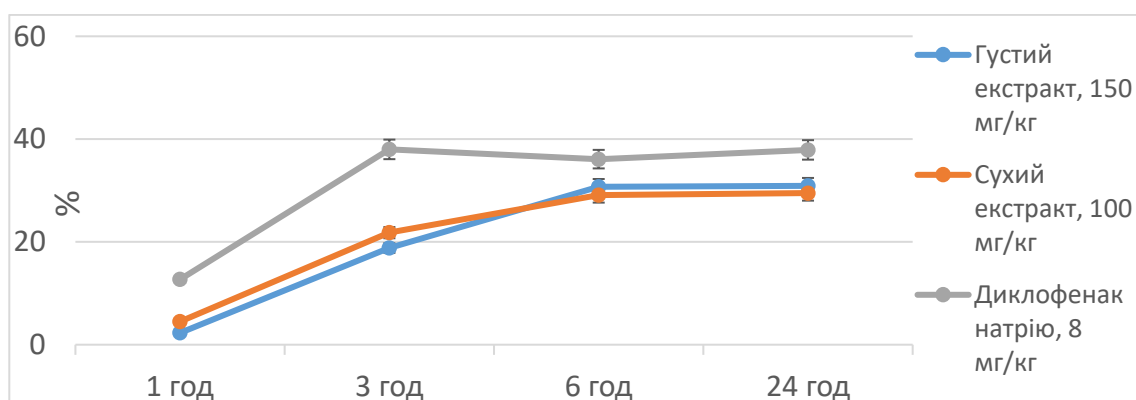


Рисунок 3.9 – Порівняльна характеристика протизапальної активності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя та диклофенаку натрію в динаміці карагенінового набряку лапи щурів (%)

З літератури відомо, що диклофенак натрію може інгібувати активність простагландинів, перешкоджати міграції лейкоцитів у вогнище запалення [341].

Встановлено, що в патогенезі розвитку запального процесу на моделі карагенінового набряку в перші 30-90 хв беруть участь гістамін і серотонін, в інтервалі 1,5-2,5 год – кініни, 2,5-5,5 год – простагландини [50]. Після застосування обидвох екстрактів та диклофенаку натрію набряк лапи щурів спадав, але ще не досяг вихідного рівня. У два кінцеві терміни (6-а та 24 год) екстракти дещо поступались референс-препарату, але все-таки проявляли антиексудативну активність, зменшуючи розмір набряку лапи щурів.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про помірну протизапальну активність густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа, які найбільш активно пригнічують розвиток набряку лапи щурів на 6 та 24 години. Досліджувані екстракти за наявності значної кількості біологічно активних речовин, ймовірно, інгібують процеси утворення прозапальних цитокінів.

Отже, можна допустити, що протизапальна активність густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа здійснюється за рахунок впливу даних екстрактів на такі медіатори запалення, як простагландини, шляхом блокування циклооксигенази.

Результати досліджень, наведені у даному розділі дозволили зробити наступні висновки:

1. При визначенні безпечності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листа встановлено ЛД<sub>50</sub> для обох лікарських форм за межами 5000 мг/кг. Сухий та густий екстракт зі шпинату городнього листа при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини.

2. На моделі тетрахлорметанового ураження печінки встановлена мінімально діюча доза густого екстракту зі шпинату городнього листа на рівні 150 мг/кг. Введення густого екстракту за токсичного гепатиту проявило коригувальний вплив на процеси ліпопероксидації, показники ензимної ланки

антиоксидантної системи та проникність плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів в організмі тварин.

3. Встановлена мінімально діюча доза сухого екстракту зі шпинату городнього листя за харчової депривації у щурів, яка виявилась на рівні 100 мг/кг маси тіла. Дана доза проявила позитивний вплив на масу тіла тварин, добовий діурез і вміст загального протеїну в печінці, серці та м'язах за 2-денного голодування. Під впливом сухого екстракту зі шпинату листя нормалізувався вміст сечовини у сироватці крові та сечі щурів після голодування. Даний лікарський засіб проявив антиоксидантні властивості, що призвело до зниження вмісту продуктів ліпопероксидації в органах щурів (у сироватці крові в 1,2 раза щодо тварин, які голодували, у печінці – в 1,5 раза, у м'язах – в 1,15 раза).

4. Густих екстракт зі шпинату городнього листя в дозі 150 мг/кг та сухий екстракт в дозі 100 мг/кг не виявляють ульцерогенної дії.

5. На моделі карагенінового набряку лапи щурів доведена помірна протизапальна активність густого та сухого екстракту зі шпинату городнього листя, які найбільш активно пригнічують розвиток набряку лапи щурів на 6 та 24 годині розвитку запалення. Протизапальна активність густого екстракту була на рівні 30,90 %, сухого – 29,50 % проти 37,90 % у диклофенаку натрію.

Результати, що наведені у розділі, опубліковано у наукових працях автора [2, 3, 4, 6, 9, 12, 13 додатку А].

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ТА АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ НА МОДЕЛІ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

Вивчення гепатопротекторних та антиоксидантних властивостей густого екстракту зі шпинату городнього листа проводили на моделі ураження печінки щурів тетрахлорметаном, який вводили дворазово (через день) у вигляді 50% олійного розчину в дозі 1,0 мл/кг маси тіла тварин.

Дослідні тварини були розділені на чотири групи: 1-а – інтактний контроль (К); 2-га – щури, уражені тетрахлорметаном (CCl<sub>4</sub>); 3-тя – уражені тетрахлорметаном щури після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа (ГЕШЛ); 4-та – уражені тетрахлорметаном щури після застосування силімарину. ГЕШЛ вводили у попередньо встановленій мінімально діючій дозі 150 мг/кг маси тіла. Препаратом порівняння було обрано еталонний гепатопротектор рослинного походження силімарин під торговою маркою «Карсил» виробництва фірми «Sopharma» (Болгарія), який щури отримували у вигляді 1% крохмальної суспензії у дозі 100 мг/кг маси тіла.

Евтаназію щурів проводили під тіопенталовим наркозом на 4-ту, 7-у та 10-у доби експерименту. Для досліджень використовували сироватку крові та печінку дослідних щурів.

#### 4.1 Активність окиснювальних процесів у щурів з тетрахлорметановим ураженням печінки та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа

Відомо, що зростання вмісту прооксидантів, в тому числі АФО, призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення і, як наслідок, посилення пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), окисної модифікації протеїнів (ОМП), деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє

токсичний вплив на клітини як безпосередньо, так і через деградацію гідропероксидів до високотоксичних гідроксильних радикалів [237].

Вивчення вмісту ТБК-АП, які є проміжними продуктами ліпопероксидації, дало змогу оцінити інтенсивність процесів ПОЛ в організмі тварин, уражених тетрахлорметаном.

Після введення в організм щурів  $CCl_4$  у сироватці крові та печінці відмічено прогресуюче підвищення вмісту ТБК-АП протягом усього експерименту. У сироватці крові уражених щурів вміст ТБК-АП на 4-ту, 7-му та 10-ту доби збільшився в 1,6, 1,8 та 1,9 раза відповідно. У гомогенаті печінки даний показник в аналогічні терміни дослідження підвищився в 1,9, 2,2 та 2,3 раза відповідно, що є підтвердженням гепатотропності даної отрути (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя ( $M \pm m$ ;  $n=60$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові, мкмоль/л		
Контроль	1,60±0,08		
Уражені $CCl_4$	2,50±0,08*	2,89±0,14*	3,00±0,06*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	2,25±0,006	2,08±0,07**	1,92±0,08**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	2,15±0,09**	2,01±0,06**	1,79±0,06**
	Печінка, мкмоль/кг		
Контроль	22,11±0,84		
Уражені $CCl_4$	41,66±1,36*	48,82±1,03*	50,10±1,54*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	37,17±1,08	28,09±1,40**	27,13±0,71**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	30,23±0,75**	24,25±1,01**	22,96±0,75**

Примітка: Тут і в наступних таблицях розділу \* - вірогідні зміни між показниками контрольних та уражених тетрахлорметаном тварин ( $p \leq 0,05$ ); \*\* - вірогідні зміни між показниками уражених тетрахлорметаном тварин та лікованих тварини ( $p \leq 0,05$ ); n – кількість тварин у групі.

Застосування дослідного екстракту та силімарину призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту ТБК-АП у всі терміни дослідження як у сироватці крові (рис. 4.1), так і в печінці щурів.

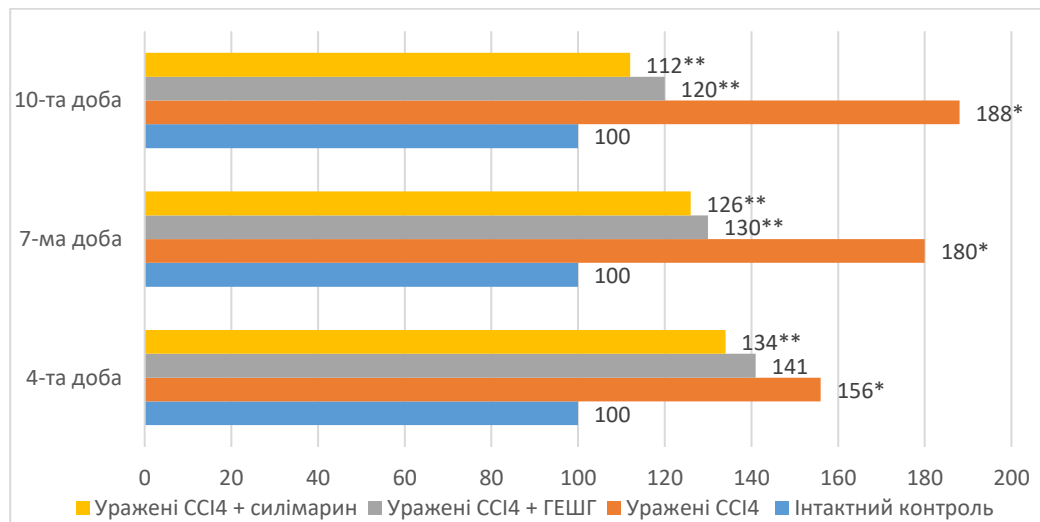


Рисунок 4.1 – Вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, та після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листя та силімарином, %

Примітка: Тут і в наступних рисунках розділу \* - вірогідні зміни між показниками контрольних та уражених тетрахлорметаном тварин ( $p \leq 0,05$ ); \*\* - вірогідні зміни між показниками уражених тетрахлорметаном тварин та лікованих тварин ( $p \leq 0,05$ )

Досліджуваний нами ГЕШЛ проявив ефективний вплив на даний показник у сироватці крові відносно рівня уражених щурів на 7-у та 10-ту доби експерименту, вірогідно знижуючи його на 50 % та 68 % відповідно. Наприкінці дослідження в сироватці крові вміст ТБК-АП практично досяг рівня тварин інтактного контролю, перевищуючи його лише на 12 %.

Препарат порівняння силімарин знизив рівень досліджуваного показника у сироватці крові (відносно рівня уражених щурів) на 22 %, 54 % та 76 % на 4-ту, 7-му та 10-ту доби відповідно. У всі терміни зміни були вірогідними ( $p \leq 0,05$ ).

Аналогічні результати щодо даного показника спостерігаються і в печінці уражених тварин після застосування ГЕШЛ та силімарину (рис. 4.2).



Вміст ТБК-АП у печінці уражених тварин, у порівнянні з тваринами контрольної групи, був максимальним на 10-ту добу дослідження і становив 227 %. Найбільш ефективний вплив ГЕШЛ на вміст продуктів ліпопероксидації у печінці, відносно рівня уражених тварин, відмічено на 7-му (знизився на 94 %) та 10-ту доби – (знизився на 104 %). Препарат порівняння знизив рівень досліджуваного показника на 51 % на 4-ту, 110 % на 7-му та 123 % на 10-ту доби дослідження.

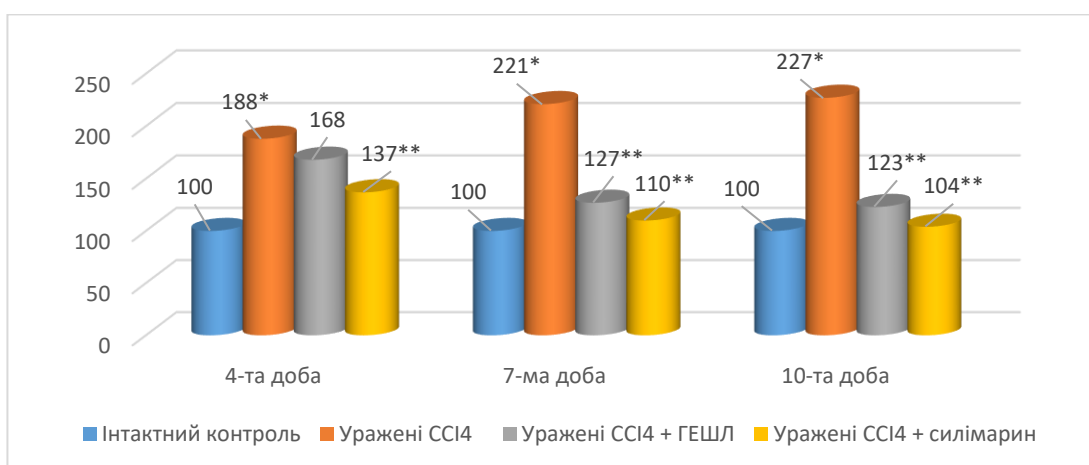


Рисунок 4.2 – Вміст ТБК-АП у печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листа та силімарином, %

Отже, при дослідженні процесів ліпопероксидації ми відмітили позитивний вплив обох коригуючих чинників на вміст ТБК-АП у дослідних тканинах із незначною перевагою після застосування силімарину.

При надмірній генерації АФО пошкоджуються не тільки ліпідні молекули, а й протеїнові, що призводить до посилення їх денатурації, а також утворення амінокислотних радикалів, які далі вступають у вторинну взаємодію зі сусідніми амінокислотними залишками. Усі ці процеси призводять до втрати протеїнами їхньої біологічної активності та порушення рівноваги про- й антиоксидантної системи [133].

Відомо, що окислювальна модифікація протеїнів (ОМП) займає провідну роль в деструкції клітинної мембрани, тому що призводить до незворотного

ушкодження мембранних структур, порушення їх проникності та загибелі клітин [291]. На думку багатьох дослідників, кисневозалежне окиснення протеїнів є раннім індикатором пошкодження органів і тканин [99, 106].

Нами визначено вміст продуктів окиснювальної модифікації протеїнів (2,4-динітрофенілгідразонів) як основного, так і нейтрального характеру в сироватці крові та печінці щурів, уражених  $CCl_4$ , та після застосування коригуючих чинників.

Після потрапляння до організму щурів тетрахлорметану, у сироватці крові вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) збільшувався вміст 2,4- ДНФГ(370нм) нейтрального характеру, який у всі терміни дослідження знаходився на одному рівні і тільки наприкінці експерименту був дещо вищим від попередніх показників (перевищував рівень контролю на 95 %). У печінці щурів після ураження токсикантом вміст 2,4- ДНФГ(370нм) нейтрального характеру прогресуюче зростає і досягає у останній термін дослідження 144 % щодо норми. Отримані дані вказують на ініціацію процесів вільнорадикального окиснення внаслідок надходження в організм тетрахлорметану (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів (370 нм) у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього ( $M \pm m$ ;  $n=60$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові, мкмоль/г протеїну		
Інтактний контроль	0,44±0,03		
Уражені $CCl_4$	0,82±0,02*	0,83±0,02*	0,86±0,02*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	0,74±0,02	0,70±0,02**	0,67±0,02**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	0,73±0,02	0,65±0,01**	0,58±0,01**
	Печінка, мкмоль/г протеїну		
Інтактний контроль	0,59±0,01		
Уражені $CCl_4$	0,75±0,02*	0,80±0,02*	0,85±0,007*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	0,71±0,01	0,75±0,03	0,69±0,01**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	0,66±0,01**	0,69±0,02**	0,62±0,01**

Застосування ГЕШЛ призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження даного показника у сироватці крові та печінці щурів в останні терміни дослідження. На 10-ту добу це зниження склало 43 % у сироватці крові та 27 % у печінці. Більш ефективним виявився силімарин, після застосування якого даний показник знижувався у всі терміни дослідження.

Дослідження вмісту 2,4-ДНФГ(430нм) основного характеру показало аналогічне їх збільшення в сироватці крові щурів із тетрахлорметановим ураженням печінки (рис. 4.3). У печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, вміст 2,4-ДНФГ(430нм) прогресуюче збільшувався, досягши максимуму на 10 добу дослідження.

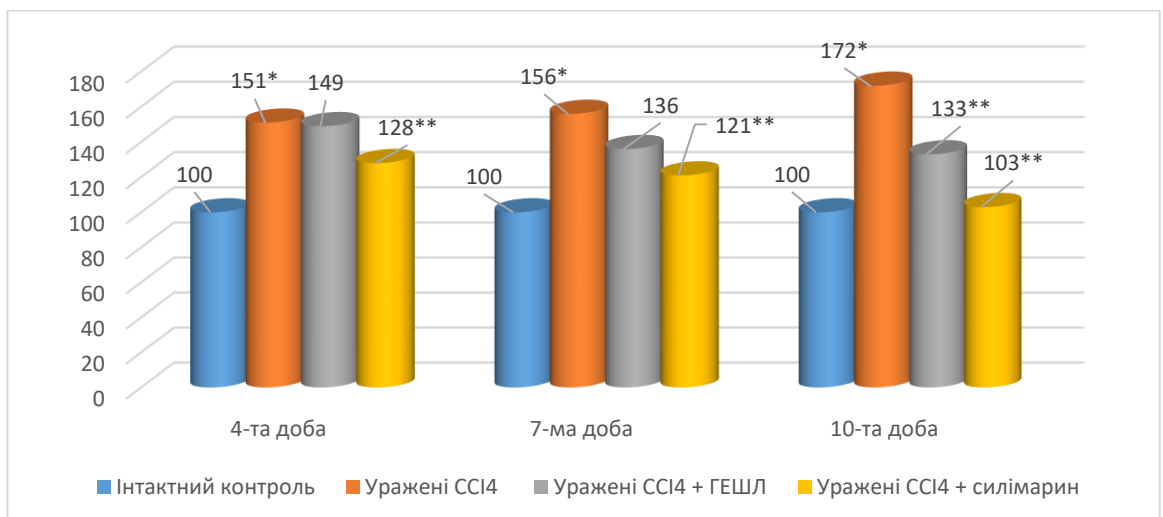


Рисунок 4.3 – Вміст 2,4-ДНФГ(430нм) основного характеру в сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, та після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листя та силімарином, %

Застосовані коригувальні чинники призвели до зниження вмісту продуктів ОМП (430нм) у сироватці крові, причому найбільше ефективність їх застосування проявилась наприкінці експерименту. На 10-ту добу даний показник знизився на 39 % після введення в організм токсикованих тварин дослідного екстракту та на 69 % після корекції силімарином.

У печінці найбільш ефективний вплив ГЕШЛ на вміст продуктів ОМП (430нм) відмічено на 10-ту добу дослідження. У цей термін ефективність

застосування екстракту зі шпинату та силімарину виявилась майже на одному рівні щодо даного показника.

Таким чином, відмічено, що після ураження печінки щурів тетрахлорметаном відбувається активація окиснювальних процесів в організмі, зокрема ліпопероксидації, що проявляється збільшенням у досліджуваних тканинах проміжних ТБК-АП та активація процесів модифікації протеїнових молекул, які призвели до нагромадження у сироватці крові та органах тварин альдегідо- та кето- похідних цих сполук.

Отримані результати експериментальних досліджень показали, що досліджуваний густий екстракт зі шпинату городнього листя проявив ефективний вплив на процеси ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, очевидно за рахунок вмісту біологічно активних речовин, що містяться у даній рослині.

#### 4.2 Стан антиоксидантної системи щурів, уражених тетрахлорметаном, та після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листя

У розвитку патологій печінки провідна роль належить процесам ПОЛ, що супроводжуються надмірним утворенням вільних радикалів і АФО. Одним із основних субстратів для вільнорадикальних реакцій є ліпіди, в результаті окиснення яких утворюються продукти пероксидації – ДК та МДА. Ці речовини проявляють цитотоксичну та мутагенну дію, спричиняючи окиснення мембранних фосfolіпідів [49].

Відомо, що інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів в організмі залежить від концентрації кисню у тканинах, а також діяльності ензимних і неензимних систем захисту [118, 280]. Накопичення вільних радикалів та АФО є потенційною передумовою розвитку оксидативного стресу, який відіграє провідну роль у розвитку патологій різного генезу [118].

На противагу вільнорадикальним процесам в організмі існує антиоксидантна система (АОС), представлена, в першу чергу, системою антиоксидантних ензимів: супероксиддисмутазою, яка зв'язує АФО з утворенням гідрогену перексиду; каталазою, яка деструктує перекиси в ліпідні гідропероксидази; глутатіонпероксидазою, що редукує ліпідні гідропероксидази за рахунок окислення глутатіона; глутатіонредуктазою, яка відновлює глутатіон шляхом окислення НАДФН, останній відновлюється через цитохромний ланцюг і систему природних антиоксидантів (АО) – альфа-токоферол, аскорбінова кислота, флавоноїди [49, 156].

Таким чином, про- і антиоксидантна системи знаходяться у стані динамічної рівноваги, що підтримується певною організацією плазмових і клітинних ліпідів, динамічною системою обміну мембранних фосфоліпідів і холестеролу, що визначають ліпідний рівень окислюваності клітинних мембран [107].

Зважаючи на результати експериментальних досліджень за умов тетрахлорметанового ураження печінки у попередньому підрозділі, було доцільним дослідити деякі показники антиоксидантної системи та вплив на них густого екстракту зі шпинату городнього листя та порівняти його ефективність з ефективністю відомого гепатопротектора – силімарину.

Після застосування тетрахлорметану спостерігалась активація вільнорадикальних процесів і, відповідно, зниження активності захисної антиоксидантної системи організму, зокрема її ензимної та неензимної ланки.

Ключовим ензимом антиоксидантного захисту організму є супероксиддисмутаза, що забезпечує переривання ланцюгів кисневозалежних вільнорадикальних реакцій за допомогою дисмутації супероксидного аніон-радикалу ( $O_2^{\cdot-}$ ) з утворенням гідроген перексиду, який може бути попередником найбільш токсичного гідроксильного радикалу ( $OH\cdot$ ) і триплетного кисню [21].

У наших експериментах протягом 10 днів розвитку тетрахлорметанового гепатиту спостерігалось прогресуюче зниження супероксиддисмутазної активності печінці щурів (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Супероксиддисмутазна активність у печінці (од/мг) щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=60$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Печінка		
Інтактний контроль	0,58±0,03		
Уражені CCl <sub>4</sub>	0,48±0,03	0,40±0,02*	0,35±0,02*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	0,50±0,04	0,49±0,03	0,53±0,03**
Уражені CCl <sub>4</sub> + силімарин	0,50±0,03	0,54±0,04**	0,55±0,04**

До кінця дослідження активність ензиму знизилась у 1,65 раза щодо рівня показників тварин інтактного контролю.

На початкових етапах тетрахлорметанового гепатиту обидва коригуючих чинники (ГЕШЛ та силімарин) призвели до незначного підвищення СОД активності, яке не було вірогідним. На 7 добу експерименту СОД активність вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищилась після застосування силімарину. Підвищення активності даного ензиму після застосування ГЕШЛ становило 15 % щодо показника в уражених тетрахлорметаном щурів (рис. 4.4).

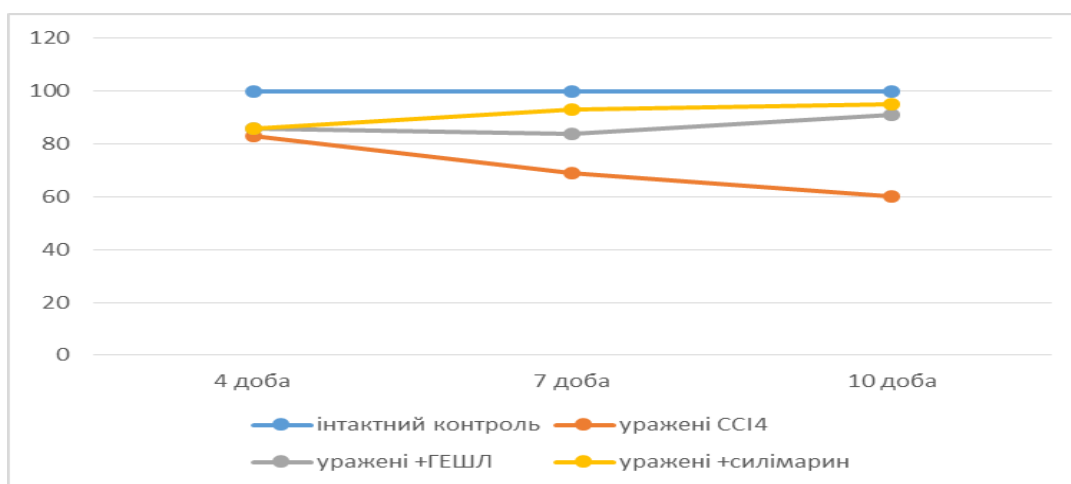


Рисунок 4.4 – Супероксиддисмутазна активність у печінці щурів з тетрахлорметановим гепатитом після застосування коригуючих чинників, %

В останній термін дослідження (10 доба) відмічено вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) підвищення СОД активності після застосування обох коригуючих чинників (до 91 % та 95 % після потрапляння до організму ГЕШЛ та силімарину відповідно).

Отже, застосування ГЕШЛ призвело до відновлення активності антиоксидантного ензиму в печінці. До кінця експерименту даний дослідний екстракт за ефективністю практично не поступався силімарину.

СОД успішно деактивує один з найнебезпечніших для клітин токсинів – АФО. Після їх розпаду утворюється гідрогену пероксид, який здатний пошкодити супероксиддисмутазу (її молекули), з цієї причини СОД завжди функціонує разом із каталазою. Каталаза досить швидко розщеплює шкідливий для СОД пероксид на воду і кисень [93].

В умовах тетрахлорметанового гепатиту нами була досліджена каталазна активність у сироватці крові та печінці щурів. Даний ензим захисної антиоксидантної системи знешкоджує токсичні форми кисню, які утворюються на завершальному етапі розвитку оксидативного стресу в організмі.

Відмічено зниження каталазної активності в сироватці крові та печінці щурів, що вказує на пригнічення антиоксидантної системи захисту після ураження тетрахлорметаном. Зниження активності даного показника в обидвох досліджуваних тканинах було практично однаковим в усі періоди дослідження. Найбільше зниження у сироватці крові спостерігалось на 7-му добу експерименту і склало 43,5 % відносно рівня контрольної групи. У печінці щурів після ураження зниження каталазної активності було однаковим на 7-му та 10-ту доби дослідження і склало 34,4 % (табл. 4.4).

Зниження каталазної активності в сироватці крові та печінці щурів сприяє накопиченню токсичного продукту дисмутації супероксидного аніон радикалу – пероксиду гідрогену та свідчить про швидке виснаження системи антиоксидантного захисту за умов токсичних уражень організму, що призводить до ушкодження молекул ензимів продуктами перекисного окислення. Однією з причин зниження КТ активності може бути викликана

тривалою дією токсину деградація вільних та зв'язаних з мембранами ендоплазматичної сітки рибосом, які відповідають за синтез ензиму [67].

Таблиця 4.4 – Каталазна активність у сироватці крові (мкат/л) та печінці (мкат/кг) щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=60$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові		
Інтактний контроль	0,23±0,007		
Уражені CCl <sub>4</sub>	0,15±0,006*	0,13±0,006*	0,14±0,007*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	0,17±0,009	0,21±0,006**	0,22±0,005**
Уражені CCl <sub>4</sub> + силімарин	0,21±0,007**	0,22±0,008**	0,23±0,004**
	Печінка		
Інтактний контроль	0,32±0,01		
Уражені CCl <sub>4</sub>	0,24±0,006*	0,21±0,009*	0,21±0,008*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	0,25±0,007	0,23±0,009	0,30±0,005**
Уражені CCl <sub>4</sub> + силімарин	0,27±0,007**	0,27±0,006**	0,31±0,005**

Після використання ГЕШЛ каталазна активність у сироватці крові вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищувалась у всі терміни дослідження, причому на 7-му та 10-ту доби дослідження була практично на одному рівні з активністю силімарину. Найбільше підвищення даного показника у сироватці крові спостерігалось на 7-му добу розвитку токсичного гепатиту і склало 34,8 % відносно групи уражених тварин, що було майже на рівні інтактного контролю.

У гомогенаті печінки застосування ГЕШЛ призвело до вірогідного підвищення ( $p \leq 0,05$ ) каталазної активності в уражених тварин лише на 10-ту добу дослідження. Даний показник у цей термін дослідження підвищився на 28,2 % відносно групи уражених тварин, що було практично на рівні з інтактним контролем.



Силімарин проявив позитивний вплив на каталазну активність як у сироватці крові, так і в печінці уражених тварин, вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищуючи її в усі терміни дослідження.

Один із основних антиоксидантів плазми крові – церулоплазмін – купрумвмісний протеїн альфа2-глобулінової фракції крові. Особливістю цього протеїну є висока стабільність до токсичної дії АФО, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов їх інтенсивної генерації [193, 277].

Нами досліджено у щурів після ураження тетрахлорметаном вміст ЦП – протеїну з ензимною активністю, який бере участь у знешкодженні активних форм кисню на початку зародження вільнорадикального ланцюга.

Встановлено, що протягом усього експерименту (10 діб) у сироватці крові щурів після отруєння тетрахлорметаном прогресуюче зростає вміст ЦП. Підвищення даного показника на 4-ту добу склало 24 %, на 7-му – 40 % та на 10-ту – 55 % (рис. 4.5).

ГЕШЛ та силімарин позитивно вплинули на вміст церулоплазміну у сироватці крові уражених тварин та проявили практично однакову активність на 7-му та 10-ту добу.

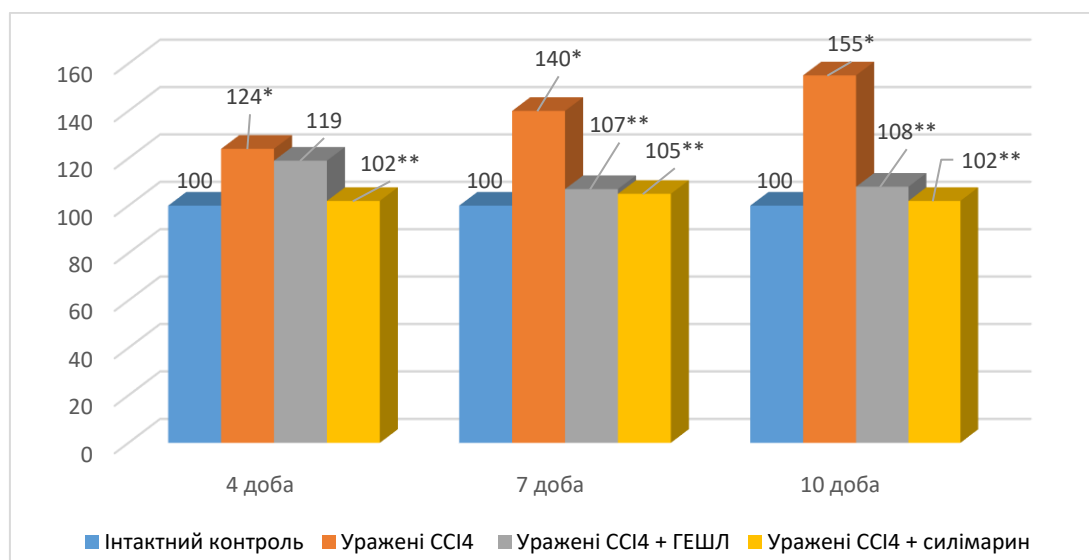


Рисунок 4.5 – Вміст церулоплазміну у сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину, %

На 7-му добу експерименту вміст даного показника вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) зменшився на 33 % та 35 % і на 10-ту добу на 47 % та 53 % після використання ГЕШЛ та силімарину відповідно. У початковий термін дослідження (4 доба) до вірогідного зниження вмісту ЦП призвів тільки силімарин і зниження склало 22 %.

Глутатіонова система бере участь в інактивації гідроген пероксиду та ліпопероксидів та виконує захисну функцію для тіолових груп у протеїнах мембран і є функціональною основою системи антиоксидантного захисту [93, 209]. Одним із складових цієї системи є глутатіон. Як носій активної тіолової групи у формі залишку цистеїну, він діє як антиоксидант або безпосередньо взаємодіючи з активними видами кисню / азоту та електрофілів, або діючи як кофактор для різних ензимів [204, 216].

Результати, одержані при визначенні відновленого глутатіону показали, що в групах щурів, уражених тетрахлорметаном, у всі терміни дослідження зменшувався вміст даного показника. Це може вказувати на надлишкову кількість вільних радикалів в організмі уражених тварин. Після використання ГЕШЛ та силімарину вміст відновленого глутатіону значно підвищувався у сироватці крові та гомогенаті печінки щурів у всі три терміни дослідження (табл. 4.5).

Застосування ГЕШЛ призвело до вірогідного підвищення ( $p \leq 0,05$ ) даного показника у сироватці крові та печінці тварин на 7-му та 10-ту доби експерименту. У тварин, які отримували силімарин, у печінці спостерігалось вірогідне підвищення вмісту даного показника в усі терміни дослідження, в сироватці крові на 7-му та 10-ту доби експерименту.

На кінець експерименту (10-та доба) після використання ГЕШЛ у сироватці крові вміст відновленого глутатіону підвищився на 27,2 % відносно уражених тварин. Для силімарину підвищення даного показника у даний період дослідження склало 31,2 % відносно уражених тварин (рис. 4.6).

Таблиця 4.5 – Вміст відновленого глутатіону у сироватці крові (мкмоль/л) та печінці (мкмоль/кг) щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=60$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Печінка, ммоль/кг		
Контроль	1,79± 0,03		
Уражені CCl <sub>4</sub>	1,48±0,03*	1,36±0,02*	1,32±0,02*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	1,52±0,03	1,63±0,03**	1,68±0,03**
Уражені CCl <sub>4</sub> + силімарин	1,62±0,02**	1,70±0,02**	1,76±0,02**
	Сироватка крові, ммоль/л		
Контроль	1,25± 0,03		
Уражені CCl <sub>4</sub>	1,01±0,04*	0,87±0,03*	0,82±0,03*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	1,03±0,02	1,03±0,03**	1,16±0,02**
Уражені CCl <sub>4</sub> + силімарин	1,06±0,03	1,17±0,01**	1,21±0,02**

У печінці уражених щурів вміст даного показника (10-та доба) підвищився на 20,2 % після застосування ГЕШЛ та на 24,6 % після застосування силімарину (відносно показника уражених тварин).

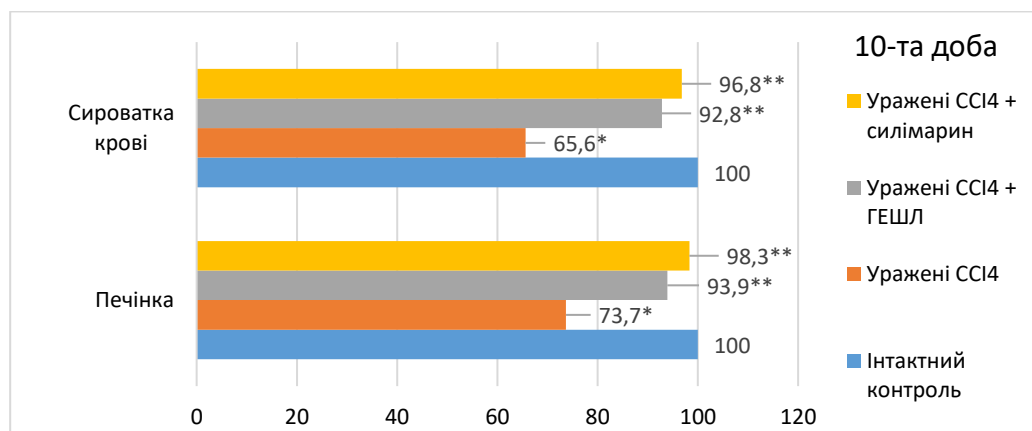


Рисунок 4.6 – Вміст відновленого глутатіону у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину (10-та доба), %

Таким чином, встановлено, що ураження щурів токсичними дозами тетрахлорметану призводить до значних порушень антиоксидантної системи. За цих умов відмічалось пригнічення супероксиддисмутазної та каталазної активності та зниження вмісту відновленого глутатіону в організмі уражених щурів. Також, підвищився рівень церулоплазміну, що є однією з можливих причин активації захисно-компенсаторних сил на ранніх етапах оксидативного стресу.

Застосування за умов тетрахлорметанового гепатиту ГЕШЛ викликало відновлення захисно-компенсаторних сил організму та зниження активованих окиснювальних процесів.

Отримані результати дозволяють стверджувати, що екстракту зі шпинату городнього листа притаманні антиоксидантні властивості, які підтверджуються пригніченням окиснювального стресу за умов токсичного ураження печінки.

#### 4.3 Розвиток цитолітичних процесів та ендогенної інтоксикації в організмі щурів за умов токсичного гепатиту та вплив на них густого екстракту зі шпинату городнього листа

Один із основних показників активності патологічного процесу в печінці є цитоліз, що виникає внаслідок порушення структури клітин печінки, перш за все гепатоцитів. Іноді пошкоджуються тільки клітинні мембрани, частіше – ще й цитоплазма, а також окремі клітини в цілому [24]. Головним розладом вважають порушення проникності клітинних мембран. Зазвичай, на початкових стадіях цитолізу змінюється стан ліпідного шару мембран (внаслідок активації процесів ліпопероксидації), і мембрана гепатоцита стає більш проникною для ряду речовин, насамперед для внутрішньоклітинних ензимів [116].

Однією з причин зміни проникності клітинних мембран під дією тетрахлорметану може бути токсичний вплив його метаболітів на структурні компоненти саме мембран – як ліпідні, так і протеїнові [199].

Із літератури відомо, що пошкодження клітинних мембран відображається співвідношенням активності внутрішньоклітинних ензимів у клітині та поза її межами, оскільки в нормі лише незначна кількість внутрішньоклітинних ензимів знаходиться в сироватці крові. Рівень активності ензимів у крові є маркером пошкодження відповідних клітин, що може супроводжуватися зміною їх проникності й аж до появи некрозу. Найбільшої уваги заслуговують органоспецифічні ензими, які є специфічними тільки для певного типу тканин [256].

На пошкодження структури мембран клітин за дії токсикантів вказує зміна активності органоспецифічних ензимів АлАТ і АсАТ у сироватці крові щурів. Дані ензими локалізуються, відповідно в цитозолі та лізосомах гепатоцитів, тому за змінами їх активності можна оцінити ступінь пошкодження плазматичних і цитоплазматичних мембран клітин печінки [74, 292].

В організмі тварин після введення тетрахлорметану зафіксовані характерні зміни активності амінотрансфераз. Найвища активність АлАТ у сироватці крові токсикованих щурів зареєстрована на 7-у добу дослідження, яка у 2,7 рази перевищувала рівень інтактного контролю, що свідчить про пошкодження плазматичних мембран гепатоцитів та підвищення їх проникності (табл. 4.6).

Таке підвищення активності даного ензиму в сироватці крові у цей період пояснюється тим, що саме на 7 добу виникають більш виражені метаболічні порушення. Багатьма авторами цей період класифікується як токсикогенна фаза розвитку токсичного гепатиту [16, 24].

Застосування ГЕШЛ на 7-му добу дослідження призвело до зниження активності АлАТ в 1,2 рази. У терміні дослідження 10 діб ефективність екстракту проявилась значно більше й активність АлАТ знизилась у 1,9 рази відносно рівня контрольної патології.

Ефективність застосування силімарину була дещо вищою, вірогідне зменшення даного показника спостерігалось у всі терміни дослідження й до

кінця експерименту активність досліджуваного ензиму в сироватці крові уражених тетрахлорметаном тварин знизилась у 2,3 раза.

Таблиця 4.6 – Активність АлАТ у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові, мкмоль/л год		
Інтакний контроль (ІК)	2,90±0,21		
Уражені CCl <sub>4</sub> (контрольна патологія, КІ)	4,61±0,27*	7,85±0,24*	7,49±0,34*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	4,24±0,24	6,56±0,26**	3,90±0,17**
Уражені CCl <sub>4</sub> + силімарин	3,67±0,25**	4,25±0,31**	3,27±0,15**
	Печінка, мкмоль/кг год		
Інтакний контроль (ІК)	9,43±0,50		
Уражені CCl <sub>4</sub> (контрольна патологія, КІ)	6,18±0,36*	4,88±0,34*	4,67±0,30*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	6,71±0,29	7,39±0,32**	8,84±0,35**
Уражені CCl <sub>4</sub> + силімарин	8,22±0,29**	8,78±0,53**	9,30±0,50**

Враховуючи, що АлАТ є маркерним ензимом печінки, ми дослідили її активність саме в цьому органі. У токсикованих щурів даний показник прогресуюче знижувався й досяг до кінця експерименту максимально низького значення (у 2 рази нижче рівня інтактного контролю). Застосування обох коригуючих чинників (ГЕШЛ та силімарину) призвело до відновлення активності ензиму в печінці тварин. У щурів, які отримували ГЕШЛ, активність АлАТ підвищилась у 1,9 раза, після застосування силімарину – в 2 рази у кінцевий термін експерименту.

Нами було досліджено активність АсАТ у сироватці крові та печінці уражених тварин та після застосування дослідного екстракту та силімарину.

Встановлено, що після введення щурам тетрахлорметану в сироватці крові активність ензиму підвищувалась від 214 % у терміні 4 доба після ураження, до 273 % через 10 діб від початку експерименту (рис. 4.7).

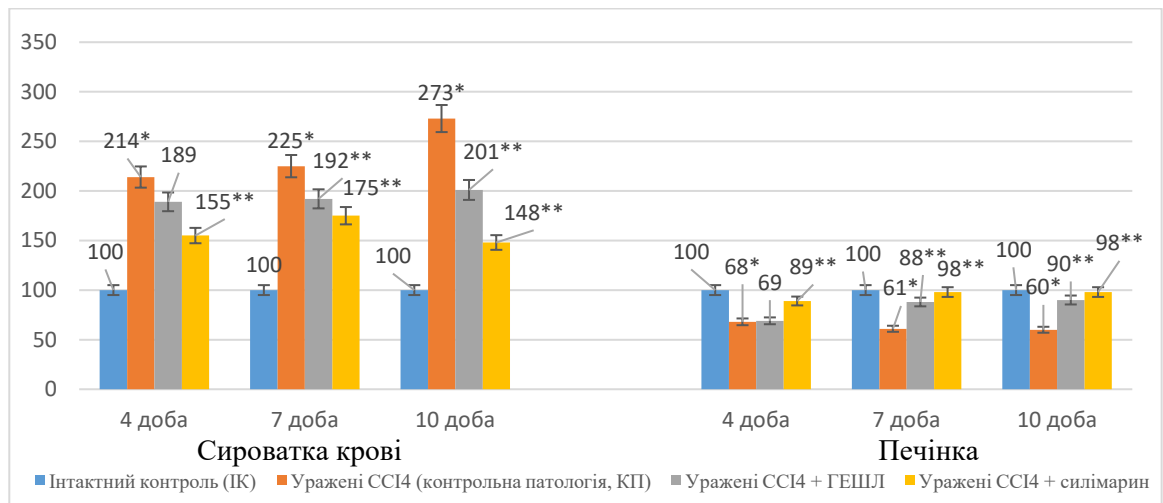


Рисунок 4.7 – Активність АсАТ у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа та силімарину (10-та доба), %

Дослідний екстракт призвів до зниження даного показника у сироватці крові протягом усього експерименту. Вірогідні зміни ( $p \leq 0,05$ ) спостерігали у терміні 7 та 10 діб від початку дослідження. У кінцевому терміні активність АсАТ знизилась на 72 % під впливом екстракту та на 125 % після застосування силімарину.

У печінці уражених тетрахлорметаном тварин відмічались зворотні зміни. В останній термін дослідження активність АсАТ знизилась на 40 % щодо рівня інтактного контролю. Застосування ГЕШЛ призвело до підвищення ензимної активності у печінці на 30 %, силімарину – на 38 %.

Отже, обидва чинники виявились ефективними, після їх застосування активність АсАТ збільшувалась у печінці та знижувалась у сироватці крові уражених тетрахлорметаном тварин. Однією із причин цього може бути відновлення проникності мембран гепатоцитів. Очевидно, дослідний екстракт за рахунок БАР, які в ньому містяться, сприяє відновленню структури плазматичних мембран клітин.

При дослідженні ще одного органоспецифічного ензиму печінки (маркера некрозу) – гамма-глутамілтранспептидази, відмічено аналогічні зміни.

ГГТП – мікросомальний ензим, що бере участь в обміні амінокислот, каталізуючи перенесення  $\gamma$ -глутамінового залишку з пептиду (зазвичай глутатіону) на амінокислоту, інший пептид чи воду. Зростання активності ГГТП спостерігається при ураженнях гепатобіліарної системи (гепатитах, холестази, холангіті), а також при жировому переродженні печінки. Підвищення активності ензиму викликають різні ксенобіотики, зокрема ліки, здатні активувати оксидазну активність мікросомальних ензимів, а також будь-який оксидативний стрес [165].

У наших експериментах відмічено підвищення активності ГГТП у сироватці щурів, уражених тетрахлорметаном (табл. 4.7), яке максимальним виявилось на 10 добу експерименту (в 5,7 раза перевищувало норму).

Таблиця 4.7 – Активність гама-глутамілтранспептидази у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові, мкмоль/л		
Інтактний контроль (ІК)	0,18±0,009		
Уражені $CCl_4$ (контрольна патологія, КІП)	0,82±0,07*	0,99±0,08*	1,03±0,06*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	0,72±0,04	0,61±0,04**	0,34±0,03**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	0,51±0,04**	0,58±0,04**	0,25±0,02**
	Печінка, мкмоль/кг		
Інтактний контроль (ІК)	0,95±0,05		
Уражені $CCl_4$ (контрольна патологія, КІП)	0,68±0,04*	0,53±0,02*	0,47±0,03*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	0,70±0,03	0,71±0,02**	0,82±0,03**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	0,85±0,03**	0,89±0,02**	0,93±0,02**

Вірогідного зниження ( $p \leq 0,05$ ) зазнав даний показник у сироватці крові на 7 та 10 доби дослідження після застосування ГЕШЛ. Відмічено зниження



активності ГГТП у 1,6 раза та 2,9 раза відповідно. Силімарин ефективний вплив на активність ензиму проявив в усі періоди дослідження.

У печінці уражених щурів активність ензиму прогресуюче знижувалась протягом усього експерименту і в 2 рази була нижче рівня інтактного контролю у кінці дослідження.

Більш ефективним виявилось застосування силімарину протягом усіх термінів експерименту. ГЕШЛ вірогідно підвищував даний показник у печінці на 7 та 10 доби (в 1,3 та 1,7 разів відповідно).

Після ураження тварин тетрахлорметаном відбувалось підвищення у сироватці крові та зменшення в печінці активності лужної фосфатази. Максимальним підвищення ЛФ в сироватці крові було на 10-ту добу експерименту (у 2,9 раза) порівняно з групою тварин інтактного контролю. У печінці уражених щурів відмічалось зниження активності даного ензиму, яке було практично на одному рівні в усі терміни дослідження й становило 31,4 – 32,8 % від рівня тварин інтактного контролю (табл. 4.8).

Таблиця 4.8 – Активність лужної фосфатази у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові, мкмоль/л год		
Інтактний контроль (ІК)	4,10±0,12		
Уражені $CCl_4$ (контрольна патологія, КП)	8,75±0,40*	11,45±0,40*	12,00±0,51*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	8,10±0,35	7,40±0,40**	7,15±0,35**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	7,15±0,35**	6,60±0,33**	5,80±0,27**
	Печінка, мккат/кг год		
Інтактний контроль (ІК)	21,52±1,66		
Уражені $CCl_4$ (контрольна патологія, КП)	6,93±0,43*	7,05±0,55*	6,75±0,54*
Уражені $CCl_4$ + ГЕШЛ	9,68±0,45**	10,43±0,44**	12,75±0,36**
Уражені $CCl_4$ + силімарин	13,91±0,45**	12,43±0,56**	18,30±0,71**

ГЕШЛ проявив позитивний вплив на активність ЛФ. Його застосування призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження активності ензиму на 98,8 % (7 доба) та 118,3 % (10 доба) відносно рівня уражених тварин. Силімарин призвів до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження активності ЛФ у всі періоди дослідження. Максимальне зниження активності після використання силімарину спостерігалось на кінець дослідження (10 доба) і склало 151,2 % відносно рівня уражених тварин.

Застосування ГЕШЛ та силімарину сприяло вірогідному ( $p \leq 0,05$ ) підвищенню активності ЛФ у печінці в усі періоди дослідження. Максимальне підвищення показника, відносно рівня уражених тварин, спостерігалось на кінець експерименту (10-та доба) і склало 27,8 % та 53,6 % для ГЕШЛ і силімарину відповідно.

За умов ураження організму гепатотропними токсикантами зазнають змін не тільки мембрани гепатоцитів, але й інших клітин організму.

Ми дослідили проникність мембран еритроцитів в умовах розвитку тетрахлорметанового ураження печінки щурів. Для цього важливим тестом є визначення відсотку їх проникності, оскільки високий його рівень вказує на деградацію біліпідного шару мембрани, що призводить до зменшення еластичності, збільшення осмотичної крихкості та фрагментації самої мембрани. Внаслідок цього відбувається зміна проникності клітинної мембрани до різних речовин [254].

При дослідженні відсотку проникності еритроцитарної мембрани (ЕП) встановлено, що ураження печінки щурів токсичними дозами  $CCl_4$  призвело до підвищення її проникності, причому із подовженням терміну дослідження відсоток проникності прогресуюче збільшувався – на 4 добу експерименту на 23 %, на 7 добу – на 27,5 % і на 10 добу – 35,5 % (рис. 4.8).

Обидва застосовані засоби (досліджуваний ГЕШЛ та силімарин) ефективний вплив проявили на даний показник із 7 доби дослідження. Проникність еритроцитарної мембрани вірогідно відновлювалась ( $p \leq 0,05$ ) у

термінах 7 та 10 доби експерименту. Силімарин дещо перевершував за ефективністю ГЕШЛ.

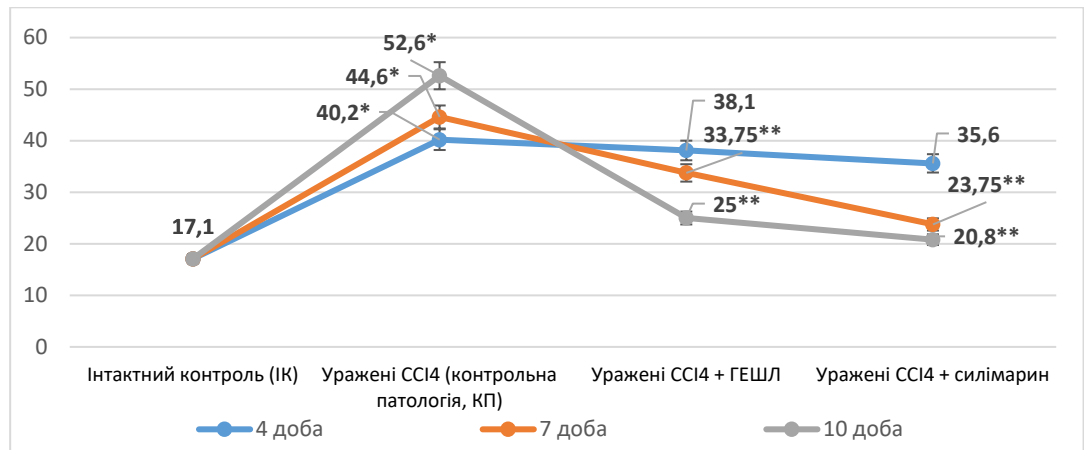


Рисунок 4.8 – Еритроцитарний індекс інтоксикації у сироватці крові щурів, уражених тетрахлометаном та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину, %

Очевидно, такий вплив ГЕШЛ на стабілізацію проникності клітинних мембран є наслідком його антиоксидантного ефекту, що показано [115] нами раніше. Використання даного чинника призводить до зниження активності процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, чим зменшується токсичний вплив вторинних продуктів вільнорадикального окиснення на мембрани. Це сприяє відновленню їх структури та проникності.

При патологічних процесах, які супроводжуються ендogenous інтоксикацією (ЕІ), у біологічних рідинах організму накопичується значна кількість продуктів метаболізму, більшість з яких є молекулами середньої маси (МСМ), тобто речовин середньої молекулярної маси від 300 до 5000 Д. Більшу частину МСМ складають пептиди, глікопептиди, ендорфіни, аміноцукри, поліаміни, інсулін, глюкагон, адренкортикотропний гормон, вазопресин, окситоцин, ангіотензин, ліпофусцин, атерогенно окислені ліпопротеїди, нуклеотиди, продукти деградації фібриногену, альбуміну, тромбіну, фрагменти колагену, а також похідні ліпідів, фосфоліпідів та ін. Даний показник використовується як маркер ендотоксемії різного генезу для визначення ступеня тяжкості патологічного процесу та можливих ускладнень. Відповідно

до вище зазначеного, уніфікованими маркерами інтоксикаційного синдрому можна запропонувати МСМ [169]. Накопичення молекул середньої маси є не тільки маркером ендоінтоксикації, надалі вони посилюють перебіг патологічного процесу, набуваючи роль вторинних токсинів, що впливають на життєдіяльність всіх систем і органів [100].

У процесі дослідження ступеня ендogenous інтоксикації в організмі тварин було оцінено вміст МСМ обох фракцій (СМ<sub>1</sub> та СМ<sub>2</sub>) у сироватці крові (табл. 4.9).

Таблиця 4.9 – Вміст молекул середньої маси у сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину (M±m; n = 6)

Показник	Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
		4 доба	7 доба	10 доба
СМ <sub>1</sub> (254 нм)	Інтакний контроль (ІК)	0,30±0,02		
	Уражені ССІ <sub>4</sub> (контрольна патологія, КП)	0,51±0,02*	0,64±0,02*	0,80±0,03*
	Уражені ССІ <sub>4</sub> + ГЕШЛ	0,41±0,02**	0,59±0,03	0,56±0,02**
	Уражені ССІ <sub>4</sub> + силімарин	0,35±0,02**	0,52±0,02**	0,48±0,02**
СМ <sub>2</sub> (280 нм)	Інтакний контроль (ІК)	0,33±0,02		
	Уражені ССІ <sub>4</sub> (контрольна патологія, КП)	0,48±0,02*	0,68±0,02*	0,82±0,03*
	Уражені ССІ <sub>4</sub> + ГЕШЛ	0,43±0,03	0,54±0,02**	0,53±0,02**
	Уражені ССІ <sub>4</sub> + силімарин	0,40±0,02**	0,43±0,01**	0,43±0,02**

При вивченні вмісту  $SM_1$  (переважають ланцюгові амінокислоти) встановлено, що максимальне їх підвищення в організмі уражених щурів було на 10-ту добу розвитку тетрахлорметанового гепатиту (підвищилось у 2,7 раза порівняно з тваринами інтактної групи). Схожа ситуація відбулась з показником  $SM_2$ , в якому переважають ароматичні амінокислоти. У сироватці крові тварин із тетрахлорметановим гепатитом на 10-ту добу дослідження показник  $SM_2$  підвищився у 2,5 раза (порівняно з інтактними тваринами).

Вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту показника  $SM_1$  після застосування ГЕШЛ спостерігалось на 4-ту та 10-ту доби дослідження і склало 34 % та 80 % відповідно (відносно рівня уражених тварин). Вплив даного коригуючого чинника на вміст  $SM_2$  був вірогідним ( $p \leq 0,05$ ) на 7-му та 10-ту доби дослідження. У ці терміни даний показник зменшився на 42,5 % та 87,9 % відповідно (відносно рівня уражених тварин).

Стосовно силімарину, його вплив на вміст МСМ обох фракцій ( $SM_1$  та  $SM_2$ ) у сироватці крові був вірогідним в усі періоди дослідження. Максимальне зниження активності даних показників спостерігалось на кінець дослідження (10 доба) і склало 106,7 % для  $SM_1$  та 118,2 % для  $SM_2$  (відносно рівня уражених тварин).

Отже, ураження печінки щурів тетрахлорметаном призводить до зміни проникності плазматичних мембран гепатоцитів, на що вказує підвищення у сироватці крові активності амінотрансфераз та гама-глутамілтранспептидази, а також зниження їх у печінці. Максимальні зміни відмічено у кінці дослідження – на 10 добу експерименту та доведено позитивний вплив ГЕШЛ на дані показники.

Проведені дослідження виявили позитивний вплив ГЕШЛ на плазматичні мембрани гепатоцитів та еритроцитів, що сприяє їх відновленню. Співставлення ефективності застосування силімарину та екстракту зі шпинату городнього листя підтверджує його мембранопротекторні властивості. Крім того, застосування ГЕШЛ призвело до зниження проявів ендогенної інтоксикації. На

це вказує зменшення вмісту МСМ обох фракцій, які є маркерами даного процесу.

4.4 Показники жовчоутворювальної та жовчовидільної функції печінки щурів після ураження тетрахлорметаном та застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя

Жовч відіграє важливу роль у підтримці стабільного функціонування організму, а жовчні кислоти, як специфічні секреторні компоненти паренхіматозних клітин печінки, є найважливішою її частиною. Вони відіграють важливу роль у процесах травлення та беруть участь у цілому ряді обмінних процесів, здійснюючи цим регулювальний ефект на діяльність інших органів і систем. Жовчні кислоти впливають на перистальтику кишечника, активізують ліпазу та коліпазу, виявляють антисептичні властивості, стабілізують і підтримують колоїдний стан ліпідних речовин жовчі та холестеролу й стимулюють секрецію білірубіну з жовчю [149].

Пошкодження жовчних ходів призводить до значних змін у секреції жовчі і є результатом більшості уражень гепатобіліарної системи. Наслідком розладу жовчовидільної функції печінки є деструктивні зміни клітинних мембран гепатоцитів [155].

Відомо, що моделювання токсичного гепатиту в лабораторних тварин супроводжується розвитком характерних клінічних, патолого-анатомічних і гістоморфологічних ознак, гіперферментемією гепатоспецифічних ензимів, порушенням ліпідного обміну, зниженням синтетичної, кон'югуючої, елімінаційної функцій печінки, розвитком внутрішньопечінкового холестазу на фоні активації вільнорадикальних процесів [98].

Вивчення показників жовчоутворювальної та жовчовидільної функції печінки та впливу на них ГЕШЛ проводили на моделі ураження печінки щурів тетрахлорметаном.

Дослідні тварини були розділені на чотири групи: 1-а – інтактний контроль (ІК); 2-га – щури, уражені тетрахлорметаном ( $\text{CCl}_4$ ); 3-тя – уражені тетрахлорметаном щури після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя (ГЕШЛ); 4-та – уражені тетрахлорметаном щури після застосування фламіну. Вслід за останнім введенням тетрахлорметану ГЕШЛ вводили у попередньо встановленій мінімально діючій дозі 150 мг/кг маси тіла. Як препарат порівняння використовували фламін, який тваринам вводили перорально у дозі 250 мг/кг.

Згідно методичних рекомендацій [147] через 4, 7 та 10 діб у щурів катетеризували загальну жовчну протоку під тіопенталовим наркозом (60 мг/кг) та збирали жовч годинними порціями протягом 3-х годин. Секреторну функцію печінки оцінювали за швидкістю секреції жовчі за годину спостереження (мг/хв/100 г маси тіла тварини) та загальною кількістю жовчі за весь час досліду (мг/100 г маси тіла тварини). Жовчоутворювальну функцію печінки оцінювали за вмістом загального білірубіну та вмістом у сироватці крові та жовчі загальних жовчних кислот.

Відмічено вагоме порушення жовчовидільної функції тварин, уражених тетрахлорметаном. Про це свідчить значне зменшення швидкості секреції та об'єму жовчі протягом усього періоду дослідження.

Максимальне зниження даних показників спостерігалось у кінці дослідження (10 доба) і становило 46 % для об'єму жовчі та 36,9 % для швидкості секреції жовчі відносно рівня тварин інтактного контролю (табл. 4.10).

Застосування ГЕШЛ та фламіну призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) підвищення об'єму жовчі експериментальних тварин на 7-му та 10-ту доби дослідження. Для ГЕШЛ підвищення становило 12,7 % на 7-му та 24,2 % на 10-ту доби експерименту відносно рівня уражених тварин. Фламін проявив дещо вищу ефективність на даний показник і вона склала 25,3 % та 36,8 %, відносно рівня уражених тварин, у аналогічні терміни дослідження.

Таблиця 4.10 – Вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя та фламіну на жовчовидільну функцію печінки щурів, уражених тетрахлорметаном ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Об'єм жовчі, мл/100 г		
Інтактний контроль (ІК)	0,87±0,03		
Уражені CCl <sub>4</sub>	0,56±0,01*	0,49±0,02*	0,47±0,01*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	0,56±0,01	0,60±0,01**	0,68±0,02**
Уражені CCl <sub>4</sub> + фламін	0,59±0,02	0,71±0,02**	0,79±0,02**
	Швидкість секреції жовчі, мг/хв×100		
Інтактний контроль (ІК)	5,50±0,21		
Уражені CCl <sub>4</sub>	4,05±0,17*	3,68±0,15*	3,47±0,14*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	4,12±0,14	4,58±0,17**	4,95±0,12**
Уражені CCl <sub>4</sub> + фламін	4,65±0,13**	5,10±0,11**	5,22±0,13**

Використання даних коригуючих засобів призвело також до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) підвищення швидкості секреції жовчі у тварин, уражених тетрахлорметаном (рис. 4.9).

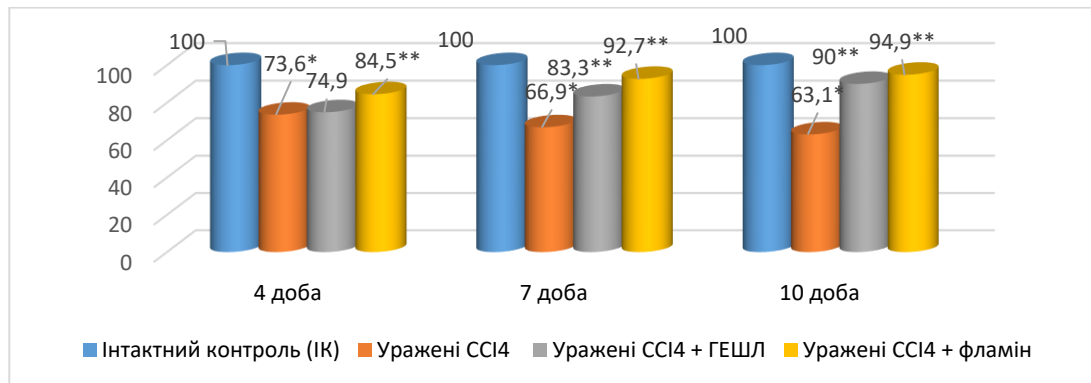


Рисунок 4.9 – Вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя та фламіну на швидкість секреції жовчі у тварин, уражених тетрахлорметаном, %

Як видно з рис. 4.9, для ГЕШЛ вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) підвищення швидкості секреції жовчі у тварин, уражених тетрахлорметаном, спостерігалось на 7-му та 10-ту доби дослідження. Фламін проявив дану активність у всі терміни дослідження. На останню добу експерименту (10-та доба) ефективність екстракту та препарату порівняння була приблизно на одному рівні й майже досягала рівня щурів інтактного контролю.



Окрім порушення жовчоутворення, яке відіграє важливу роль при токсичних гепатитах, важливим фактором є затримка відтоку жовчі, внаслідок чого розвивається синдром холестазу. Це спричинює розвиток холемії – інтоксикації компонентами жовчі, які проникають у кров, передусім білірубіном та жовчними кислотами [14].

Зміна динаміки вище описаних компонентів жовчі була вивчена для оцінки зовнішньосекреторної функції печінки в умовах тетрахлорметанового ураження тварин та після застосування ГЕШЛ і фламіну.

Протягом усього періоду дослідження відмічено вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) підвищення вмісту жовчних кислот у сироватці крові та зниження їх у жовчі уражених тварин (табл. 4.11).

На кінець дослідження (10 доба) підвищення вмісту жовчних кислот у сироватці крові склало 33,4 %, зниження їх вмісту у жовчі – 33,6 %.

Таблиця 4.11 – Вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя та фламіну на концентрацію жовчних кислот (г/л) у сироватці крові та жовчі тварин, уражених тетрахлорметаном ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові, г/л		
Інтакний контроль (ІК)	5,12±0,15		
Уражені CCl <sub>4</sub>	5,85±0,16*	6,52±0,22*	6,83±0,14*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	5,73±0,08	6,11±0,10	5,72±0,12**
Уражені CCl <sub>4</sub> + фламін	5,45±0,13	5,47±0,17**	5,27±0,11**
	Жовч, г/л		
Інтакний контроль (ІК)	7,48±0,15		
Уражені CCl <sub>4</sub>	5,90±0,14*	5,45±0,15*	4,97±0,13*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	6,21±0,16	6,38±0,16**	6,56±0,12**
Уражені CCl <sub>4</sub> + фламін	6,73±0,13**	6,88±0,13**	7,16±0,10**

Використання коригуючих чинників проявило позитивний вплив на вміст жовчних кислот у сироватці крові. ГЕШЛ призвів до вірогідних ( $p \leq 0,05$ ) змін на 10-ту добу дослідження й зменшення вмісту жовчних кислот у сироватці крові склало 21,7 % у даний період дослідження (відносно рівня уражених тварин). Фламін виявився більш ефективним у зміні динаміки даного показника у сироватці крові та проявив вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зменшення його на 7-му (на 20,5 %) та на 10-ту (на 30,5 %) доби відносно рівня уражених тварин.

Вплив ГЕШЛ та фламіну на вміст жовчних кислот у жовчі уражених тварин також виявився позитивним і призвів до підвищення даного показника (рис. 4.10).

Застосування фламіну дещо перевершувало ефективність ГЕШЛ щодо даного показника й виявилось вірогідним ( $p \leq 0,05$ ) в усі терміни дослідження.

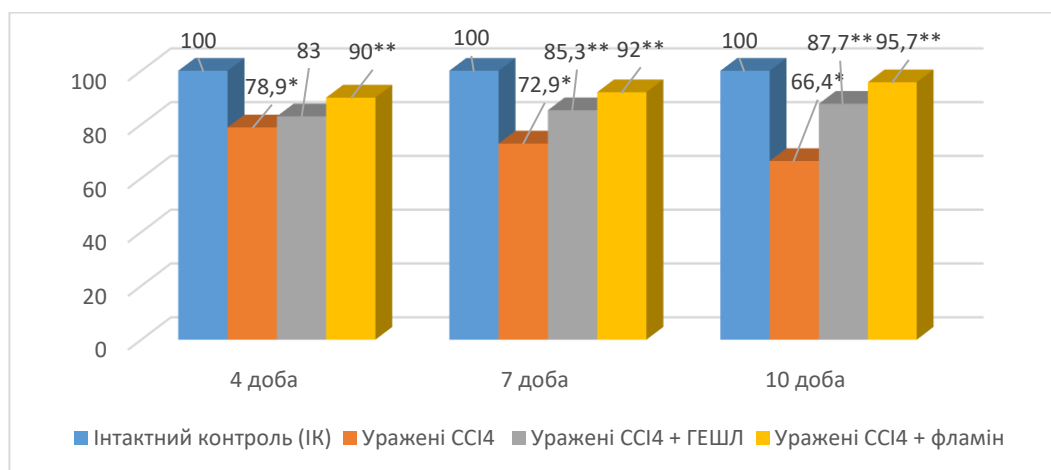


Рисунок 4.10 – Вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя та фламіну на вміст жовчних кислот у жовчі тварин, уражених тетрахлорметаном, %

На 10-ту добу експерименту вміст жовчних кислот у жовчі підвищився у 1,4 раза відносно рівня уражених тварин. Однак, ГЕШЛ також викликав вірогідні ( $p \leq 0,05$ ) зміни щодо даного показника на 7-му та 10-ту доби дослідження. Після корекції ГЕШЛ спостерігалось збільшення вмісту жовчних кислот у жовчі уражених тварин у 1,2 раза на 7-му та 1,3 раза на 10-ту доби дослідження, відносно рівня уражених тварин.

Зафіксовано вірогідне підвищення вмісту загального білірубіну в сироватці крові тварин, уражених тетрахлорметаном, протягом усього періоду експерименту. Максимальним підвищення даного показника (у 1,8 раза) було на 10-ту добу дослідження (табл. 4.12).

Застосування ГЕШЛ та фламіну призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту загального білірубіну у сироватці крові тварин, уражених тетрахлорметаном, на 7-му та 10-ту доби дослідження.

Після використання ГЕШЛ зменшення вмісту загального білірубіну склало 31,7 % та 58,4 % на 7-му та 10-ту доби експерименту відповідно (відносно рівня уражених тварин). Фламін виявився дещо ефективнішим у аналогічні терміни дослідження й зниження даного показника склало 45,5 % та 69 % відповідно щодо показника у тварин з токсичним гепатитом.

Таблиця 4.12 – Вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя та фламіну на вміст загального білірубіну у сироватці крові тварин, уражених тетрахлорметаном ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	4 доба	7 доба	10 доба
	Сироватка крові, мкмоль/л		
Контроль	7,97 $\pm$ 0,36		
Уражені CCl <sub>4</sub>	10,13 $\pm$ 0,26*	12,82 $\pm$ 0,23*	14,40 $\pm$ 0,25*
Уражені CCl <sub>4</sub> + ГЕШЛ	9,73 $\pm$ 0,23	10,30 $\pm$ 0,25**	9,75 $\pm$ 0,24**
Уражені CCl <sub>4</sub> + фламін	9,57 $\pm$ 0,23	9,20 $\pm$ 0,24**	8,90 $\pm$ 0,25**

Отже, в умовах тетрахлорметанового ураження печінки щурів виявлено прогресуюче порушення жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій печінки тварин, яке наростало до кінця експерименту. Використаний густий екстракт зі шпинату городнього листя проявив позитивний вплив на відновлення даних функцій в організмі уражених тварин, про що свідчить

збільшення об'єму і швидкості секреції жовчі, зменшення вмісту жовчних кислот в сироватці крові та збільшення їх у жовчі, а також зниження вмісту загального білірубину в сироватці крові уражених тетрахлорметаном тварин.

4.5 Морфо-функціональні зміни печінки за ураження щурів тетрахлорметаном та після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину

Для підтвердження зміни біохімічних показників у щурів за умов 10-и денного моделювання токсичного гепатиту та визначення ефективності застосування коригуючих чинників, зокрема ГЕШЛ та силімарину, проведені морфологічні дослідження структури печінки за даних умов.

Структура печінки інтактних тварин представлена на рис. 4.11. Балкова організація часточки збережена, синусоїди добре візуалізуються, їх просвіти не містять еритроцитів та макрофагів. Центральні вени звичайної конфігурації, судини портальних трактів не розширені. Гепатоцити звичайної структури, усі клітини містять добре контуровані ядра, міжклітинні контакти збережені.

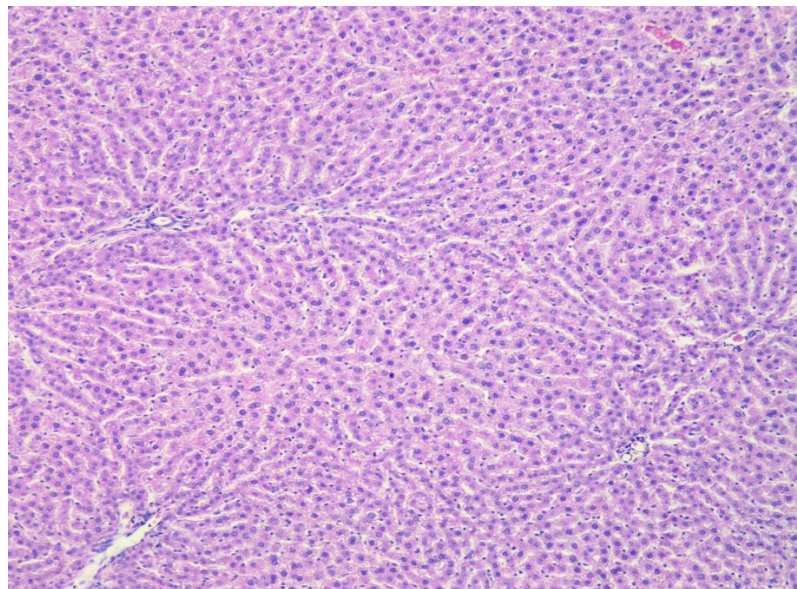


Рисунок 4.11 – Структура печінки інтактних тварин. Забарвлення гематоксилином та еозином. X 200.

Через 4 доби експерименту на тлі моделювання  $CCl_4$  гепатиту в печінці спостерігалось порушення структурної організації. На перший план виступали виражена лімфо-гістіоцитарна інфільтрація переважно портальних трактів (рис. 4.12) та виражена великокрапельна жирова дистрофія значної частини гепатоцитів перипортальних ділянок та середньої третини часточки. Наростання застійних явищ проявлялось розширенням та повнокров'ям центральних вен. При цьому синусоїди переважно не візуалізувались. Балкова організація гепатоцитів не прослідковувалась, міжклітинні контакти порушувались. У значної частини гепатоцитів переважно середньої третини часточки спостерігались ознаки білкової гіаліново-крапельної дистрофії.

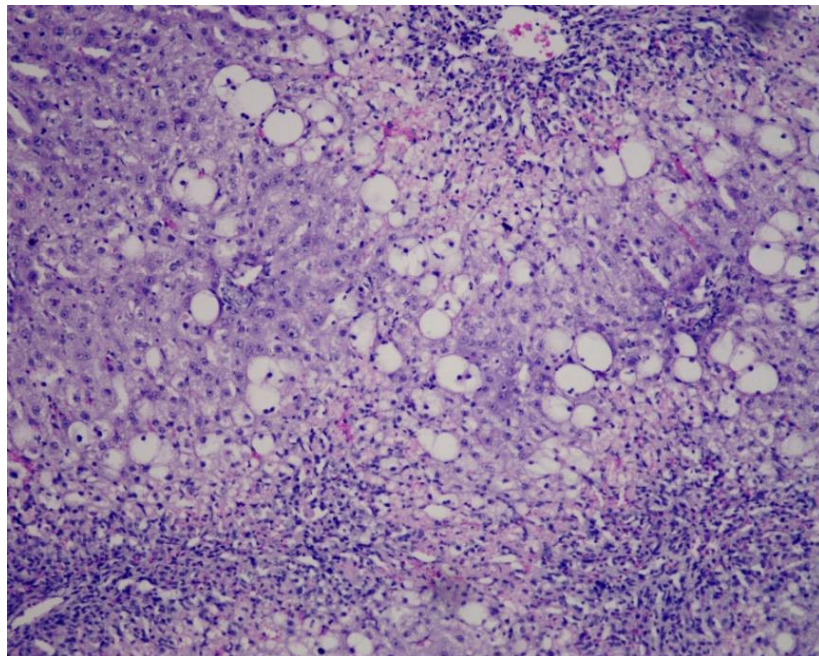


Рисунок 4.12 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $CCl_4$  гепатиту через 4 доби експерименту. Виражена лімфо-гістіоцитарна інфільтрація переважно портальних трактів та виражена жирова дистрофія значної частини гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200.

Через 7 діб від початку експерименту в печінці спостерігалось помірні застійні явища в центральних венах та централобулярних ділянках синусоїдів, що супроводжувалось їх повнокров'ям (рис. 4.13). У гепатоцитах переважно середньої третини часточки виявлялись найбільші прояви розвитку білкової



дистрофії. Макрофагальна інфільтрація візуалізувалась центролобулярно, по всій величині часточки та в ділянках триад, проте в перипорнальних зонах вона помітно зменшувалась. Гепатоцити відновлювали балкову організацію, більш стабілізувались міжклітинні контакти. Ядра частини гепатоцитів залишались просвітленими. У портальних трактах серед лімфо-гістіоцитарного інфільтрату візуалізувалась значна кількість гепатоцитів із вираженою жирковою дистрофією.

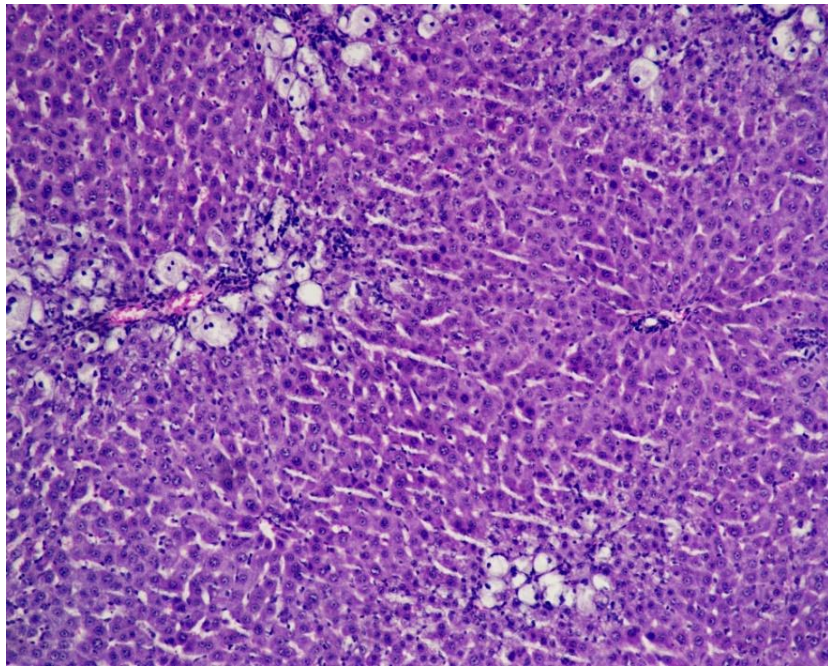


Рисунок 4.13 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $\text{CCl}_4$  гепатиту через 7 діб експерименту. Зменшення лімфо-гістіоцитарної інфільтрації портальних трактів, відновлення балкової організації гепатоцитів. Виражена жирова дистрофія гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 100.

Через 10 діб моделювання гострого  $\text{CCl}_4$  гепатиту в печінці залишались помірні застійні явища в центральних венах та центролобулярних ділянках у вигляді периваскулярного набряку. У гепатоцитах переважно середньої третини часточки виявлялись найбільші прояви розвитку білкової дистрофії. Макрофагальна інфільтрація візуалізувалась як центролобулярно, так і по всій величині часточки та в ділянках триад, проте в перипорнальних зонах вона

помітно зменшувалась. Гепатоцити відновлювали балкову організацію, більш стабілізувались міжклітинні контакти (рис. 4.14). Ядра частини гепатоцитів залишались просвітленими. У портальних трактах серед лімфо-гістіоцитарного інфільтрату візуалізувалась значна кількість гепатоцитів із вираженою жировою дистрофією, проте дрібнокраплинною.

Через 4 доби експерименту на тлі моделювання  $CCl_4$  гепатиту та при корекції карсиллом у печінці спостерігалось відновлення часточкової структури. Гепатоцити залишались структурованими в балки, міжклітинні контакти залишались збереженими. Дистрофічні зміни в клітинах централобулярної та центральної частини часточки були мінімальними. Значно зменшувалась лімфо-гістіоцитарна інфільтрація портальних трактів (рис. 4.15) та виражена жирова дистрофія значної частини гепатоцитів.

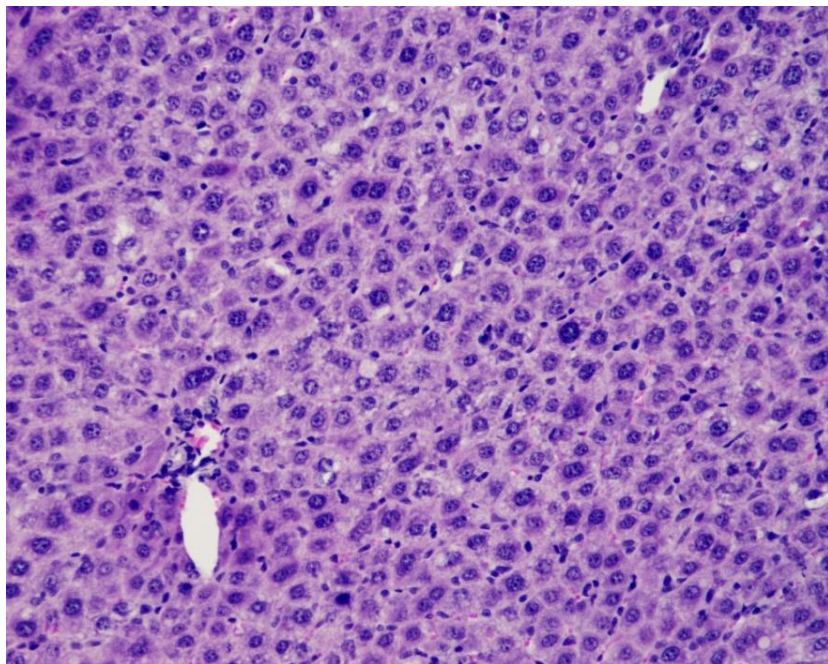


Рисунок 4.14 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $CCl_4$  гепатиту через 10 діб експерименту. Забарвлення гематоксилином та еозином. X 200.

Застійні явища були помірними і проявлялись незначним розширенням центральних вен та їх повнокров'ям. Синусоїди добре візуалізувались, окремі



дещо розширювались, містили незначну кількість макрофагів. Лише в поодиноких клітин перипортальних трактів залишались прояви вираженої жирової дистрофії.

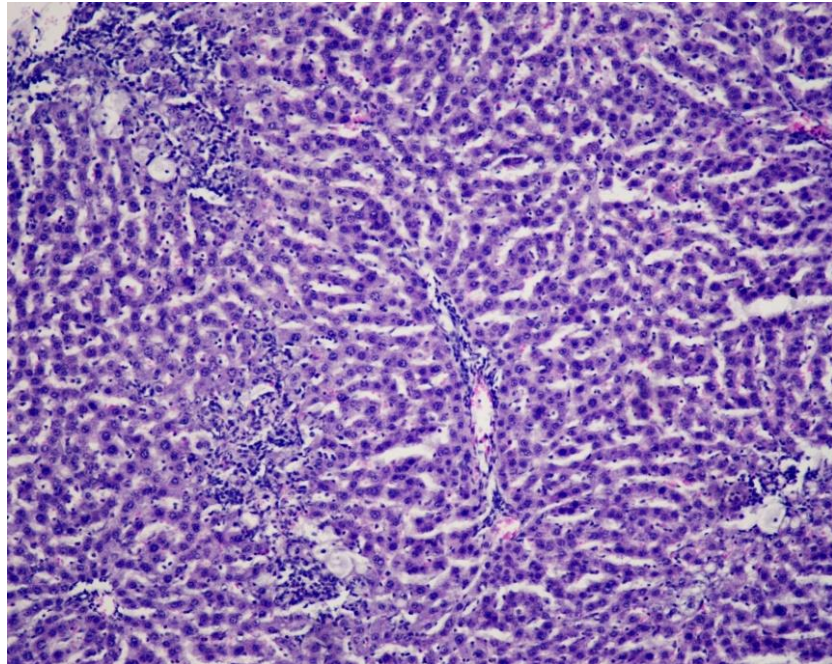


Рисунок 4.15 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $\text{CCl}_4$  гепатиту при корекції карсилом через 4 доби експерименту. Зменшення лімфо-гістіоцитарної інфільтрації портальних трактів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 100.

Через 7 діб експерименту на тлі моделювання  $\text{CCl}_4$  гепатиту та при корекції карсилом у печінці спостерігалось виражене прогресування відновлення часточкової структури. Гепатоцити залишались переважно збереженими та добре структурованими в балки, міжклітинні контакти не пошкоджувались.

Дистрофічні зміни в клітинах центролобулярної та центральної частини часточки були мінімальними. Ядра добре контуровані візуалізувались практично у всіх клітин, окремі із них ставали гіперхромними або двоядерними. Лімфо-гістіоцитарна інфільтрація портальних трактів була мінімальною,



взувалась переважно периваскулярно, серед запального інфільтрату не виявлялось клітин із вираженою жирною дистрофією (рис. 4.16).

Застійні явища були незначними і проявлялись незначним розширенням центральних вен та їх повнокров'ям із частковим поширенням на синусоїди. Синусоїди добре візуалізувались, містили незначну кількість макрофагів.

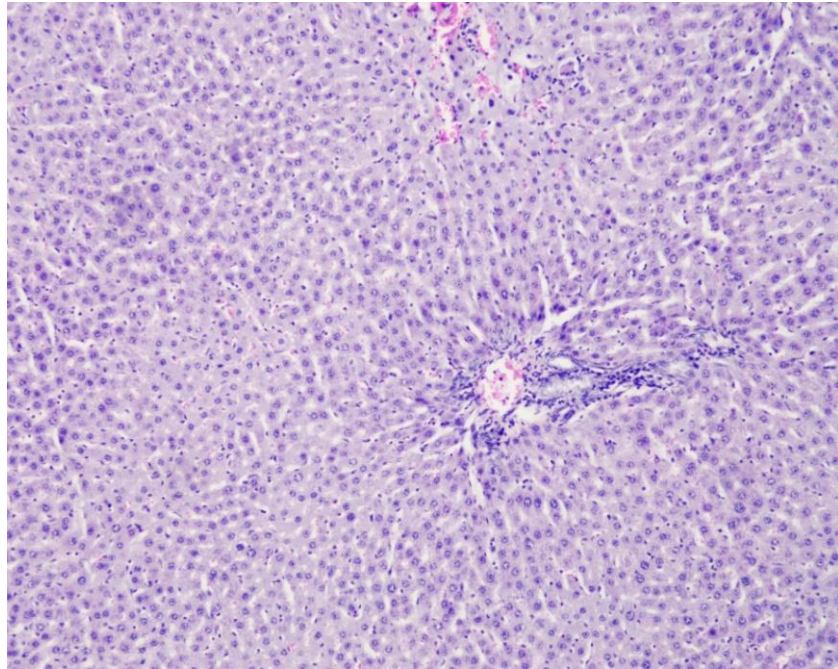


Рисунок 4.16 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $\text{CCL}_4$  гепатиту при корекції карсилом через 7 днів експерименту. Зменшення запального інфільтрату в перипортальних ділянках, помірне повнокров'я центральних вен. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 100.

Через 10 днів експерименту на фоні моделювання  $\text{CCL}_4$  гепатиту та при корекції карсилом в печінці спостерігалось збереження структури часточки та балкової організації гепатоцитів. Клітини мали чітко виражені ядра, міжклітинні контакти залишались збереженими (рис. 4.17).

Центральні вени залишались дещо розширеними із незначною кількістю еритроцитів. Просвіти синусоїдів добре візуалізувались, окремі дещо більш розширені, містили незначну кількість еритроцитів та макрофагів. Лімфогістіоцитарна інфільтрація портальних трактів не візуалізувалась.

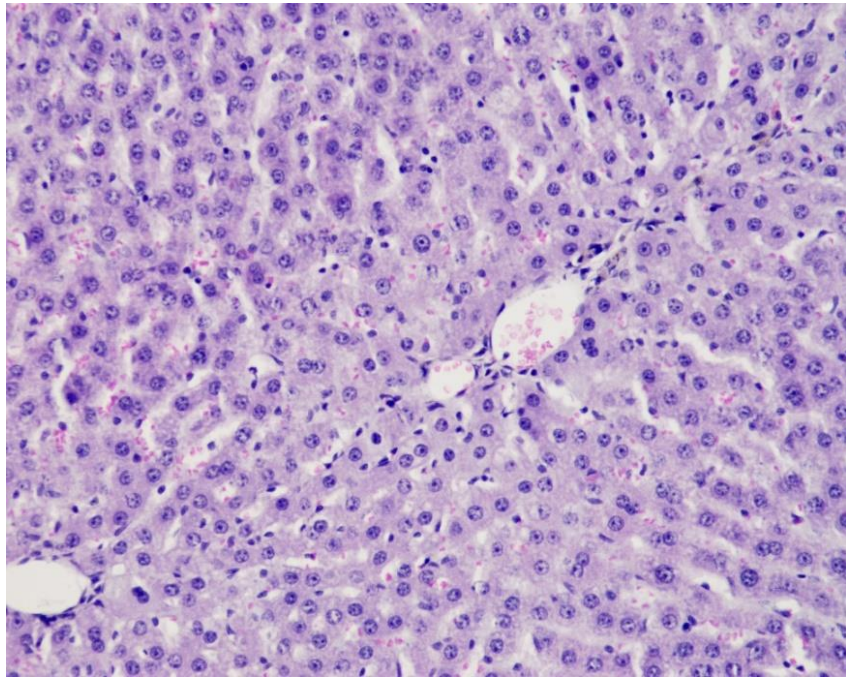


Рисунок 4.17 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $\text{CCl}_4$  гепатиту при корекції карсилом через 10 діб експерименту. Збережена балкова організація гепатоцитів, поодинокі еритроцити в просвітах синусоїдів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200.

Через 4 доби експерименту на тлі моделювання  $\text{CCl}_4$  гепатиту та при корекції екстрактом зі шпинату листя в печінці спостерігалось помірне відновлення часточкової структури, а саме частково відновлювалась балкова організація клітин та їх міжклітинні контакти, особливо в центральних ділянках часточки. Дистрофічні прояви в клітинах централобулярної, перипортальної частини часточки залишались значними. Візуально зменшувалась лімфогістіоцитарна інфільтрація портальних трактів (рис. 4.18), проте жирова дистрофія частини гепатоцитів (великокраплинна) залишалась вираженою. Застійні явища були помірними і проявлялись незначним розширенням центральних вен та їх повнокров'ям. Синусоїди добре візуалізувались, окремі значно розширювались, містили значну кількість еритроцитів та макрофагів.

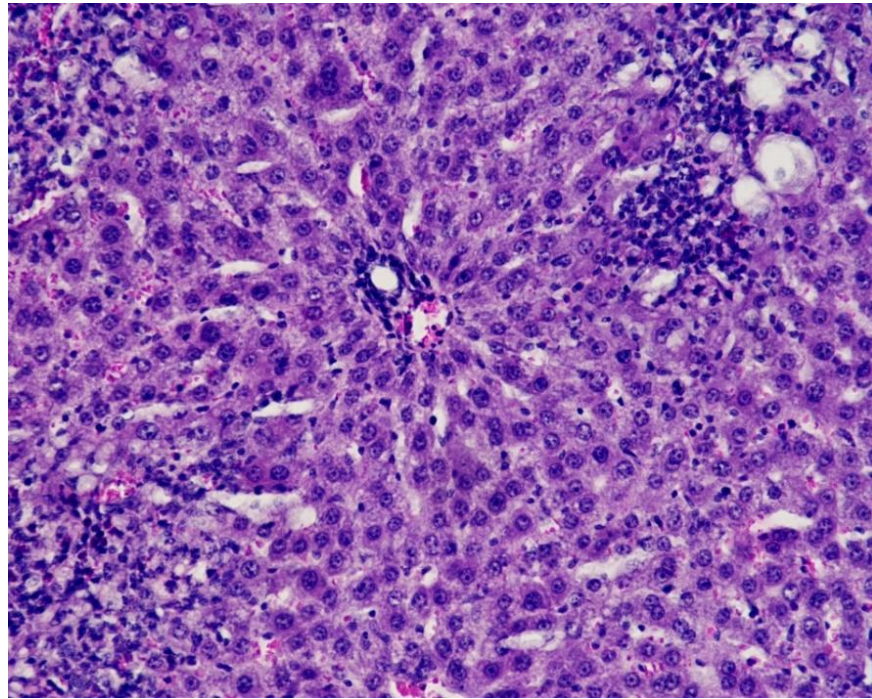


Рисунок 4.18 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $\text{CCl}_4$  гепатиту при корекції екстрактом шпинату через 4 доби експерименту. Часткове відновлення структурної організації. Дистрофічні зміни гепатоцитів. Забарвлення гематоксилином та еозином. X 200.

Через 7 діб експерименту на тлі моделювання  $\text{CCl}_4$  гепатиту та при корекції дослідним екстрактом у печінці спостерігалось значне покращення структури часточки. Переважна більшість клітин були структуровані в балкову організацію, міжклітинні контакти залишались збереженими. Виражені дистрофічні прояви жирової дистрофії залишались переважно в клітинах центролобулярної частини часточки (рис. 4.19). Ядра добре контуровані візуалізувались практично у всіх клітин. Периваскулярна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація портальних трактів помітно зменшувалась, проте ще залишалась значною. Синусоїди добре візуалізувались, містили незначну кількість макрофагів.



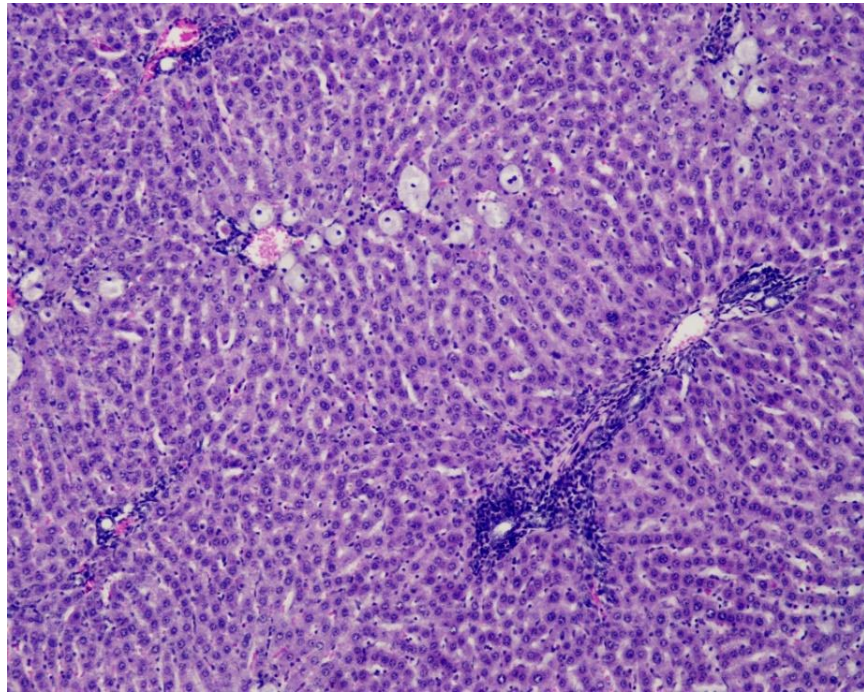


Рисунок 4.19 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $\text{CCl}_4$  гепатиту при корекції екстрактом шпинату через 7 днів експерименту.

Виражені прояви жирової дистрофії гепатоцитів центральної частини часточки, помірна периваскулярна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація судин портальних трактів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 100.

Через 10 днів від початку моделювання  $\text{CCl}_4$  гепатиту та при корекції екстрактом зі шпинату листя в печінці спостерігалось збереження часточкової структури та балкової організації гепатоцитів. У клітинах залишались збереженими ядра та міжклітинні контакти (рис. 4.20).

Центральні вени залишались дещо розширеними із незначною кількістю еритроцитів. Просвіти синусоїдів добре візуалізувались, значна кількість еритроцитів вказувала на помірно виражені застійні явища. Лімфо-гістіоцитарна інфільтрація судин портальних трактів дещо зменшувалась.

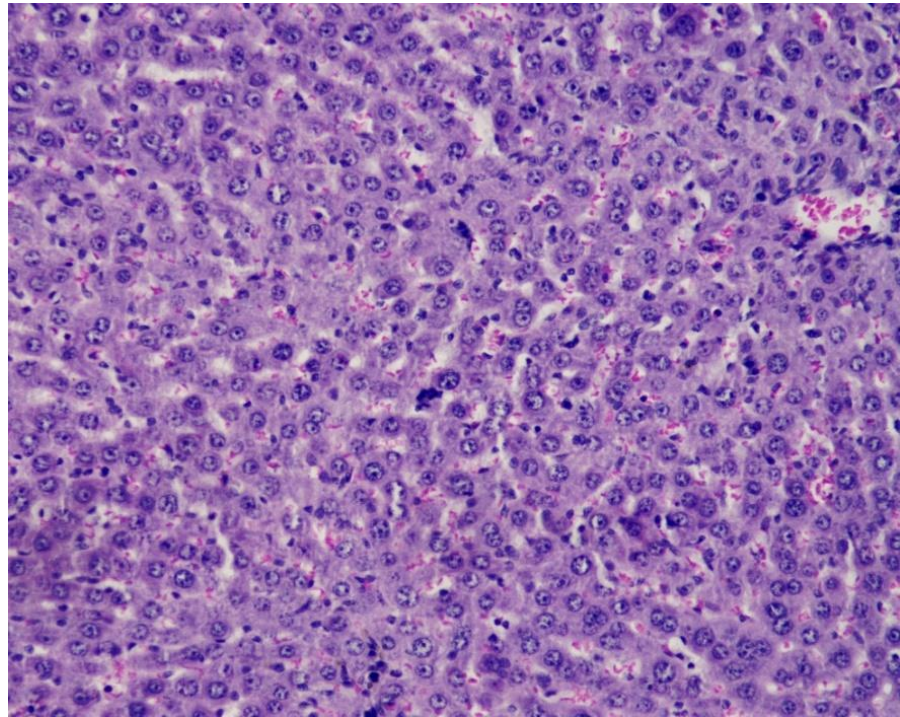


Рисунок 4.20 – Структура печінки тварини при моделюванні гострого  $\text{CCl}_4$  гепатиту при корекції екстрактом шпинату через 10 діб експерименту. Повнокров'я центральних вен та синусоїди. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200.

Таким чином встановлено, що при моделюванні  $\text{CCl}_4$  гепатиту протягом 10 діб уже через 4 доби виявлено характерні прояви порушення структурної організації часточки: виражену характерну жирову дистрофію гепатоцитів централобулярних та перипортальних ділянок, масивну лімфо-гістіоцитарну інфільтрацію судин перипортальних трактів. Через 7 діб розвитку токсичного гепатиту частково зменшуються дистрофічні прояви гепатоцитів у різних ділянках часточки, через 10 діб – помірно зменшується лімфо-гістіоцитарна інфільтрація.

При корекції токсичного ураження печінки після застосування силімарину позитивна динаміка відновлення спостерігається уже через 4 доби і проявляється вираженим зменшенням жирової дистрофії гепатоцитів. Через 7 та 10 діб візуалізується найкраща динаміка зменшення лімфо-гістіоцитарної інфільтрації.

При корекції токсичного ураження печінки щурів густим екстрактом зі шпинату городнього листа позитивна динаміка зменшення ушкодження гепатоцитів також проявляється через 4 доби, проте вона є менш вираженою. Через 10 діб експерименту на тлі корекції дослідним екстрактом у печінці залишаються прояви застою по системі портальної вени.

Отже, проведені морфо-функціональні дослідження структурної організації печінки підтвердили гепатотропність тетрахлорметану саме до цього органу та дозволили відмітити позитивний вплив на нього силімарину та ГЕШЛ. Однак, досліджуваний нами екстракт за ефективністю дещо поступався відомому гепатопротекторному засобу силімарину, але протягом 10-и денного його застосування нами відмічено як нормалізацію біохімічних показників у організмі щурів, так і частково відновлення структурної організації печінки. Це зумовлює доцільність його подальшого вивчення для підтвердження гепатопротекторних та антиоксидантних властивостей.

Отримані у даному розділі результати дозволили зробити наступні висновки:

1. Встановлено, що ураження печінки щурів тетрахлорметаном призводить до активації окиснювальних процесів в організмі, зокрема ліпопероксидації, що проявляється збільшенням у досліджуваних тканинах проміжних ТБК-активних продуктів, а також активації процесів модифікації протеїнових молекул. Густий екстракт зі шпинату городнього листа проявив ефективний вплив на показники вільнорадикальних процесів, що підтверджувалось зниженням вмісту ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у сироватці крові та печінці щурів.

2. В умовах тетрахлорметанового гепатиту зафіксовано зниження активності антиоксидантної системи, на що вказує зниження супероксиддисмутазної, каталазної активності та вмісту відновленого глутатіону в досліджуваних тканинах щурів. Густий екстракт зі шпинату

городнього листя призвів до відновлення вказаних показників, що підтверджує його антиоксидантні властивості.

3. Ураження печінки щурів тетрахлорметаном призводить до зміни проникності плазматичних мембран гепатоцитів, на що вказує підвищення у сироватці крові активності амінотрансфераз та гама-глутамілтранспептидази. Відмічено зміну проникності мембран еритроцитів, що підтверджується збільшенням еритроцитарного індексу інтоксикації. Доведено позитивний вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя на показники цитолізу в ураженому організмі.

4. Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя призвело до зниження проявів ендогенної інтоксикації. На це вказує зменшення вмісту молекул середньої маси обох фракцій, які є маркерами даного процесу. Співставлення ефективності застосування силімарину та екстракту зі шпинату городнього листя підтверджує його коригуючі властивості, які практично знаходяться на рівні затосованого препарату порівняння.

5. В умовах тетрахлорметанового ураження печінки щурів виявлено прогресуюче порушення жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій печінки тварин, яке наростало до кінця експерименту. Використаний густий екстракт зі шпинату городнього листя проявив позитивний вплив на відновлення даних функцій в організмі уражених тварин, про що свідчить збільшення об'єму і швидкості секреції жовчі, зменшення вмісту жовчних кислот в сироватці крові та збільшення їх у жовчі, а також зниження вмісту загального білірубіну в сироватці крові уражених тетрахлорметаном тварин.

6. Проведені морфо-функціональні дослідження структурної організації печінки підтвердили гепатотоксичність тетрахлорметану. Через 10 діб моделювання гострого CCL<sub>4</sub> гепатиту в печінці спостерігались помірні застійні явища в центральних венах та централобулярних ділянках у вигляді периваскулярного набряку. У гепатоцитах виявлялись прояви розвитку білкової дистрофії. У портальних трактах серед лімфо-гістіоцитарного інфільтрату візуалізувалась значна кількість гепатоцитів із вираженою жирною

дистрофією. При корекції токсичного ураження печінки щурів густим екстрактом зі шпинату городнього листя відмічалась позитивна динаміка зменшення ушкодження гепатоцитів, яка проявлялась уже через 4 доби, проте вона є менш вираженою, ніж після застосування силімарину.

Результати, що наведені у розділі, опубліковано у наукових працях автора [3, 5, 8, 10, 14, 15 додатку А].



## РОЗДІЛ 5

### ДОСЛІДЖЕННЯ АНАБОЛІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СУХОГО ЕКСТРАКТУ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ НА МОДЕЛІ ХАРЧОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ У ЩУРІВ

У науковій літературі є дані про те, що практично кожне відхилення у функціональному стані організму спричиняє різноманітні зміни в метаболізмі протеїнів. Порушення механізмів біосинтезу протеїнів та різних рівнів регуляції активного метаболізму може бути пусковим фактором у генезі багатьох патологічних процесів і захворювань, а також супровідних симптомів і синдромів [173].

Незаперечним фактом є те, що стресові ситуації для організму, зокрема гострі (гепатит, отруєння, інфаркт міокарду) та хронічні (аутоімунні, ниркова недостатність, цироз печінки) захворювання внутрішніх органів і систем різноманітної етіології призводять до гіпопротеїнемії, і як наслідок – функціональних та органічних порушень. Відомо, що протеїни скелетних м'язів і частково протеїни вісцеральних органів при стресі піддаються деструкції та подальшому використанні в інших органах. Вченими розраховано, що в нормі протеїнових ресурсів організму людини без поповнення може вистачити на 3-4 дні, а при вираженому стресі – всього на декілька годин [59].

З метою відновлення протеїнового балансу під час таких станів необхідно по-перше – адекватне надходження до організму ззовні амінокислот та інших біологічно активних речовин та амінокислот-коректорів протеїнового обміну, а по-друге – використання лікарських засобів, здатних стимулювати синтез протеїнів, тобто чинити анаболічну дію [219, 226, 340].

З метою стимуляції процесів регенерації та синтезу протеїнів використовують стероїдні анаболічні засоби, дія яких спрямована на прискорення оновлення й утворення структурних частин клітин і тканин, у першу чергу крові і м'язів [58, 84, 335]. Проте, дані гормональні засоби викликають багато побічних ефектів, тому в останні десятиріччя багато уваги

стали приділяти пошуку анаболічних засобів природного походження, особливо з рослин [70].

Однією з патологічних моделей, що використовуються під час доклінічних досліджень із метою оцінки анаболічної активності, є харчова депривація [173, 181, 221]. При повному голодуванні у щурів спостерігаються порушення метаболічних процесів: пригнічення анаболізму та генералізоване підвищення катаболізму протеїнів. Це клінічно проявляється симптоматичним комплексом, який характеризується різким схудненням, збудженням, а потім пригніченням, зниженням діурезу, негативним азотистим балансом [55, 76]. Неминучі зміни у функціонуванні органів і тканин при голодуванні викликають перебудову метаболізму клітини і перехід на ендогенне харчування. Реакція тварин на дію харчової депривації значною мірою залежить від початкової маси, віку та ступеня метаболічних процесів у тканинах і органах, які спрямовані на забезпечення гомеостазу та адаптації за дії екстремального фактору. Однак встановлено, що повне харчове голодування протягом декількох діб призводить до пригнічення механізмів біосинтезу протеїнів і порушення різних рівнів регуляції протеїнового обміну [55].

Даний розділ дисертаційної роботи присвячений дослідженню анаболічних властивостей сухого екстракту зі шпинату городнього листя на моделі харчової депривації у щурів, так як даний екстракт містить значну кількість біологічно активних речовин і має широкий спектр фармакологічної активності, в тому числі впливає на обмінні процеси, одним із аспектів яких є протеїновий обмін.

Дослідження фармакологічної корекції порушень протеїнового обміну на моделі харчової депривації проводили на білих щурах, які протягом 7 діб знаходилися в умовах абсолютного харчового голодування при достатньому доступі води. Для оцінки анаболічної активності сухого екстракту шпинату городнього листя (СЕШЛ) експериментальних тварин розподілили на 3 групи: перша — контрольна — тварини в умовах повного голодування, друга — тварини, що перорально отримували СЕШЛ дозою 100 мг/кг [302], третя —

тварини, яким перорально вводили референс-препарат — калію оротат (КО) дозою 100 мг/кг [173].

СЕШЛ отриманий у Національному фармацевтичному університеті на кафедрі хімії природних сполук. Технологія його виготовлення та визначення діючих речовин, зокрема вміст протеїнів та вільних амінокислот, були проведені під керівництвом проф. Журавель І. О.

Всі подальші дослідження з вивчення анаболічних властивостей сухого екстракту зі шпинату городнього листа (СЕШЛ) проводили на моделі 7-денної харчової депривації у щурів.

### 5.1 Вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листа на морфометричні показники у щурів за умов голодування

Для дослідження впливу СЕШЛ на морфометричні показники щурів за умов харчової депривації та після застосування коригуючих чинників у експериментальних тварин усіх груп у перший день дослідження визначали загальну масу тіла й масу окремих органів (печінки, серця, лівої та правої нирок) та протягом 7 діб оцінювали їх динаміку. Евтаназію тварин проводили на 24 годину, 2-гу, 3-ю, 5-ту та 7-му доби від початку голодування з дотриманням усіх правил роботи з хребетними тваринами [245].

Маса тіла експериментальних тварин до голодування в усіх групах знаходилась в межах 189,3 – 197,8 г. Аналіз результатів впливу харчової депривації та коригуючих чинників на масу тіла тварин наведено у табл. 5.1.

Голодування щурів протягом 7 днів призвело до зниження маси тіла тварин на 37,8 г. Отже, можна припустити, що голодування призводить до генералізованого катаболізму. При цьому зниження загальної маси тіла здійснюється, в першу чергу, за рахунок жирової тканини та розпаду протеїнів скелетної мускулатури, що деякий час сприяє збереженню маси життєво важливих органів (серця, головного мозку) [173, 295].

У групі тварин, які на тлі голодування отримували СЕШЛ, зниження маси тіла було значно меншим і становило 18,3 г у кінці дослідження. При цьому у тварин, які протягом 7 днів отримували СЕШЛ в дозі 100 мг/кг на фоні повного голодування, дефіцит маси був у 2,1 раза нижчим, ніж у щурів контрольної групи. Після застосування тваринам, які голодували 7 днів, калію оротату, маса тіла знижувалась ще менше і зниження становило 16,6 г. Дефіцит маси тіла у цих тварин у 2,3 раза нижчий, ніж у щурів контрольної групи.

Таблиця 5.1 – Динаміка маси тіла щурів (г) за харчової депривації та при застосуванні СЕШЛ та КО ( $M \pm m$ ;  $n=108$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	197,83±3,45	189,33±3,34	195,16±2,23
1 доба голодування	195,33±3,79	187,16±3,05	193,33±2,18
<i>приріст/втрата, г</i>	-2,5	-2,1	-1,8
2 доба голодування	187,66±3,32	182,33±3,31	188,00±2,38
<i>приріст/втрата, г</i>	-10,2	-7,0	-7,1
3 доба голодування	176,50±3,42*	175,17±3,78	182,33±2,51*
<i>приріст/втрата, г</i>	-21,3	-14,2	-12,8
5 доба голодування	166,33±3,47*	172,50±3,43*	179,00±2,35*.#
<i>приріст/втрата, г</i>	-31,5	-16,8	-16,1
7 доба голодування	160,00±4,06*	171,00±3,01*	178,50±1,99*.#
<i>приріст/втрата, г</i>	-37,8	-18,3	-16,6

Примітка: Тут і в наступних таблицях розділу \* - вірогідні зміни між показниками у щурів до голодування та в динаміці голодування; # - вірогідні зміни між показниками у щурів за добового голодування та показниками у щурів, які отримували коригуючі чинники

Експериментально встановлено, що в умовах голоду в групах тварин, які отримували СЕШЛ і референс препарат — КО, відбувалося збільшення загальної маси тіла по відношенню до контрольної групи.

У експериментальних тварин було відібрано окремі органи для визначення їх мас. Досліджена маса таких органів, як печінка, серце, ліва та права нирки.

Маса печінки в усіх групах піддослідних тварин до голодування знаходилась в межах 3,72 – 3,8 г. На 7-му добу харчової депривації у групі щурів, які голодували протягом усього періоду, спостерігалось вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження її маси на 9 % в порівнянні з масою до голодування. У табл. 5.2 наведено динаміку впливу харчової депривації та досліджуваних засобів на масу печінки тварин.

Таблиця 5.2 – Динаміка маси печінки щурів (г) за харчової депривації та при застосуванні СЕШЛ та КО ( $M \pm m$ ;  $n=108$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	3,79±0,11	3,72±0,09	3,80±0,06
1 доба голодування	3,72±0,12	3,68±0,07	3,77±0,06
<i>приріст/втрата, г</i>	- 0,07	-0,04	-0,03
2 доба голодування	3,63±0,11	3,63±0,07	3,71±0,03
<i>приріст/втрата, г</i>	- 0,16	-0,09	-0,09
3 доба голодування	3,57±0,10	3,56±0,05	3,68±0,02
<i>приріст/втрата, г</i>	- 0,21	-0,16	-0,12
5 доба голодування	3,52±0,09	3,58±0,07	3,70±0,02
<i>приріст/втрата, г</i>	- 0,27	-0,14	-0,10
7 доба голодування	3,45±0,07*	3,57±0,06	3,68±0,02 <sup>#</sup>
<i>приріст/втрата, г</i>	- 0,34	-0,15	-0,12

Після застосування СЕШЛ та КО в дозах 100 мг/кг спостерігався позитивний вплив даних чинників на масу печінки тварин, які піддавались харчовій депривації, хоча до вірогідних ( $p \leq 0,05$ ) змін призвів лише КО на 7-му добу дослідження.

Зважування серця визначило вагу даного органу в усіх групах тварин, яка була в межах від 0,345 до 0,36 г. У тварин, які піддавались тільки харчовій депривації, спостерігалось незначне зниження його маси, яке склало 5 % (7-ма доба) в порівнянні з масою до голодування. Нижче, у таблиці 5.3, наведено аналіз результатів впливу харчової депривації та коригуючих чинників на масу серця тварин.

Таблиця 5.3 – Динаміка маси серця щурів (г) за харчової депривації та при застосуванні СЕШЛ та КО ( $M \pm m$ ;  $n=108$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,345±0,008	0,360±0,007	0,350±0,009
1 доба голодування	0,343±0,007	0,358±0,006	0,347±0,009
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,002	-0,002	-0,003
2 доба голодування	0,339±0,008	0,356±0,007	0,346±0,009
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,004	-0,004	-0,004
3 доба голодування	0,335±0,007	0,353±0,00	0,349±0,009
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,010	-0,007	-0,001
5 доба голодування	0,333±0,006	0,351±0,007	0,351±0,009
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,012	-0,009	+0,001
7 доба голодування	0,328±0,006	0,354±0,007 <sup>#</sup>	0,350±0,009
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,017	-0,006	0

Експериментально встановлено, що в умовах харчової депривації в групах тварин, які отримували СЕШЛ в дозі 100 мг/кг та референс препарат – калію

оротат, відбувалося збільшення маси серця по відношенню до контрольної групи. Окрім того, до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) збільшення маси серця призвів СЕШЛ на 7-му добу дослідження і дефіцит маси був у 2,8 раза нижчим, ніж у щурів контрольної групи.

Нами проведено дослідження впливу харчової депривації на масу нирок у групі щурів, які голодували протягом усього періоду без використання коригуючих чинників. На 7-му добу дослідження аналіз результатів показав незначне зменшення маси лівої нирки на 2,9 % в порівнянні з масою до голодування. Результати впливу харчової депривації та досліджуваних засобів на масу лівої нирки щурів наведено у табл. 5.4.

Таблиця 5.4 – Динаміка маси лівої нирки щурів (г) за харчової депривації та при застосуванні СЕШЛ та КО ( $M \pm m$ ;  $n=108$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,348±0,009	0,352±0,010	0,358±0,006
1 доба голодування	0,346±0,009	0,351±0,009	0,357±0,005
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,002	-0,001	-0,001
2 доба голодування	0,344±0,008	0,350±0,010	0,359±0,004
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,004	-0,002	+0,001
3 доба голодування	0,342±0,008	0,353±0,009	0,360±0,005
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,006	+0,001	+0,002
5 доба голодування	0,340±0,007	0,355±0,009	0,361±0,006
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,008	+0,003	+0,003
7 доба голодування	0,338±0,007	0,353±0,010	0,362±0,005 <sup>#</sup>
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,010	+0,001	+0,004

Також, незначне зменшення маси правої нирки у групі щурів, які піддавались тільки харчовій депривації, спостерігалось на 7-му добу

дослідження і склало 3,8 % в порівнянні з масою до голодування. Аналіз результатів впливу харчової депривації та коригуючих чинників на масу правої нирки піддослідних щурів наведено у табл. 5.5.

Введення тваринам, що піддавались харчовій депривації протягом 7 діб, досліджуваного екстракту та референс препарату призвело до позитивного впливу даних засобів на масу лівої та правої нирок тварин. Спостерігався нижчий дефіцит маси нирок, ніж у щурів контрольної групи, але до вірогідних ( $p \leq 0,05$ ) змін призвів лише вплив референс препарату на масу лівої нирки в кінці терміну дослідження (7-ма доба).

Таблиця 5.5 – Динаміка маси правої нирки щурів (г) за харчової депривації та при застосуванні СЕШЛ та КО ( $M \pm m$ ;  $n=108$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,338±0,010	0,358±0,010	0,353±0,012
1 доба голодування	0,336±0,009	0,358±0,010	0,352±0,013
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,002	0	-0,001
2 доба голодування	0,334±0,009	0,358±0,008	0,353±0,010
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,004	0	0
3 доба голодування	0,330±0,008	0,357±0,008	0,356±0,011
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,008	-0,001	+0,003
5 доба голодування	0,328±0,008	0,352±0,008	0,355±0,012
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,010	-0,006	+0,002
7 доба голодування	0,325±0,006	0,352±0,009	0,353±0,009
<i>приріст/втрата, г</i>	-0,013	-0,006	0

Таким чином, при аналізі результатів дослідження було встановлено, що у тварин, які зазнали харчової депривації, розвивався дефіцит маси тіла, зменшувалась маса печінки, серця та обох нирок. Дослідження маси тіла та



органів щурів показало, що СЕШЛ, як і КО, виявляють протекторну активність, суттєво впливаючи на вагу тіла та органів тварин за харчової депривації, про що свідчить позитивна динаміка вище описаних показників.

5.2 Дослідження функціональної спроможності нирок та печінки в щурів за повного голодування та вплив на них сухого екстракту зі шпинату городнього листя

З метою вивчення функціональної спроможності нирок та печінки в щурів з харчовою депривацією та впливу на них СЕШЛ, у експериментальних тварин перед проведенням евтаназії визначали добовий спонтанний діурез, вміст сечовини та креатиніну у сироватці крові та сечі [65], а також вміст загального протеїну в сироватці крові, печінці та м'язах [18] до голодування і станом на 24 годину, 2-гу, 3-ю, 5-ту та 7-му доби голодування.

На підставі аналізу результатів, наведених у табл. 5.6, було встановлено, що у тварин групи контрольної патології протягом всього експерименту спостерігається зменшення добового спонтанного діурезу і до кінця дослідження він на 40 % був меншим, ніж перед початком голодування. В умовах харчової депривації СЕШЛ та КО сприяють збереженню діуретичної функції, про що свідчить позитивна динаміка даного показника у щурів після їх застосування. У щурів, які перебували на голоді та отримували СЕШЛ, за 7 діб експерименту добовий діурез зменшився на 13 % та у щурів, які отримували КО зниження добового діурезу становило 4 % від вихідних даних.

За голодування відмічено позитивний вплив екстракту на спонтанний добовий діурез, через 7 діб голодування даний показник вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищився щодо показника групи контрольної патології (на 27 %). Після застосування калію оротату тваринам, які знаходились на голоді, добовий діурез практично відновився і на 35 % перевищив рівень такого у контрольних тварин.

Функціональний стан нирок оцінювали за вмістом сечовини в сироватці крові. Сечовина є головним кінцевим продуктом азотистого обміну в організмі.

При позитивному азотистому балансі екскреція сечовини зменшується. При наявності анаболічного стимулу та позитивній відповіді вміст сечовини також знижується і в сироватці крові. Ці зміни є проявом покращення пластичних процесів в організмі [174].

Таблиця 5.6 – Вплив СЕШЛ та КО на добовий діурез (мл) тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=108)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	3,95±0,08	3,93±0,07	3,92±0,09
1 доба голодування	3,55±0,08*	3,83±0,08	3,83±0,09
<i>приріст/втрата, мл</i>	-0,4	-0,1	-0,09
2 доба голодування	3,13±0,05*	3,78±0,06#	3,82±0,07#
<i>приріст/втрата, мл</i>	-0,82	-0,15	-0,1
3 доба голодування	2,83±0,07*	3,43±0,04*#	3,73±0,07#
<i>приріст/втрата, мл</i>	-1,12	-0,5	-0,19
5 доба голодування	2,53±0,07*	3,28±0,03*#	3,65±0,06#
<i>приріст/втрата, мл</i>	-1,42	-0,65	-0,27
7 доба голодування	2,38±0,06*	3,43±0,04*#	3,77±0,07#
<i>приріст/втрата, мл</i>	-1,57	-0,5	-0,15

Збільшення вмісту сечовини під впливом харчової депривації може свідчити про підвищення протеїнової дисиміляції в період харчової депривації та розвиток ниркової недостатності в організмі за голодування.

Встановлено, що через 7 діб повного голодування у сироватці крові щурів вміст сечовини збільшується в 1,9 раза (табл. 5.7).

Схожа динаміка спостерігається і з вмістом сечовини у сечі щурів. Згідно таблиці 5.8, через 7 діб харчової депривації у сечі піддослідних тварин вміст сечовини збільшується в 2,5 раза.

У групі щурів, що голодували та отримували дослідний екстракт, вміст сечовини після 7 денного голодування збільшився у сироватці крові в 1,4 раза, у сечі – в 1,6 раза порівняно з показниками цієї групи тварин до голодування. Застосування СЕШЛ на моделі харчової депривації у щурів призвело до зниження вмісту сечовини у сироватці крові в 1,35 раза щодо показника контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ) і в сечі в 1,6 раза.

Таблиця 5.7 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст сечовини у сироватці крові (ммоль/л) тварин за 7-денної харчової депривації ( $M \pm m$ ;  $n=96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	5,88±0,17	5,88±0,17	5,88±0,17
1 доба голодування	6,20±0,12	6,14±0,08	6,17±0,12
2 доба голодування	6,83±0,13*	6,23±0,09#	5,97±0,06#
3 доба голодування	7,76±0,12*	6,75±0,13*,#	6,33±0,09#
5 доба голодування	9,87±0,17*	7,72±0,15*,#	7,12±0,12*,#
7 доба голодування	11,25±0,19*	8,32±0,17*,#	7,77±0,12*,#

Таблиця 5.8 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст сечовини (ммоль/л) в сечі тварин за 7-денної харчової депривації ( $M \pm m$ ;  $n=96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	351,0±7,75	351,0±7,75	351,0±7,75
1 доба голодування	517,9±12,20*	473,18±10,11*,#	438,20±9,05*,#
2 доба голодування	644,1±12,32*	580,08±11,71*,#	416,33±8,48*,#
3 доба голодування	760,6±14,72*	641,68±9,50*,#	586,95±12,25*,#
5 доба голодування	864,0±18,6*	671,98±12,73*,#	494,42±10,82*,#
7 доба голодування	870,4±8,30*	547,53±19,75*,#	440,03±9,85*,#

Аналогічне зниження вмісту сечовини спостерігалось у сироватці крові та сечі щурів після застосування калію оротату на тлі харчової депривації, але це зниження було більш вираженим.

Таким чином, СЕШЛ на моделі харчової депривації підвищує анаболічні процеси та пригнічує процеси катаболізму.

Доцільним дослідити рівень креатиніну в сироватці крові та сечі щурів, які піддавались харчовій депривації, так як креатинін виводиться з крові нирками і є одним із основних маркерів функціонального стану нирок.

Креатинін є продуктом метаболізму креатинфосфату, речовини, яка бере участь у механізмах швидкого забезпечення енергетичних потреб скорочення м'язів. Він утворюється в м'язах в результаті неферментативного розщеплення фосфатної групи від креатинфосфату, а також спонтанного перетворення креатину в креатинін. Креатинін синтезується і потрапляє в кров з постійною швидкістю, тому концентрація креатиніну в сироватці крові є відносно стабільною і зазвичай визначається об'ємом м'язової маси людини. Зменшення концентрації креатиніну є показовим індикатором, який свідчить про порушення функції нирок та зменшення м'язової маси – дистрофії, а також запальних та метаболічних станів із залученням до процесу м'язів [140].

Дослідження впливу харчової депривації на концентрацію креатиніну в сироватці крові щурів показало, що на 7-му добу дослідження спостерігалось вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження рівня даного показника на 21,8 % у порівнянні з рівнем до голодування (табл. 5.9).

Введення коригуючих чинників призвело до позитивного впливу їх на рівень креатиніну у сироватці крові щурів. Вірогідним ( $p \leq 0,05$ ) змінам сприяло використання СЕШЛ на 5-ту та 7-му доби дослідження й даний показник, відносно рівня контрольної патології, був вищим на 14,8 % та 20,8 % відповідно. На 7-му добу рівень даного показника після використання екстракту майже досяг (99 %) рівня тварин до голодування. Референс-препарат проявив більш ефективну дію та рівень креатиніну у сироватці крові, з 3-ої доби дослідження був навіть вищим, ніж у тварин до голодування.

Таблиця 5.9 – Вплив СЕШЛ та КО на концентрацію креатиніну (мкмоль/л) у сироватці крові тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=96)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	63,12±1,44	63,12±1,44	63,12±1,44
1 доба голодування	63,82±1,17	63,07±0,60	63,68±0,62
2 доба голодування	59,78±1,29	60,33±1,03	62,87±0,38
3 доба голодування	56,45±1,13*	60,06±1,13	63,70±0,69#
5 доба голодування	52,51±0,93*	61,88±0,67#	63,68±0,83#
7 доба голодування	49,33±1,22*	62,50±0,66#	64,95±0,74#

Нами було проведено визначення концентрації креатиніну у сечі тварин, що піддавались харчовій депривації протягом 7-ми діб. Встановлено вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження концентрації креатиніну у сечі тварин на 4,9 % у порівнянні з рівнем до голодування (табл. 5.10).

Таблиця 5.10 – Вплив СЕШЛ та КО на концентрацію креатиніну (мкмоль/л) у сечі тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=96)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	1310,87±13,06	1310,87±13,06	1310,87±13,06
1 доба голодування	1285,98±5,39	1298,57±4,44	1294,10±3,97
2 доба голодування	1275,53±3,40*	1285,78±2,28	1295,43±3,41#
3 доба голодування	1269,88±2,68*	1289,45±2,59#	1298,67±2,47#
5 доба голодування	1263,52±2,33	1302,57±5,53#	1304,58±3,27#
7 доба голодування	1246,66±2,22*	1299,77±3,88#	1309,33±2,12#

Після застосування обох коригуючих чинників спостерігалась позитивна динаміка їх впливу на концентрацію креатиніну у сечі піддослідних тварин. До вірогідних ( $p \leq 0,05$ ) змін призвело застосування СЕШЛ та КО на 3-тю, 5-ту, 7-му та 2-гу, 3-тю, 5-ту, 7-му доби відповідно. Ефективність відносно рівня контрольної патології для екстракту та КО на 7-му добу склала 4,1 % та 4,8 % відповідно. Рівень креатиніну у сечі піддослідних щурів після використання коригуючих чинників в останні терміни дослідження майже досяг рівня даного показника тварин до голодування.

Таким чином доведено, що СЕШЛ сприяє нормалізації концентрації креатиніну в сироватці крові та сечі щурів на тлі харчової депривації.

На нашу думку, присутність у складі СЕШЛ великої кількості протеїну, амінокислот, у тому числі незамінних, вітамінів, мікро- та макроелементів [122] сприятиме корекції обміну протеїнів в організмі, і таким чином, відновленню його пластичних, структурних, енергетичних та інших функцій [59].

Також, флавоноїди та органічні кислоти, які містяться у листі шпинату і для яких характерним є антиоксидантна, протизапальна, мембраностабілізуювальна та органопротекторна дія, сприятимуть відновленню функціональної активності життєвоважливих органів, зокрема печінки, яка виконує протеїнсинтезувальну функцію, і таким чином, теж сприяє відновленню протеїнових ресурсів в організмі [59].

Наступним етапом наших досліджень було визначення вмісту загального протеїну у сироватці крові, печінці та м'язах щурів на моделі харчової депривації. Результати, одержані при визначенні даного показника, свідчать про те, що дослідний екстракт стимулює анаболічні процеси в організмі.

У тварин контрольної патології вміст загального протеїну протягом 7 діб голодування знизився у сироватці крові на 10 % (табл. 5.11).

Таблиця 5.11 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст протеїну (г/л) у сироватці крові тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=96)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	64,42±1,28	64,42±1,28	64,42±1,28
1 доба голодування	63,42±0,34	63,18±0,44	63,42±0,49
2 доба голодування	63,03±0,49	62,95±0,64	63,90±0,40
3 доба голодування	61,56±0,37	62,88±0,58	64,63±0,28#
5 доба голодування	59,77±0,79*	63,93±0,39#	65,37±0,36#
7 доба голодування	58,10±0,81*	64,83±0,29#	66,02±0,43#

Під впливом СЕШЛ та КО відмічається вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) збільшення вмісту загального протеїну ( $p \leq 0,05$ ) в сироватці крові щодо групи контролю. На 7-му добу експерименту даний показник після застосування СЕШЛ підвищився на 10,4 % відносно рівня контрольної групи і дещо перевищував той рівень, який був у тварин до голодування. Референс-препарат проявив дещо більшу ефективність і даний показник досяг ще вищого рівня, ніж у тварин до голодування.

Аналогічні результати отримані при дослідженні вмісту протеїну в печінці та м'язах щурів за голодування.

Вміст протеїну в печінці тварин на тлі харчової депривації та без застосування коригуючих чинників після 7-ми діб експерименту зменшився на 12,5 % (табл. 5.12).

Таблиця 5.12 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст протеїну (г/100 г) у печінці тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=96)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	24,07±0,80	24,07±0,80	24,07±0,80
1 доба голодування	23,07±0,63	23,67±0,42	23,97±0,32
2 доба голодування	22,65±0,43	23,53±0,49	24,30±0,42#
3 доба голодування	22,73±0,58	24,18±0,36	24,53±0,47
5 доба голодування	22,17±0,33	24,03±0,43#	24,48±0,36#
7 доба голодування	21,05±0,37*	24,82±0,39#	25,15±0,51#

Застосування коригуючих чинників протягом 7-ми діб голодування тварин призвело до позитивного впливу на даний показник у печінці. В останні терміни дослідження після застосування СЕШЛ та КО вміст протеїну в печінці тварин, відносно рівня контрольної патології, вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищився на 15,6 % та 17 % відповідно і перевершував рівень даного показника до голодування.

Вміст протеїну в м'язах піддослідних тварин після 7-ми діб харчової депривації зменшився на 12,5 % (табл. 5.13).

Позитивні зміни відносно рівня даного показника спостерігались у м'язах експериментальних тварин після застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листя та калію оротату. Підвищення рівня протеїну в м'язах піддослідних тварин склало 14,7 % для СЕШЛ та 18,3 % для КО (відносно рівня контрольних тварин). Обидва коригуючих чинника перевищили рівень даного показника щурів до голодування.



Таблиця 5.13 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст білка (г/100 г) у м'язах тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=96)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	25,22±0,41	25,22±0,41	25,22±0,41
1 доба голодування	24,93±0,27	24,85±0,26	25,45±0,38
2 доба голодування	24,82±0,29	24,87±0,31	25,72±0,20
3 доба голодування	23,62±0,47	25,43±0,33#	26,33±0,39#
5 доба голодування	22,83±0,46*	25,62±0,30#	25,85±0,38#
7 доба голодування	22,08±0,59*	25,78±0,35#	26,68±0,24*#

Таким чином, провівши ряд досліджень можна стверджувати, що сухий екстракт зі шпинату городнього листя проявляє позитивний вплив на функціональну спроможність нирок та печінки в щурів за повного голодування протягом 7-ми діб. Про це свідчить підвищення добового діурезу, рівня сечовини та концентрації креатиніну піддослідних тварин, а також сприяння відновленню протеїнових ресурсів в організмі, зокрема у сироватці крові, печінці та м'язах.

5.3. Інтенсивність окиснювальних процесів та ендогенна інтоксикація у щурів в умовах повного голодування та вплив на них сухого екстракту зі шпинату городнього листя

Враховуючи те, що зміни у харчовому статусі потребують відносно швидкої адаптації метаболізму, важливим є дослідження регуляторних механізмів. При цьому печінка відіграє основну роль у регуляції прооксидантно-антиоксидантного балансу. У літературі є лише окремі дані щодо розвитку оксидативного дисбалансу за умов повного харчового голодування при достатньому доступі до води [23].

Виходячи з цього, було досліджено активність процесів ліпопероксидації, стан ензимної ланки антиоксидантної системи та розвиток ендогенної інтоксикації у щурів після 7-денного голодування, а також вплив на них СЕШЛ та КО.

Для вивчення інтенсивності окиснювальних процесів та ендогенної інтоксикації у тварин в умовах харчової депривації та впливу на них СЕШЛ визначено такі показники: вміст ТБК-АП, ЦП, КТ та вміст МСМ у тканинах і органах експериментальних тварин до голодування та станом на 1-шу, 2-гу, 3-ю, 5-ту та 7-му доби харчової депривації.

Одним із проміжних продуктів ліпопероксидації є ТБК-АП, підвищення яких в організмі супроводжується розвитком оксидативного стресу. Вміст даного показника у сироватці крові щурів за 7-ми денною харчовою депривацією підвищився на 76 % (табл. 5.14). Очевидно, це вказує на інтенсифікацію окиснювальних процесів, зокрема ліпопероксидації, в організмі щурів за харчової депривації.

Таблиця 5.14 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст ТБК-активних продуктів (мкмоль/л) у сироватці крові тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=96)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	1,44±0,03	1,44±0,03	1,44±0,03
1 доба голодування	1,65±0,02*	1,59±0,02*	1,51±0,04#
2 доба голодування	1,66±0,02*	1,58±0,02*	1,52±0,03#
3 доба голодування	1,88±0,02*	1,74±0,03*	1,64±0,03*#
5 доба голодування	2,30±0,04*	2,12±0,04*	1,83±0,03*#
7 доба голодування	2,54±0,06*	1,94±0,04*#	1,61±0,03*#

Використання досліджуваного екстракту та КО сприяло вірогідному ( $p \leq 0,05$ ) зниженню даного показника у сироватці крові тварин (відносно рівня контрольних тварин). На 7-му добу дослідження під впливом СЕШЛ та КО даний показник знизився в 1,3 раза та 1,6 раза відповідно. КО проявив себе дещо ефективніше і до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження рівня даного показника призвело його використання вже з 1-ої доби дослідження.

Схожа тенденція спостерігалася у печінці піддослідних тварин з харчовою депривацією. Дослідження вмісту ТБК-АП продуктів встановило підвищення даного показника у печінці голодуючих тварин на 84 % (табл. 5.15).

Таблиця 5.15 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст ТБК-активних продуктів (мкмоль/кг) у печінці тварин за 7-денної харчової депривації ( $M \pm m$ ;  $n=96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	14,27±0,45	14,27±0,45	14,27±0,45
1 доба голодування	15,26±0,23	14,92±0,31	14,88±0,26*
2 доба голодування	16,63±0,30*	16,28±0,24*	15,70±0,21*
3 доба голодування	20,87±0,54*	18,47±0,28*#	18,27±0,34*#
5 доба голодування	24,85±0,41*	18,52±0,27*#	17,37±0,30*#
7 доба голодування	26,32±0,40*	18,87±0,42*#	16,78±0,24*#

СЕШЛ призвів до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту ТБК-активних продуктів у печінці щурів на 3-тю, 5-ту та 7-му доби харчової депривації (відносно рівня контрольної групи). Вплив СЕШЛ в останній термін дослідження (7-ма доба) знизив рівень даного показника у 1,4 раза. Референс-препарат проявив схожу активність у ті ж самі терміни дослідження й на останню добу експерименту даний показник знизився у 1,6 раза (відносно рівня контрольних тварин).

У м'язах піддослідних тварин на тлі 7-ми денної харчової депривації вміст ТБК-АП збільшився на 82 %, що є аналогічним до збільшення даного показника у сироватці крові та печінці (табл. 5.16).

Таблиця 5.16 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст ТБК-активних продуктів (мкмоль/кг) у м'язах тварин за 7-денної харчової депривації ( $M \pm m$ ;  $n=96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	6,93±0,32	6,93±0,32	6,93±0,32
1 доба голодування	7,13±0,26	7,16±0,31	7,02±0,13
2 доба голодування	7,37±0,23	6,98±0,13	6,98±0,17
3 доба голодування	8,35±0,18*	7,65±0,18	7,13±0,14#
5 доба голодування	10,22±0,28*	8,35±0,21*	7,86±0,17#
7 доба голодування	12,60±0,32*	8,25±0,26*#	7,65±0,18#

До вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту ТБК-АП у м'язах піддослідних тварин з тижневою харчовою депривацією призвело застосування СЕШЛ на 7-му та КО на 3-тю, 5-ту та 7-му доби дослідження (відносно рівня контрольних тварин). В останній термін експерименту (7-ма доба) зниження вмісту даного показника для СЕШЛ склало 1,5 раза та 1,65 раза для КО.

Узагальнення результатів впливу СЕШЛ та КО на вміст ТБК-АП у сироватці крові, печінці та м'язах тварин на тлі харчової депривації відображено на рис. 5.1.

Отже, екстракт призвів до зниження вмісту ТБК-АП у всіх досліджуваних тканинах та органах, яке виявилось вірогідним ( $p \leq 0,05$ ). Препарат порівняння за ефективністю незначно перевищив СЕШЛ.

Дані, отримані на експериментальній моделі харчової депривації, вказують на те, що інтенсивність процесів ПОЛ залежить від тривалості аліментарного голодування. Активація процесів ліпопероксидації може бути зумовлена розвитком стресорної реакції, яка є відображенням всіх адаптаційних

реакцій організму, що виникають у відповідь на подразник (у нашому випадку голодування) та направлений на реалізацію пристосувальних механізмів. При цьому стресова реакція проявляється зростанням катехоламінів, які активують ПОЛ [114]. З іншого боку, зменшення доставки кисню до органів шлунково-кишкового тракту, зумовлює розвиток гіпоксії, при якій теж відбувається активація процесів ліпопероксидації [142].

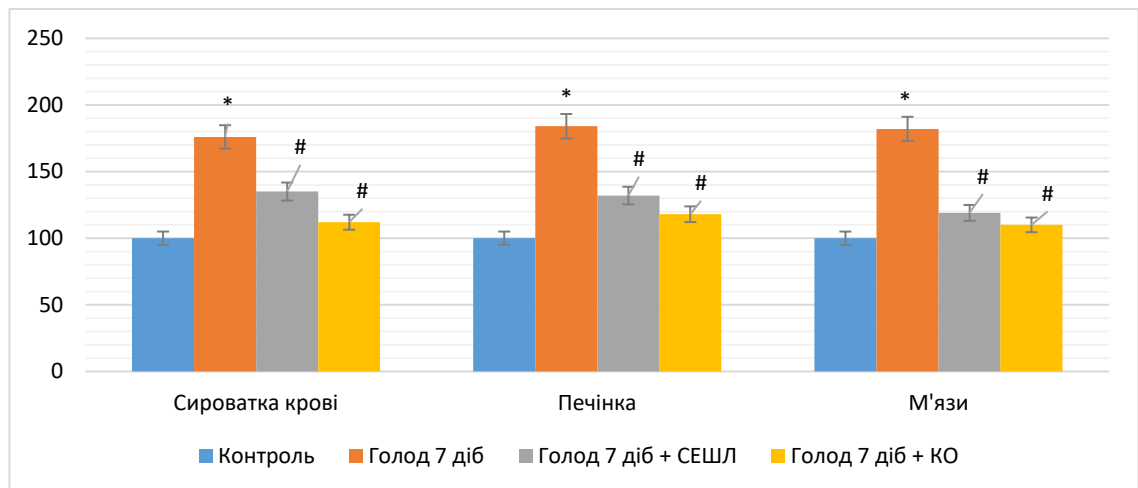


Рисунок 5.1 – Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові, печінці та м'язах щурів при голодуванні та після застосування СЕШЛ та КО, %

Примітка: Тут і в наступних рисунках розділу \*- вірогідні зміни ( $p \leq 0,05$ ) між показниками тварин усіх груп до голодування та через 7 діб голодування; # - вірогідні зміни ( $p \leq 0,05$ ) між показниками тварин контрольної патології та тваринами, які отримували дослідний екстракт та референс-препарат.

Вплив екстремальних чинників, включно голодування, призводить до зміщення рівноваги між про- та антиоксидантною системами в прооксидантний бік і розвитку так званого «оксидативного стресу». Тобто, за таких умов розвивається оксидативний стрес, який є результатом дисбалансу між надлишковим утворенням АФО та неспроможністю антиоксидантних систем забезпечити їх знешкодження [102].

Підвищення інтенсивності вільнорадикальних реакцій зумовлює зниження захисно-компенсаторних сил в ураженому організмі та неспроможність елімінувати з нього токсичні продукти [220].

Одним із основних антиоксидантів плазми крові є церулоплазмін – купрумвмісний протеїн альфа-2-глобулінової фракції крові. Особливістю цього протеїну є висока стабільність до токсичної дії АФО, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов їх інтенсивної генерації [93, 277].

Результати дослідження вмісту ЦП у сироватці крові щурів після 7-ми денної харчової депривації показали зниження вмісту даного показника на 13 % (табл. 5.17), хоча у перші терміни експерименту вміст даного протеїну незначно зростав (протягом 3 діб).

Таблиця 5.17 – Вплив СЕШЛ та КО на вміст церулоплазміну (г/л) у сироватці крові тварин за 7-денної харчової депривації (M±m; n=96)

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	3,40±0,17	3,40±0,17	3,40±0,17
1 доба голодування	3,61±0,12	3,58±0,08	3,52±0,10
2 доба голодування	3,82±0,08	3,73±0,09	3,45±0,08
3 доба голодування	3,78±0,09	3,68±0,11	3,47±0,10
5 доба голодування	3,28±0,09	3,53±0,07	3,35±0,12
7 доба голодування	2,97±0,12	3,43±0,08#	3,42±0,07#

Застосування СЕШЛ та КО в останній термін дослідження призвело до підвищеного ( $p \leq 0,05$ ) вмісту церулоплазміну в сироватці крові щурів на 13,5 % та 13,2 % відповідно, в порівнянні з рівнем контрольних тварин, що свідчить про антиоксидантні властивості даних коригуючих чинників.

Активация ПОЛ на фоні харчової депривації може зумовлювати зміну активності ензимної ланки системи антиоксидантного захисту, що було наступним етапом нашого дослідження.

Одним із могутніх антиоксидантних ензимів, який бере участь у знешкодженні токсичного для організму гідрогену пероксиду, є каталаза. Даний

ензим включається у реакції знешкодження АФО на термінальних етапах цього процесу [133].

Голодування супроводжується підвищенням каталазної активності у перші доби дослідження. Це, на нашу думку, є захисною реакцією організму на пригнічення активованих окиснювальних процесів при харчовій депривації, а потім поступовим її зниженням, що пригнічує процес знешкодження гідроген пероксиду, утвореного в результаті супероксиддисмутазної реакції та призводить до інтоксикації ним організму.

Встановлено, що наприкінці експерименту (7 доба) у тварин контрольної групи було зафіксовано вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження каталазної активності в усіх досліджуваних органах та тканинах. Дане зниження вказує, з одного боку, на активацію окиснювальних процесів в організмі, з іншого, на підвищення процесів катаболізму протеїнів за голодування.

У сироватці крові щурів, які голодували протягом 7 діб, каталазна активність знизилась у 1,4 раза (табл. 5.18).

Таблиця 5.18 – Вплив СЕШЛ та КО на каталазну активність (мккат/л) у сироватці крові тварин за 7-денної харчової депривації ( $M \pm m$ ;  $n=96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,26±0,02	0,26±0,02	0,26±0,02
1 доба голодування	0,28±0,01	0,28±0,01	0,26±0,01
2 доба голодування	0,32±0,01	0,30±0,01	0,28±0,01
3 доба голодування	0,33±0,01*	0,29±0,01	0,26±0,01#
5 доба голодування	0,21±0,009*	0,25±0,01#	0,26±0,01#
7 доба голодування	0,19±0,01*	0,25±0,01#	0,26±0,01#

Використання коригуючих чинників призвело до вірогідних ( $p \leq 0,05$ ) змін активності даного ензиму в сироватці крові щурів на тлі харчової депривації. СЕШЛ на 5-ту та 7-му доби дослідження сприяв підвищенню активності ензиму на 15,4 % та 23,1 % відповідно (відносно рівня контрольної групи). При чому, в останній термін дослідження каталазна активність була близькою до ефективності референс-препарату.

У печінці щурів, після 7-ми денної харчової депривації, спостерігалось зниження каталазної активності в 1,5 раза (табл. 5.19).

Таблиця 5.19 – Вплив СЕШЛ та КО на каталазну активність (мккат/кг) у печінці тварин за 7-денної харчової депривації ( $M \pm m$ ;  $n=96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,36±0,01	0,36±0,01	0,36±0,01
1 доба голодування	0,39±0,02	0,38±0,01	0,37±0,02
2 доба голодування	0,38±0,02	0,36±0,01	0,35±0,02
3 доба голодування	0,34±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01
5 доба голодування	0,29±0,01*	0,32±0,01	0,35±0,01#
7 доба голодування	0,24±0,01*	0,32±0,01#	0,36±0,01#

Вплив СЕШЛ та КО сприяв вірогідному ( $p \leq 0,05$ ) підвищенню рівня даного показника у печінці щурів в останні терміни дослідження. Екстракт на 7-му добу дослідження підвищив активність ензиму на 22,2 % по відношенню до групи контролю. Референс-препарат проявив дещо ефективніший вплив і значення даного показника досягло рівня вихідних даних (7-ма доба).

Каталазна активність у м'язах голодуючих тварин знизилась у 1,6 раза на 7-му добу експерименту (табл. 5.20).



Таблиця 5.20 – Вплив СЕШЛ та КО на каталазну активність (мккат/кг) у м'язах тварин за 7-денної харчової депривації ( $M \pm m$ ;  $n=96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,30±0,01	0,30±0,01	0,30±0,01
1 доба голодування	0,32±0,02	0,30±0,01	0,30±0,01
2 доба голодування	0,29±0,01	0,30±0,01	0,31±0,01
3 доба голодування	0,23±0,01*	0,24±0,01*	0,28±0,01#
5 доба голодування	0,22±0,01*	0,26±0,01*,#	0,30±0,01#
7 доба голодування	0,19±0,01*	0,26±0,01*,#	0,32±0,01#

До найбільшого впливу на рівень даного показника у м'язах піддослідних тварин на фоні харчової депривації призвело використання СЕШЛ та КО в останні терміни дослідження. Станом на 7-му добу дослідження, вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) підвищення рівня каталазної активності склало 23,4 % та 43,4 % для СЕШЛ і КО відповідно.

Таким чином відмічено, що СЕШЛ сприяє пригніченню окиснювальних процесів та процесів катаболізму протеїнів в організмі щурів на тлі 7-ми денної харчової депривації. Про це свідчить підвищення в останні терміни дослідження каталазної активності у сироватці крові, печінці та м'язах піддослідних тварин.

Відомо, що надлишок вільних радикалів на фоні неспроможності антиоксидантного захисту призводить до утворення великої кількості вторинних токсинів, внаслідок чого поглиблюється ендогенна інтоксикація організму [131]. На теперішній час розвиток ендогенної інтоксикації пов'язують із роллю в оцінці токсичності внутрішнього середовища організму МСМ [75].

Виходячи з вище сказаного, доцільним було дослідити у сироватці крові щурів з 7-ми денною харчовою депривацією вміст МСМ обох фракцій:  $SM_1$ , в

якому переважають ланцюгові амінокислоти та  $SM_2$ , в якому переважають ароматичні амінокислоти.

При вивченні вмісту показника  $SM_1$  (254 нм) у щурів на тлі харчової депривації виявлено, що максимальне їх підвищення було на 7-му добу дослідження і склало 39,8 % відносно рівня до голодування (табл. 5.21).

Застосування СЕШЛ призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту показника  $SM_1$  у сироватці крові щурів на 5-ту та 7-му доби дослідження і склало 9,3 % та 15,2 % відповідно (відносно рівня контролю). КО проявив дещо ефективніший вплив і призвів до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту даного показника з 2-ої доби експерименту, яке на 7-му добу склало 28,8 % відносно рівня контрольної групи.

Таблиця 5.21 – Вміст  $SM_1$  (ум.од/л) (254 нм) у сироватці крові щурів за 7-денної харчової депривації та після застосування СЕШЛ та КО ( $M \pm m$ ;  $n = 96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,118±0,004	0,118±0,004	0,118±0,004
1 доба голодування	0,125±0,003	0,121±0,002	0,120±0,001
2 доба голодування	0,142±0,002*	0,137±0,002*	0,128±0,002#
3 доба голодування	0,150±0,003*	0,141±0,003*	0,133±0,002*#
5 доба голодування	0,162±0,003*	0,151±0,002*#	0,136±0,002*#
7 доба голодування	0,165±0,002*	0,147±0,002*#	0,131±0,001*#

Дослідження вмісту показника  $SM_2$  (280 нм) встановило підвищення його рівня на 7-му добу експерименту у сироватці крові голодуючих тварин на 61,5 % (табл. 5.22).

Таблиця 5.22 – Вміст  $SM_1$  (ум.од/л) (280 нм) у сироватці крові щурів за 7-денної харчової депривації та після застосування СЕШЛ та КО ( $M \pm m$ ;  $n = 96$ )

Терміни дослідження	Групи тварин		
	Голод	Голод+екстракт	Голод+оротат калію
До голодування	0,148±0,002	0,148±0,002	0,148±0,002
1 доба голодування	0,152±0,002	0,149±0,002	0,149±0,003
2 доба голодування	0,158±0,002*	0,153±0,002	0,152±0,002
3 доба голодування	0,176±0,002*	0,171±0,002*	0,162±0,002*#
5 доба голодування	0,220±0,003*	0,195±0,002*#	0,164±0,002*#
7 доба голодування	0,239±0,003*	0,209±0,003*#	0,167±0,002*#

Після застосування досліджуваного препарату та референс-препарату спостерігалось вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження рівня показника  $SM_2$  у сироватці крові щурів. СЕШЛ проявив позитивний вплив на 5-ту та 7-му доби дослідження і зменшення відносно рівня контрольної групи склало 16,8 % та 20,3 % відповідно. Референс-препарат призвів до вірогідних ( $p \leq 0,05$ ) змін з 3-ої доби голодування й зменшення рівня даного показника в останні терміни дослідження (7-ма доба) склало 48,7 % відносно рівня контрольних тварин.

Отже, після застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листя спостерігається зниження активності процесів ліпопероксидації в організмі щурів за харчової депривації. Про це свідчить зниження вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові, печінці та м'язах тварин за 7-ми денної харчової депривації. Відмічена підвищена активність каталази та підвищений вміст церулоплазміну у сироватці крові щурів, що свідчить про антиоксидантні та анаболічні властивості досліджуваного нами екстракту. Крім того, застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листя призвело до зниження проявів ендогенної інтоксикації. На це вказує зменшення вмісту МСМ обох фракцій, які є маркерами даного процесу, що може бути проявом сорбтивних властивостей досліджуваного екстракту.

Наведені в даному розділі результати досліджень дозволили зробити наступні висновки:

1. Встановлено, що у щурів, які зазнали 7-денної харчової депривації, розвивався дефіцит маси тіла, зменшувалась маса печінки, серця та обох нирок. Дослідження маси тіла та органів щурів показало, що сухий екстракт зі шпинату городнього листя виявляє протекторну активність, суттєво впливаючи на вагу тіла та органів тварин за голодування й мало чим поступається за ефективністю референс-препарату калію оротату.

2. За умов 7-денної харчової депривації у щурів знижується функціональна спроможність нирок, що проявляється зменшенням добового діурезу, підвищенням вмісту сечовини у сироватці крові (в 1,4 раза) та сечі (в 1,6 раза), вірогідним зниженням вмісту креатиніну ( $p \leq 0,05$ ) та білка у сироватці крові та сечі, а також вмісту білка у м'язах, що може вказувати на посилення процесів катаболізму в організмі. Сухий екстракт зі шпинату городнього листя проявляє позитивний вплив на функціональну спроможність нирок, про що свідчить підвищення добового діурезу, рівня сечовини та підвищення концентрації креатиніну піддослідних тварин, а також відновлення протеїнових ресурсів в організмі, зокрема у сироватці крові, печінці та м'язах.

3. Встановлено позитивний вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на окиснювальні процеси в організмі щурів за голодування. Зокрема, застосування екстракту призвело до пригнічення активності ліпопероксидації, на що вказує зниження вмісту ТБК-активних продуктів як у сироватці крові (в 1,3 раза щодо контролю через 7 днів голодування), а також у печінці (в 1,4 раза) і м'язах (в 1,5 раза) голодуючих тварин. Одночасно відмічалась нормалізація показників антиоксидантного захисту (вмісту церулоплазміну у сироватці крові та каталазної активності у досліджуваних тканинах).

4. Застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листя призвело до зниження проявів ендогенної інтоксикації. На це вказує зменшення

вмісту МСМ обох фракцій, які є маркерами даного процесу, що може бути проявом сорбтивних властивостей досліджуваного екстракту.

Результати, що наведені у розділі, опубліковано у науковій праці автора [7 додатку А].

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У даний час проблема токсичних уражень печінки набуває все більшої актуальності у зв'язку з високими темпами розвитку хімічної та фармацевтичної промисловості, широким впровадженням їх продукції в усі сфери життя людини, зловживанням алкоголем і його сурогатами. Токсичні ураження печінки викликаються різними токсичними агентами – продуктами побутової хімії, пестицидами, алкоголем, лікарськими препаратами, шкідливими речовинами промислового походження. Незалежно від шляху потрапляння цих агентів у організм розвивається патологічний процес у печінці. Лікування пацієнтів із токсичним ураженням печінки є складним клінічним завданням, тому вивчення факторів, що провокують токсичні ураження печінки, а також типів та механізмів її ураження є важливим завданням сучасності [170].

Відсутність точних терапевтичних схем лікування захворювань печінки стимулює пошук нових фітохімічних речовин, які мали б значну гепатопротекторну активність з мінімальними системними побічними ефектами [241].

Значну увагу дослідники приділяють процесам вільнорадикального окислення, які контролюються антиоксидантною системою організму, оскільки їх інтенсифікація є ключовим механізмом, який бере участь у клітинній патології та апоптозі. У разі надмірного утворення АФО, процес вільнорадикального окислення перетворюється на каскад реакцій, що призводить до ліпідно-ліпідних та протеїно-ліпідних розладів, роз'єднуючих окисне фосфорилування та тканинне дихання і, як наслідок, розвитку серйозного дисбалансу клітинного метаболізму [258].

Ураження печінки ксенобіотиками відіграє значну роль у патогенезі захворювань різних органів, оскільки вона є місцем їх метаболізму, і саме там хімічні речовини концентруються і біоактивуються [246].

Розуміння механізмів ураження організму токсикантами є обов'язковим для розробки нових терапевтичних препаратів, тому важливим є створення ефективної моделі захворювання на тваринах, яка імітує патологію печінки людини. Одними з таких тварин є лабораторні щури [207].

Сьогодні універсальною моделлю патології клітинних мембран, що супроводжується порушенням в клітині оксидантно-антиоксидантного гомеостазу, вважається токсичний гепатит, викликаний введенням тетрахлорметану (CCl<sub>4</sub>) [21]. Метаболізм CCl<sub>4</sub> відбувається, головним чином, у клітинах печінки, а зміни симптомів, медичні показники та патологічна морфологія печінки, індуковані CCl<sub>4</sub>, подібні до тих, що викликаються деякими препаратами у людей (наприклад, парацетамолом) [279]. У результаті його метаболізму утворюються вільнорадикальні продукти, які порушують основні функції печінки та структуру її клітин [261].

Пошкодження клітин печінки призводить до зниження їх опірності, оскільки в них проникають усі токсичні речовини і, як наслідок, розвитку цитолітичного синдрому. Найчастіше даний синдром супроводжує онкологічні процеси, цироз та гепатити. Його можуть викликати віруси, вплив ліків і токсинів, а також тривале голодування [116].

Тонкий баланс між прооксидантними та антиоксидантними процесами в клітинах є важливою детермінантою різних фізіологічних процесів і підтримка цього балансу є головною метою так званої інтегрованої антиоксидантної системи [327]. Антиоксидантна система займає важливу роль у контролі і гальмуванні усіх етапів реакцій утворення вільних радикалів, починаючи від їх ініціації й закінчуючи утворенням гідроперекисів та малонового діальдегіду [93].

Для ефективного та довготривалого лікування хронічних розладів печінки, вимогою є використання лікарських засобів, які одночасно б проявляли виражений терапевтичний ефект, були б безпечними та з відсутніми або мінімальними побічними ефектами й негативним впливом на даний орган.

Важливим напрямком розвитку фармацевтичної промисловості сьогодення є лікування порушень протеїнового обміну, так як протеїни є компонентами патогенезу всіх без виключення патологічних процесів організму й займають центральне положення у здійсненні всіх процесів життєдіяльності. Зростаюча кількість захворювань шлунково-кишкового тракту, стресів, інфекцій, гепатитів, прийомів лікарських засобів, є пусковим фактором порушень протеїнового обміну [134], що стимулює пошук нових засобів для їх корекції.

Окрім захворювань різного генезу, особливістю розвитку порушень протеїнового обміну є кількісна або якісна протеїнова недостатність екзогенного походження: обмеження надходження екзогенних протеїнів при повному або частковому голодуванні, низька біологічна цінність харчових протеїнів, дефіцит незамінних амінокислот [134].

Для стимуляції процесів синтезу та регенерації протеїнів в організмі, тобто для прискорення оновлення та утворення структурних частин клітин і тканин, у першу чергу крові і м'язів, використовуються анаболічні засоби [84]. У клінічній практиці вони застосовуються для корекції протеїнового обміну при кахексії, астенії, інфекційних захворюваннях, у період відновлення після важких опіків і травм, в комплексній терапії ішемічної хвороби серця, міокардитів, хронічних захворювань легень і нирок [69].

З огляду на вищесказане, для експериментального відтворення порушень протеїнового обміну в організмі тварин, було обрано модель харчової депривації, так як вона рекомендується для оцінки можливого фармакологічного впливу лікарського засобу на показники протеїнового обміну [55]. Під впливом харчової депривації активується вільнорадикальне окиснення, що проявляється зростанням первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів та спостерігаються зміни активності ензимної ланки системи антиоксидантного захисту [23].

Аналіз літератури [205, 206, 244] показав, що триває безупинний пошук нових і ефективних засобів та методів, які спроможні корегувати порушення



протеїнового обміну і проявляли б нефропротекторні, антиоксидантні та сорбтивні властивості, а також відновлювали протеїнові ресурси в організмі, тобто проявляли анаболічну активність.

Наведені вище властивості характерні для засобів рослинного походження й інтерес до них зростає завдяки їх комплексній, м'якій і безпечній дії на організм. Вони проявляють антиоксидантні властивості завдяки наявності у них фенольних сполук (флавоноїди, флавоноли, катехіни тощо), вітамінів (С, Е), каротинів, мінеральних речовин [306], які здатні попереджувати вільнорадикальне окиснення біологічних структур організму, уповільнюючи розвиток патологічних змін [138].

Застосування рослинних препаратів для профілактики та лікування різних захворювань постійно розвивається у всьому світі. Особливо це стосується вмісту в них фенольних сполук, які, ймовірно, становлять найбільшу групу рослинних вторинних метаболітів [326] і є найкращим джерелом антиоксидантів [285].

Обмежена на фармацевтичному ринку України номенклатура природних та рослинних лікарських засобів із антиоксидантними властивостями стимулює пошук, розробку та впровадження у виробництво нових лікарських засобів даної групи.

Нашу увагу, як культивована рослина з потенційними антиоксидантними властивостями, привернув шпинат городній, який з давніх часів використовується у народній медицині за різних патологічних станів організму.

Зважаючи на інтерес медиків та фармацевтів до лікарських рослин, для досліджень ми обрали густий та сухий екстракти з листя шпинату городнього, які були запропоновані та вивчені на вміст БАР проф. Журавель І.О. на кафедрі хімії природних сполук НфаУ, що очолює проф. Кисличенко В.С.

Шпинат городній має різноманітний вміст біологічно активних речовин. Насамперед, це флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, вітаміни А, С, Е, К, мінеральні речовини, карбонові кислоти і [264, 300] макро- та мікроелементи (магній, марганець, залізо) [122, 296]. Завдяки вмісту флавоноїдів, в структурі

молекул яких є активні гідроксильні й карбонільні групи, та вмісту гідроксикоричних кислот, які здатні гальмувати процеси перекисного окиснення ліпідів, йому характерна антиоксидантна, протизапальна, гепатопротекторна та протипухлинна дії [232, 236, 268]. Додатково, він є джерелом хлорофілів та каротиноїдів, які необхідні для організму людини [296] та зумовлюють прояв антиоксидантного ефекту. Також, у шпинаті відмічено значний вміст карбонових кислот, які беруть участь в обміні вітамінів і жирів, є структурними компонентами фосфоліпідів, проявляють антисклеротичну активність, виконують енергетичну функцію тощо [144]. Завдяки наявності в ньому високого вмісту протеїнів і макро- та мікроелементів [68] можна також передбачити його позитивний вплив на процеси їх синтезу та регенерації, тобто анаболічні властивості.

З огляду на наведене вище, метою роботи було з'ясувати антиоксидантні, мембранопротекторні, протизапальні, гепатопротекторні властивості густого екстракту та анаболічні й антиоксидантні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листя в експерименті на тваринах зі змодельованими токсичними ураженнями печінки та за умов харчової депривації.

Першочерговим завданням дослідження було вивчення гострої токсичності густого та сухого екстрактів зі шпинату городнього листя, тому що визначення співвідношення безпечність/небезпечність є обов'язковою умовою лікарського препарату. Отримані результати дозволили оцінити й класифікувати дані препарати за ступенем їх токсичності. Встановлена відсутність їх токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам, що дає змогу віднести дані фармакологічні препарати до V класу токсичності – практично нетоксичних речовин.

Встановлені мінімально діючі дози препаратів: для ГЕШЛ – 150 мг/кг, яка була визначена на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів та для СЕШЛ – 100 мг/кг, яка була визначена в умовах харчової депривації щурів.

Дослідження специфічного впливу екстрактів на слизову оболонку шлунку, а саме ульцерогенної дії, встановили, що після внутрішньошлункового

введення екстрактів, у піддослідних тварин не спостерігається дефектів слизової оболонки шлунку, що вказує на відсутність ульцерогенних властивостей даних препаратів.

Вивчення протизапальної активності ГЕШЛ та СЕШЛ проводили на моделі карагенінового набряку лапи щурів. Результати проведених досліджень свідчать про помірну протизапальну активність досліджуваних екстрактів, ймовірно, завдяки пригніченню процесів утворення прозапальних цитокінів. Препаратом порівняння був обраний диклофенак натрію. У кінцеві терміни дослідження антиексудативну активність проявили обидва екстракти, проте більш виражена протизапальна активність спостерігалась у густого екстракту.

Проведені дослідження вказали на відсутність токсичної дії ГЕШЛ та СЕШЛ. Зважаючи на це, можна припустити, що досліджувані засоби проявляють коригувальну дію в дозах 150 мг/кг для густого екстракту, та 100 мг/кг для сухого екстракту. Безперечно, це досягається завдяки вмісту в шпинаті городньому великої кількості біологічно активних речовин.

Для підтвердження гепатопротекторних та антиоксидантних властивостей ГЕШЛ у дозі 150 мг/кг маси тіла тварин, була обрана модель тетрахлорметанового ураження печінки. Корекцію проводили водним розчином даного екстракту. Як референс-препарат був обраний еталонний гепатопротектор рослинного походження з розторопші плямистої силімарин, який тварини отримували у вигляді 1% крохмальної суспензії у дозі 100 мг/кг маси тіла.

На глибину розвитку процесів вільнорадикального окислення в організмі відповідають продукти розпаду перекисного окислення ліпідів, деякі з яких розглядаються як специфічні маркери окисного стресу [248]. Основними такими маркерами є гідропероксиди (дієнові кон'югати), які згодом перетворюються у вторинні (малоновий діальдегід) та третинні (шифові основи) продукти перекисного окислення ліпідів [234].

Підвищення вмісту проміжних продуктів ліпопероксидації протягом усього експерименту, а саме ТБК-активних продуктів, свідчить про

інтенсифікацію процесів перекисного окислення ліпідів внаслідок тетрахлорметанового ураження печінки тварин.

Отримані результати узгоджуються з даними досліджень інших авторів, в яких відмічено, що введення тетрахлорметану активує процеси вільнорадикального окислення в організмі експериментальних тварин [107, 187, 313].

Очевидно, що відновний метаболізм  $CCl_4$  до реактивних проміжних сполук ензимами P-450 є важливою передумовою його токсичності [274]. Вважається, що гепатотоксичність, спричинена  $CCl_4$ , включає дві фази. Перша фаза включає метаболізм  $CCl_4$  цитохромом P-450 до трихлорметильних радикалів ( $CCl_3$  та/або  $CCl_3OO$ ), які призводять до мембранного перекисного окислення ліпідів і, нарешті, до некрозу клітин. Друга фаза гепатотоксичності, викликана  $CCl_4$ , передбачає активацію клітин Купфера, що супроводжується виробленням прозапальних медіаторів. Крім того,  $CCl_4$ -індукована токсичність може стимулювати ендogenous реактивний кисень та види азоту, які також відіграють важливу роль у патогенезі гепатотоксичності [247].

Використана нами методика передбачає розвиток гострого гепатиту в печінці щурів через 4, 7 та 10 днів після введення тетрахлорметану, основою якого є переважно поширена жирова дистрофія, з подальшими локальними фокусами некрозу [48]. З огляду на вищесказане можна стверджувати, що інтенсивність процесів ПОЛ корелює зі ступенем руйнування мембран гепатоцитів.

Відомо, що продукти ПОЛ, спровоковані АФО, також діють як сильні окислювачі на протеїни, і, таким чином, можуть посилювати процеси окисної модифікації протеїнів (ОМП) [324].

Аналіз результатів досліджень встановив підвищення вмісту продуктів ОМП як основного, так і нейтрального характеру в сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном. Пояснюється це тим, що інтенсивність розвитку окислювального стресу залежить від стану антиоксидантного захисту, а при активації процесів вільнорадикального окислення ПОЛ є пусковим

механізмом. Окислення протеїнів відбувається на другому етапі вільнорадикальної патології і в цей процес включаються не тільки АФО, а й інші продукти, в тому числі ПОЛ [95]. Як наслідок, ці продукти здатні ковалентно взаємодіяти з окремими функціональними групами протеїнів, що приводить до їх полімеризації і руйнування амінокислотних залишків [7].

Вище описане взаємовідношення активності процесів ПОЛ та вмісту модифікованих протеїнових молекул відмічалось і в проведених нами дослідженнях, що свідчить про їх взаємозв'язок за розвитку патологічних станів.

Протидію негативному впливу вільнорадикального окислення на функціонування організму в цілому забезпечує система антиоксидантного захисту, завданням якої є зв'язування й модифікація вільних радикалів та попередження утворення й руйнування перекисів. Важливо, що дана система складається з ензимної та неензимної ланок. Особливу роль у функціонуванні природної антиоксидантної системи відіграють антиоксидантні ензими, до числа яких відносяться супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза [41].

Також, окремо можна виділити антиоксидант плазми крові церулоплазмін, який запобігає утворенню токсичного іона заліза, активації ПОЛ, захищає від пошкодження ліпідні структури мембран та бере участь у детоксикації супероксидних аніонів в позаклітинному середовищі [158].

Зважаючи на вищесказане, важливим було дослідити ензимну ланку антиоксидантної системи, зокрема активність супероксиддисмутази, каталази та вміст церулоплазміну. Дослідження вмісту відновленого глутатіону, який є одним з компонентів глутатіонової системи, обґрунтувало стан неензимної ланки системи антиоксидантного захисту.

Супероксиддисмутаза (СОД) є першим ензимом детоксикації та найпотужнішим антиоксидантом у клітині [255]. Зниження рівня активності даного ензиму у печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, спостерігалось у всі терміни дослідження. Максимальне зниження активності СОД відзначалось

на 10 добу експерименту і склало 39,7 % щодо рівня даного показника тварин контролю.

Зниження СОД активності може бути зумовлено збільшенням концентрації пероксиду гідрогену, накопиченням сполук, що можуть взаємодіяти з іонами металів в активному центрі ензимів або впливати на ступінь їх відновлення [101].

Оскільки підвищення в клітині концентрації пероксидів, що утворились внаслідок супероксиддисмутаційної реакції, становить для клітини не меншу небезпеку ніж збільшення супероксид-аніонів, необхідна їх постійна інактивація в реакції, що каталізується каталазою. Особливістю ензиму є те, що він проявляє як каталазну, так і пероксидазну активність [90] і її зниження підвищує вірогідність розвитку оксидативного стресу [301].

Токсичне ураження печінки тетрахлорметаном призвело до зниження активності каталази у досліджуваних тканинах, що вказує на пригнічення утворення даного ензиму в пошкодженій печінці.

Отримані нами результати досліджень узгоджуються з даними інших авторів [213, 218], які встановили зниження активностей ензиму за дії різних токсикантів.

Наступним етапом було дослідження вмісту в сироватці крові купрумвмісного протеїну з ензиматичною активністю – церулоплазміну, який подібно до СОД каталізує реакцію дисмутації, однак на відміну від неї, функціонує в крові та перехоплює АФО, запобігаючи ПОЛ клітинних мембран. Його розглядають як основний антиоксидант плазми крові, що зберігає свою стабільність до токсичного впливу АФО навіть за умов їх інтенсивної генерації [90]. Він також діє як транспортер іонів міді і він є донором міді для синтезу, що відповідає за тканинне дихання та енергетичний обмін, синтез гемоглобіну, процеси кровотворення [251]. Синтез церулоплазміну відбувається, головним чином, у клітинах печінки й даний протеїн виконує декілька функцій: проявляє фероксидазну активність, попереджує утворення вільних радикалів (антиоксидантна функція), бере участь в оксидативних процесах, включає в

процеси обміну Купруму біогенні аміни та оксид Нітрогену. Такі фактори, як інфекції, больові подразники та стрес спричиняють підвищення вмісту Купруму та, відповідно, церулоплазміну в крові [6].

Протягом усього експерименту встановлено прогресуюче зростання вмісту церулоплазміну в сироватці крові щурів після отруєння тетрахлорметаном. Скоріш за все, це відбувається за рахунок зміни катаболізму церулоплазміну, так як у нормі катаболізм даного ензиму проходить у гепатоцитах за допомогою нейрамінідази, яка здійснює його десіалювання до асіалоцерулоплазміну [282].

Дослідження вмісту одного з компонентів глутатіонової системи, а саме відновленого глутатіону, дало можливість оцінити статус неензимної ланки антиоксидантної системи. Як носій активної тіолової групи у залишку цистеїну він діє як антиоксидант. Також, глутатіон може безпосередньо взаємодіяти з АФО чи нітрогену й електрофілами та діяти як кофактор для різних ензимів [216]. Окрім даного неензимного компоненту АОС, який може існувати також у окисненій формі, глутатіонова система включає ензими глутатіоноксидазу та глутатіонредуктазу [166].

Результати визначення вмісту ВГ виявили його прогресуюче зниження у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, протягом усіх термінів дослідження. Очевидно, це відбувається внаслідок надлишкової кількості вільних радикалів в організмі уражених тварин, а також пов'язане з мобілізацією глутатіонової системи та зі збільшенням активності ензимів - постачальників NADPH. Відомо, що NADPH виступає як відновний еквівалент у процесі біосинтезу жирних кислот, а також відіграє роль у функціонуванні глутатіонової антиоксидантної системи, що забезпечує зниження ступеня окисного стресу [12]. Отримані дані узгоджуються з результатами авторів, де вказується, що тетрахлорметанове ураження печінки проявляється порушенням активності коферментів глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, а також зниженням концентрації ВГ [52].

Вище одержані дані засвідчують, що пригнічення антиоксидантної системи захисту та інтенсифікація вільнорадикальної оксидації є одними з вирішальних механізмів розвитку порушень при ураженні організму тетрахлорметаном.

Для корекції інтенсифікованих вільнорадикальних процесів у тварин, уражених тетрахлорметаном, було обрано ГЕШЛ. Шпинат містить у своєму складі значну кількість біологічно активних речовин з антиоксидантними властивостями, таких як флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, вітаміни та карбонові кислоти.

Застосування ГЕШЛ та референс-препарату силімарину призвело до позитивного впливу на вміст проміжних продуктів ліпопероксидації – ТБК-АП у сироватці крові та печінці уражених тетрахлорметаном щурів, із незначною перевагою після використання силімарину.

У сироватці крові тварин з модельованим гепатитом після використання густого екстракту на 10-ту добу експерименту спостерігалось зниження рівня ТБК-АП на 68 % щодо рівня уражених тварин. Референс-препарат силімарин призвів до зниження даного показника на 76% за таких самих умов.

Вплив екстракту та силімарину на даний показник в печінці щурів, уражених тетрахлорметаном (станом на 10-ту добу дослідження), призвів до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження рівня ТБК-АП на 104 % та 123 % відповідно (відносно рівня уражених тварин).

Використання ГЕШЛ призвело до вірогідного зниження ( $p \leq 0,05$ ) вмісту продуктів ОМП у сироватці крові та печінці щурів, причому ефективність його застосування найбільше проявилась наприкінці дослідження.

Отримані результати досліджень доводять, що ГЕШЛ характерні антиоксидантні властивості, які підтверджуються пригніченням окиснювальних процесів в організмі тварин за умов токсичного ураження печінки тетрахлорметаном.

Відмічене зниження активності ензимної та неензимної ланок ендогенної антиоксидантної системи захисту за токсичного гепатиту, свідчить про



виражений дисбаланс її функцій. Використання ГЕШЛ призвело до підвищення активності СОД у печінці експериментальних тварин, уражених тетрахлорметаном. Максимальне підвищення активності даного ензиму спостерігалось в останній термін дослідження (10-та доба) і склало 31,1 % для густого екстракту та 34,5 % для силімарину (відносно рівня уражених тварин).

Після використання досліджуваних препаратів активність каталази у сироватці крові та печінці щурів підвищувалась у всі терміни дослідження і на 7-му та 10-ту доби ефективність впливу екстракту на даний показник у сироватці крові була практично на одному рівні з ефективністю референс-препарату.

Застосування ГЕШЛ та силімарину призвело до зниження вмісту ЦП у сироватці крові уражених тетрахлорметаном тварин і вони проявили практично однакову ефективність в останні терміни дослідження. Відновленню активності глутатіонової системи сприяло застосування обох коригуючих чинників, про що свідчить підвищення вмісту ВГ у сироватці крові та печінці уражених тетрахлорметаном тварин.

Наступним важливим етапом досліджень було оцінити ступінь пошкодження структури мембран гепатоцитів у тварин, уражених тетрахлорметаном. На пошкодження структури мембран клітин печінки за умов дії токсикантів, вказує зміна активності органо- і органелоспецифічних ензимів у сироватці крові щурів, оскільки досліджувані ензими локалізуються в цитозолі та лізосомах гепатоцитів [74].

Як відомо, вміст цитозольних ензимів у сироватці крові та позаклітинному просторі тканин перебуває на відносно низькому рівні, але пошкодження плазматичних мембран або підвищення клітинної проникності призводить до ряду змін всередині клітини та завершується пошкодженням клітинних органел і виходом ензимів із цитозолу. Тому їх активність у цій тканині вказує на ступінь пошкодження мембран гепатоцитів [92].

Доцільним було дослідити зміну активності таких органоспецифічних ензимів, як АлАТ, АсАТ та ЛФ у сироватці крові уражених тетрахлорметаном

щурів, де спостерігалось вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) підвищення даних показників, а в гомогенаті печінки відмічено зворотні зміни, що свідчить про пошкодження плазматичних мембран гепатоцитів та підвищення їх проникності, а також про розвиток холестатичного синдрому [43].

ГГТП є наступним досліджуваним мікросомальним ензимом, підвищення активності якого спостерігається при ураженнях гепатобілярної системи, зокрема гепатитах, холестази, холангіті та жировому переродженні печінки [165].

Відмічено прогресуюче й значне (у 5,7 раза відносно норми) підвищення активності ГГТП у сироватці крові та її зниження (у 2 рази відносно норми) у гомогенаті печінки, уражених тетрахлорметаном тварин, на 10-ту добу дослідження.

Нами досліджено проникність мембран еритроцитів, так як за умов ураження організму гепатотропними токсикантами зазнають змін не тільки мембрани гепатоцитів, але й інші клітини організму. Важливим є визначення саме відсотку проникності мембран еритроцитів, так як він є одним з тестів, який відповідає за вираженість синдрому ендогенної інтоксикації та його підвищення може бути наслідком деструктивного впливу токсиканта на структурні компоненти клітинних мембран [9].

Встановлено прогресуюче збільшення відсотка проникності еритроцитарних мембран (ЕП) уражених токсичними дозами тетрахлорметану тварин на 35,5 % (10-та доба експерименту) відносно рівня інтактних тварин.

Наступним маркером ендогенної інтоксикації, з чітко вираженою біологічною активністю, є показник рівня молекул середньої маси (МСМ). При концентраціях, що перевищують фізіологічні, МСМ погіршують перебіг основного патологічного процесу, набуваючи роль вторинних токсинів, які мають негативний вплив на життєдіяльність організму [97]. Зростання їх вмісту, яке вказує на посилення катаболізму протеїнів, може свідчити про порушення структури мембран гепатоцитів та пригнічення детоксикаційної функції печінки [125].

При визначенні вмісту МСМ обох фракцій (СМ1 та СМ2) у сироватці крові щурів із тетрахлорметановим гепатитом, на 10-ту добу дослідження відмічено максимальне підвищення показника СМ1, в якому переважають ланцюгові амінокислоти і показника СМ2, в якому переважають ароматичні амінокислоти.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють зробити висновок, що інтенсифікація вільнорадикальної оксидації та пригнічення антиоксидантної системи організму є одними з основних механізмів розвитку порушень в організмі з тетрахлорметановим ураженням печінки, наслідком чого є розвиток деструктивних процесів та посилення ендогенної інтоксикації організму.

Після застосування ГЕШЛ відмічено зниження у сироватці крові та підвищення у печінці уражених тварин активності таких індикаторних ензимів як АлАТ, АсАТ та ЛФ. Дані результати припускають наявність у досліджуваного екстракту мембранопротекторних властивостей.

Після використання у тварин з тетрахлорметановим гепатитом ГЕШЛ, спостерігалось вірогідне зниження ( $p \leq 0,05$ ) у сироватці крові та печінці щурів активності ГГТП на 7-му та 10-ту доби дослідження, що підтверджує коригуючі властивості даного екстракту на процеси цитолізу печінкових клітин і виведення жовчі.

Досліджуваний екстракт проявив ефективний вплив на підвищення проникності еритроцитарних мембран (ЕП) у сироватці крові щурів з тетрахлорметановим ураженням. Із 7 доби експерименту проникність еритроцитарної мембрани вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) відновлювалась, на що вказує зниження величини ЕП.

Зафіксовано зниження ступеня ендогенної інтоксикації у тварин, уражених тетрахлорметаном, про що свідчить вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зменшення вмісту МСМ обох фракцій у сироватці крові щурів після корекції ГЕШЛ.

Нами проведені дослідження з вивчення впливу ГЕШЛ на показники жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій печінки щурів з тетрахлорметановим гепатитом. Після введення гепатотропного токсиканта спостерігалось зменшення об'єму та швидкості секреції жовчі, що свідчить про

порушення жовчовидільної функції печінки. Підвищення вмісту у сироватці крові загального білірубіну та жовчних кислот у цих же експериментальних тварин з тетрахлорметановим ураженням, вказує на порушення жовчоутворювальної функції печінки. Одним із механізмів прояву гепатопротекторної активності ГЕШЛ у даному експерименті було його сприяння нормалізації жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій печінки уражених тварин, про що свідчить збільшення швидкості секреції жовчі та її об'єму, зменшення вмісту жовчних кислот у сироватці крові та збільшення їх у жовчі, а також зниження вмісту загального білірубіну. Препаратом порівняння був обраний класичний жовчогінний засіб рослинного походження фламін, який незначно за ефективністю перевищував обраний нами екстракт.

Для підтвердження ефективності застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя ми провели морфологічне вивчення структури печінки тварин, уражених тетрахлорметаном.

Після ураження тварин  $CCl_4$  на 4-ту добу встановлено прояви гіаліново-крапельної та гідропічної дистрофії, на 7-му та 10-ту доби відмічено наростання дистрофічно-некротичних змін у гепатоцитах. Результати наших експериментів узгоджуються з результатами досліджень, в яких підтверджують розвиток токсичного гепатиту, який морфологічно проявляється дистрофією та некрозом більшої частини гепатоцитів [79].

При корекції токсичного ураження печінки досліджуваними засобами позитивна динаміка спостерігається уже через 4 доби і проявляється вираженим зменшенням жирової дистрофії гепатоцитів. За морфологічними даними найбільш виражену гепатопротекторну дію виявлено при використанні силімарину. Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя було менш ефективним, хоча також сприяло відновленню структурних компонентів ураженої печінки.

Наступним етапом нашої роботи було дослідження анаболічних властивостей сухого екстракту зі шпинату городнього листя на моделі харчової депривації у щурів.

Відомо, що пептиди і поліпептиди, а так само їх складні біохімічні комплекси виконують в організмі важливі функції: інформаційну (наприклад, в якості гормонів), рецепторну (протеїни - необхідний компонент рецепторів), каталітичну (ензими), структурну та ін. Звідси випливає, що порушення метаболізму протеїнів, амінокислот і нуклеїнових кислот супроводжується розладом як функцій фізіологічних систем, так і обміну інших речовин [150].

Аналіз літературних джерел свідчить, що одним з проявів печінкової недостатності є порушення протеїнового обміну [88]. Провокуючими чинниками є: недостатнє їх надходження в організм; порушення перетравлювання в шлунку, кишківнику та всмоктування амінокислот; порушення синтезу їх в організмі та виділення кінцевих продуктів обміну протеїнів – аміаку, сечовини, креатиніну, сечової кислоти; порушення обміну між печінкою і кров'ю; підвищена потреба під час вагітності, лактації, стресів та захворювань; порушення обміну амінокислот у органах і тканинах [86]. Окрему увагу при розвитку порушень протеїнового обміну приділяють саме утворенню АФО, так як вони відіграють важливу роль у механізмі розвитку даних порушень [23].

На прискорення утворення та оновлення структурних частин клітин і тканин, насамперед м'язової, спрямована дія анаболічних засобів, завдяки їх здатності до стимуляції процесів синтезу протеїну та його регенерації [86].

Доцільним також при порушеннях протеїнового обміну є використання рослинних анаболічних засобів, які містять фітоестрогени, ізофлавоноїди, флавоноїди, органічні кислоти, дубильні речовини, для яких характерною є протеїнсинтезуюча, антиоксидантна, протизапальна, мембраностабілізуюча та органопротекторна дії. Такі засоби, завдяки вмісту в них даних БАР, сприяють біосинтезу протеїнів та відновленню функціональної активності життєвоважливих органів, зокрема печінки, яка виконує протеїнсинтезуючу функцію [59].

Для імітації порушень протеїнового обміну була обрана модель харчової депривації щурів, так як вона є однією з тих патологічних моделей, що

використовується при проведенні доклінічних досліджень лікарських засобів з метою оцінки їх анаболічної активності [181].

Нами проведено дослідження анаболічних властивостей СЕШЛ на моделі харчової депривації у щурів. Референс-препаратом був обраний нестероїдний анаболічний засіб калію оротат (КО), який використовують у доклінічних дослідженнях як препарат порівняння для оцінки порушень протеїнового обміну та процесів метаболізму [173].

Харчова депривація протягом 7-ми діб призвела до зниження загальної маси тіла тварин на 37,8 грамів, що припускає розвиток генералізованого катаболізму при голодуванні. Також, у аналогічні терміни дослідження, відмічено зниження маси окремих органів, таких як печінка, серце, обидві нирки. Отримані результати узгоджуються з даними авторів [173], у дослідженнях яких відбувалось зниження загальної маси тіла і органів тварин за умов харчової депривації.

У тварин, які на фоні харчової депривації отримували СЕШЛ протягом 7-ми днів, дефіцит загальної маси тіла був значно меншим і становив 18,3 г в останній термін дослідження, що є у 2,1 раза нижчим, ніж у щурів контрольної групи. Після застосування КО за таких самих умов і в аналогічні терміни дослідження, дефіцит маси тіла був ще нижчим і становив 16,6 г, що у 2,3 раза менше, ніж у щурів групи контролю. Аналіз впливу досліджуваних засобів на масу печінки, серця й обох нирок за умов харчової депривації виявив їх позитивну динаміку, хоча результат не завжди був вірогідним. Вірогідні зміни ( $p \leq 0,05$ ) маси печінки, серця й нирок спостерігались лише в останній термін дослідження та лише для деяких органів й окремих препаратів. Однак, застосування СЕШЛ та КО суттєво вплинуло на масу тіла тварин та помірно на масу їх органів, що свідчить про їх протекторні властивості в умовах харчової депривації.

Окрім визначення впливу СЕШЛ на морфометричні показники щурів за умов харчової депривації, доцільним також було дослідити функціональну спроможність нирок та печінки піддослідних тварин, а саме – об'єм добового

спонтанного діурезу, вміст сечовини, концентрацію креатиніну та вміст загального протеїну.

Встановлено зменшення добового спонтанного діурезу у тварин контрольної патології протягом усього періоду дослідження, який на 7-му добу був на 40 % меншим, ніж до голодування. У тварин, які отримували досліджуваний екстракт та калію оротат протягом 7-ми днів харчової депривації, добовий діурез зменшився на 13 % та 4 % відповідно, в порівнянні з вихідними даними. Позитивна динаміка впливу сухого екстракту спостерігалась з 2-ої доби голодування, і до кінця дослідження він призвів до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) підвищення спонтанного діурезу на 27% в порівнянні з показником контрольної патології. Застосування КО в голодуючих тварин сприяло майже повному відновленню добового діурезу та даний показник перевищив рівень такого у контрольних тварин на 35 %. Це свідчить про те, що досліджуваним засобам властиве збереження діуретичної функції нирок щурів за умов голодування.

Наступним етапом було визначення вмісту сечовини в сироватці крові та сечі голодуючих тварин. Підвищене виділення сечовини, як головного азотистого компонента сечі та показника протеїнового обміну, спостерігається при посиленні процесів катаболізму протеїнів. Проявом покращення пластичних процесів в організмі є зниження виділення сечовини, яке можливе в період росту організму і під час прийому препаратів з анаболічною дією [164, 174].

В останні терміни дослідження (7-ма доба) на тлі харчової депривації, у щурів відмічено збільшення вмісту сечовини у сироватці крові та сечі у 1,9 та 2,5 раза відповідно. Застосування СЕШЛ призвело до менш вираженого зростання вмісту сечовини у досліджуваних тканинах, і воно склало 1,4 раза у сироватці крові та 1,6 раза у сечі. Після використання протягом 7-ми діб досліджуваного екстракту, вміст сечовини у сироватці крові голодуючих тварин знизився в 1,35 раза і в сечі в 1,6 раза (щодо показника контрольної патології). Застосування КО у голодуючих тварин призвело до аналогічних результатів,

хоча з більш вираженим ефектом. Вище описані результати підтверджують, що СЕШЛ підвищує анаболічні процеси та пригнічує процеси катаболізму у щурів за голодування.

На моделі харчової депривації відмічено вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження рівня креатиніну в сироватці крові та сечі тварин, що свідчить про порушення функції нирок та зменшення м'язової маси, так як креатинін виводиться з крові нирками та є одним із головних маркерів їх функціонального стану [140].

Використання СЕШЛ призвело до нормалізації концентрації креатиніну голодуючих тварин в обох досліджуваних рідинах, на 7-му добу дослідження рівень даного показника майже досяг такого до голодування. Референс-препарат проявив аналогічну дію при тих самих термінах і умовах, хоча, у сироватці крові в останні терміни дослідження, рівень креатиніну був навіть більшим, ніж у тварин до голодування.

Враховуючи великий вміст у СЕШЛ протеїну, амінокислот, вітамінів, мікро- та макроелементів [122], а також флавоноїдів, гідроксикоричних та карбонових кислот [264, 300], доцільним було визначити рівень загального протеїну в організмі тварин на моделі харчової депривації, так як вище описані речовини в комплексі можуть проявляти коригувальний вплив на обмін протеїнів в організмі.

Визначення рівня загального протеїну після тижневої харчової депривації тварин виявило його зниження у сироватці крові, печінці та м'язах, яке було максимальним на 7-му добу дослідження. Це пояснюється тим, що протеїн в організмі не депонується, тому при його дефіциті починають мобілізуватись протеїни м'язів, шкіри, кісток, а при важких станах - паренхіматозних органів (протеїни мозку в останню чергу) [150]. Отримані результати узгоджуються з дослідженнями авторів [86], у яких спостерігалось зниження рівня загального протеїну в сироватці крові, печінці та м'язах за умов харчової депривації.

Застосування коригуючих чинників сприяло підвищенню рівня загального протеїну в досліджуваних тканинах щурів, які піддавались харчовій депривації. На 7-му добу дослідження, після застосування СЕШЛ, зафіксовано



рівень даного показника, який навіть перевищував такий у щурів до голодування. Референс-препарат не поступався за ефективністю сухому екстракту і призвів до аналогічних результатів, які виявились дещо вищими. Отримані результати підтверджують наявність у СЕШЛ анаболічних властивостей, про що свідчить відновлення протеїнових ресурсів у сироватці крові, печінці та м'язах голодуючих тварин.

Оскільки зміни у харчовому статусі потребують відносно швидкої адаптації метаболізму, доцільним було дослідити регуляторні механізми прооксидантно-антиоксидантного захисту печінки за умов харчової депривації щурів [23].

Моделювання стану повного голодування у щурів призвело до підвищення проміжних продуктів ліпопероксидації у сироватці крові, зокрема ТБК-АП продуктів, яке на 7-му добу склало 76 %. Очевидно, що це є наслідком підвищення в організмі голодуючих тварин активності окислювальних процесів, зокрема ліпопероксидації.

Застосування СЕШЛ сприяло вірогідному ( $p \leq 0,05$ ) зниженню вмісту ТБК-АП у сироватці крові голодуючих тварин на 7-му добу дослідження в 1,3 раза. Препарат порівняння КО в аналогічні терміни і за таких самих умов сприяв зниженню рівня даного показника в 1,6 раза. Схожа тенденція спостерігалась у печінці та м'язах піддослідних тварин, де використання коригуючих чинників призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження вмісту ТБК-АП, з незначним перевершенням референс препарату.

З огляду на літературні джерела, інтенсивність процесів ПОЛ залежить від тривалості голодування й може бути спровокована розвитком стресорної реакції, яка у нашому випадку є харчовою депривацією. Дана реакція є відображенням усіх адаптаційних реакцій організму, що виникають у відповідь на подразник та направлена на реалізацію пристосувальних механізмів [171], з одночасним підвищенням вмісту катехоламінів, які також активують ПОЛ [114]. Ще одним фактором активації процесів ПОЛ є розвиток гіпоксії, яка

зумовлена зменшенням доставки кисню до органів ШКТ, в тому числі й до печінки [23].

Оскільки відбувається активація антиоксидантної системи захисту організму, яка спровокована надлишковим утворенням АФО на тлі харчової депривації, доцільним було дослідити її спроможність до їх знешкодження.

На моделі харчової депривації щурів виявлено незначне зростання протягом перших трьох діб вмісту церулоплазмину – основного антиоксиданту крові, що зберігає свою стабільність до токсичного впливу АФО навіть за умов їх інтенсивної генерації [90]. З 5-ої доби експерименту його вміст різко знизився, і в останній термін дослідження (7-ма доба) дане зниження склало 13 %.

Антиоксидантні властивості досліджуваного екстракту підтверджуються результатом після його використання: на 7-му добу дослідження спостерігалось підвищення вмісту ЦП в сироватці крові голодуючих тварин на 13,5 % для сухого екстракту та 13,2 % для КО, в порівнянні з рівнем контрольних тварин.

Про активність ензимної ланки антиоксидантної системи на термінальних етапах знешкодження АФО свідчить активність каталази [133]. У досліджуваних тканинах відмічено підвищення активності каталази у перші доби дослідження, що, на нашу думку, є захисною реакцією організму на пригнічення активованих окиснювальних процесів при харчовій депривації, а потім її зниження, що призводить до пригнічення процесу знешкодження гідроген пероксиду, утвореного в результаті супероксиддисмутазної реакції та до інтоксикації ним організму. На 7-му добу дослідження активність каталази у сироватці крові голодуючих щурів знизилась у 1,4 раза, у печінці – у 1,5 раза та у м'язах – у 1,6 раза, що вказує на активацію окислювальних процесів в організмі та підвищення процесів катаболізму протеїнів за голодування.

Використання СЕШЛ та КО для тварин з 7-ми денною харчовою депривацією, сприяло підвищенню в останні терміни дослідження активності каталази в усіх досліджуваних тканинах, що вказує на здатність даних препаратів до пригнічення окислювальних процесів й процесів катаболізму

протеїнів на моделі харчової депривації, а також до відновлення захисно-компенсаторних сил організму.

Наступним етапом було вивчення ступеня ендогенної інтоксикації, яка поглиблюється за умов голодування. Нами вивчено вміст у сироватці крові маркеру ендогенної інтоксикації молекул середньої маси (МСМ), що відображає рівень патологічного протеїнового метаболізму [75]. Згідно даних літератури, підвищення рівня даного показника, яке може бути спровоковане надлишком вільних радикалів [131], вказує на посилення катаболізму протеїнів і може свідчити про порушення структури мембран гепатоцитів та пригнічення детоксикаційної функції печінки [125].

Аналіз вмісту в сироватці крові щурів з харчовою депривацією МСМ обох фракцій, виявив їх максимальне підвищення на 7-му добу дослідження, зокрема СМ1 (254 нм), в якому переважають ланцюгові амінокислоти на 39,8% та СМ2 (280 нм), в якому переважають ароматичні амінокислоти на 61,5 %, відносно рівня до голодування.

Застосування СЕШЛ на 7-му добу дослідження призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) зниження у сироватці крові голодуючих щурів вмісту показників СМ1 та СМ2 на 15,2 % та 20,3 % відповідно (відносно рівня контролю). Калію оротат проявив дещо ефективніший вплив на вміст показників СМ1 та СМ2 й до вірогідних ( $p \leq 0,05$ ) змін призвело його застосування вже на 2-гу та 3-тю доби дослідження відповідно, яке склало 28,8 % для показника СМ1 та 48,7 % для показника СМ2 на 7-му добу дослідження. Отже, застосування СЕШЛ призвело до зниження проявів ендогенної інтоксикації, про що свідчить зниження вмісту МСМ обох фракцій, що може бути проявом його сорбтивних властивостей.

Таким чином, встановлено позитивний коригувальний вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на порушення протеїнового обміну та процеси вільнорадикального окислення, які виникають в організмі щурів за умов харчової депривації.

Одержані дані досліджень підтверджують, що густий екстракт зі шпинату городнього листя проявляє протизапальну дію, яка доведена на моделі

карагенінового набряку щурів, а також виражену антиоксидантну, мембраностабілізуючу та гепатопротекторну дії, які доведені на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів.

Сухий екстракт зі шпинату городнього листя, в свою чергу, проявляє виражені антиоксидантні, сорбтивні та анаболічні властивості в умовах харчової депривації щурів.

З огляду на отримані результати та дані літератури, густий екстракт зі шпинату городнього листя може бути запропонований для подальшого вивчення і введення у прикладну медицину, як протизапального, антиоксидантного та гепатопротекторного засобу за умов токсичного ураження печінки, а сухий екстракт зі шпинату городнього, в свою чергу, як антиоксидантного та анаболічного засобу при порушеннях протеїнового обміну.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової задачі щодо експериментального обґрунтування доцільності та ефективності застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя як гепатопротекторного засобу з антиоксидантною дією при токсичних ураженнях печінки, а також сухого екстракту як анаболічного та антиоксидантного засобу за умов харчової депривації. Отримані результати дозволили зробити наступні висновки:

1. Встановлено, що густий та сухий екстракт зі шпинату городнього листя при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини, ЛД<sub>50</sub> для яких знаходиться за межами 5000 мг/кг. Обидва екстракти не проявляють ульцерогенної дії.

2. На моделі гострого тетрахлорметанового ураження печінки щурів (4 доба розвитку токсичного гепатиту) встановлена мінімально діюча доза густого екстракту зі шпинату листя – 150 мг/кг. На моделі повного голодування щурів протягом 2 діб встановлена мінімально діюча доза для сухого екстракту – 100 мг/кг маси тіла. На моделі карагенінового набряку лапи щурів виявлено помірну протизапальну активність обох фармакологічних препаратів, яка більше проявилась для густого екстракту, максимум якої прийшовся на 6 та 24 год розвитку запалення. Ефективність застосування густого екстракту в кінці експерименту становила 30,9 %.

3. За тетрахлорметанового гепатиту спостерігається активація процесів ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів, що проявляється збільшенням у досліджуваних тканинах ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у сироватці крові та печінці тварин. Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя в дозі 150 мг/кг призвело до

вірогідного зниження ( $p \leq 0,05$ ) показників ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів в організмі уражених щурів. В умовах окиснювального стресу відмічалось пригнічення ензимної та неензимної ланок антиоксидантної системи, що зумовило зниження супероксиддисмутази (в 1,7 раза) та каталазної активності (1,3 раза), вмісту відновленого глутатіону (1,4 раза) у печінці до кінця експерименту. Густи екстракт зі шпинату городнього листя призвів до відновлення вказаних показників, що підтверджує його антиоксидантні властивості.

4. Доведено позитивний вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя на показники цитолізу в ураженому тетрахлорметаном організмі. Після застосування екстракту відновлювалась збільшена після ураження (на 35,5%) проникність еритроцитарних мембран. Відмічено підвищення активності амінотрансфераз та гама-глутамілтранспептидази (в 5,7 раза) у сироватці крові щурів на 10 добу експерименту. Після ураження тетрахлорметаном у сироватці крові щурів прогресуюче зростала активність лужної фосфатази, яка до кінця дослідження перевищила норму в 2,9 раза. Після застосування екстракту дані показники наблизились до норми. Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя призвело до зниження проявів ендогенної інтоксикації, на що вказує зменшення вмісту молекул середньої маси обох фракцій, які є маркерами даного процесу.

5. В умовах тетрахлорметанового ураження печінки щурів виявлено прогресуюче порушення жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій печінки тварин, яке наростало до кінця експерименту. Використаний густи екстракт зі шпинату городнього листя проявив позитивний вплив на відновлення даних функцій в організмі уражених тварин, на що вказує збільшення об'єму і швидкості секреції жовчі, зменшення вмісту жовчних кислот в сироватці крові та збільшення їх у жовчі, а також зниження вмісту загального білірубіну в сироватці крові уражених тетрахлорметаном тварин.

6. Морфологічними дослідженнями печінки щурів підтверджена ефективність застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя як гепатопротекторного засобу, який максимально ефективним виявився на 10 добу розвитку токсичного гепатиту.

7. Встановлено, що у щурів, які зазнали 7-денної харчової депривації, розвивався дефіцит маси тіла, зменшувалась маса органів тварин. Сухий екстракт зі шпинату городнього листя виявляє протекторну активність, суттєво впливаючи на вагу тіла та органів тварин за голодування й мало чим поступається за ефективністю референс-препарату калію оротату. В умовах повного голодування знижується функціональна спроможність нирок, що проявляється зменшенням добового діурезу, підвищенням вмісту сечовини у сироватці крові (в 1,4 раза) та сечі (в 1,6 раза), вірогідним зниженням вмісту креатиніну ( $p \leq 0,05$ ) та білка у сироватці крові та сечі та м'язах, що може вказувати на посилення процесів катаболізму в організмі. Сухий екстракт зі шпинату городнього листя проявляє позитивний вплив на функціональну спроможність нирок, що зумовлено підвищенням добового діурезу, концентрації креатиніну, а також відновленням протеїнових ресурсів в організмі.

8. Встановлено позитивний вплив сухого екстракту зі шпинату городнього листя на окиснювальні процеси в організмі щурів за голодування, що призводить до зниження вмісту ТБК-активних продуктів як у сироватці крові (в 1,3 раза у кінці експерименту), а також у печінці (в 1,4 раза) і м'язах (в 1,5 раза) голодуючих тварин. Одночасно відмічалась нормалізація показників антиоксидантного захисту (церулоплазміну та каталазної активності). Застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листя призвело до зниження проявів ендогенної інтоксикації, про що свідчить зменшення вмісту молекул середньої маси обох фракцій, які є маркерами даного процесу.

9. Проведене дослідження експериментально обґрунтовує доцільність подальшого доклінічного та клінічного вивчення нових високоефективних та

малотоксичних засобів зі шпинату городнього листя з метою впровадження їх у медичну практику як гепатопротекторних та анаболічних препаратів з антиоксидантними властивостями.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Александрова ЛМ, Беленец СИ, Габур ТА, и др. Креатинин. Методы определения и возможные ошибки. Лабораторна діагностика. 2011;(1):49–53.
2. Алексеєва МО, Алтухов ОО, Колісник СВ, та ін. Зв'язок “структура-анаболічна активність” у ряду похідних (2-оксо-1,2-дигідро-3Н-індол-3-іліден)-оцтових кислот. Український біофармацевтичний журнал. 2011;(3):9–12.
3. Андреева ЛИ, Кожемякин ЛА, Кишкун АА. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лаб. дело. 1988;(11):41–3.
4. Андреева НИ, Шарова СД. Определение влияния веществ на секрецию соляной кислоты в желудке. Фармакол. и токсикол. 1978;(4):428–32.
5. Андрейчин МА, Бех МД, Дем'яненко ВВ, та ін. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: метод. рек. Київ: МОЗ України; 1998. 31 с.
6. Антоняк ГЛ, Важненко ОВ, Панас НЄ. Біологічна роль Купруму та Купрумвмісних білків в організмі людини і тварин. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім СЗ Гжицького. 2011;13(2):322–32.
7. Беленічев ІФ, Левицький ЄЛ, Губський ЮІ. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). Совр. пробл. токсикол. 2002;(3):24–9.
8. Бірюков СМ, Вартузов ВВ, Мінін ОВ. Дослідження сильнодіючих лікарських засобів, що містять метандієнон і нандролон деканоат в об'єктах криміналістичної експертизи. Криміналістичний вісник. 2013;(2):224–37.
9. Бойко ЛА, Фіра ЛС, Лихацький ПГ, та ін. Проникність плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів в динаміці ураження щурів карбофосом. Вісник проблем біології і медицини. 2014;3(2):285–9.
10. Борисенко НМ. Деякі аспекти з питань історії становлення фітотерапії. В: Матеріали восьмої Міжнародної наук–практ. конф. Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій; 2020 Черв. 29-30; Полтава. Полтава: РВВ ПДАА; 2020;132–5.

11. Бородіна ТВ. Порівняльний аналіз ефективності антраю, тіотриазоліну, силібору, фламину та холосасу при ураженнях печінки різного генезу: (експериментально- клінічне дослідження) [дисертація]. Київ: Українська фармацевтична академія; 1999. 155 с.
12. Бражникова ДА, Попова ТН, Крыльський ЕД, и др. Воздействие 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидро-хинолина на интенсивность свободнорадикальных процессов и активность ферментов окислительного метаболизма при токсическом поражении печени у крыс. Биомедицинская химия. 2019;65(4):331–8.
13. Бурмас НІ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження метаболічних порушень у печінці щурів в умовах ураження туберкулоstaticами та сполуками шестивалентного хрому. Український біофармацевтичний журнал. 2013;(5):4–8.
14. Бурмас НІ. Стан антиоксидантної системи та жовчоутворювальної функції в організмі щурів, уражених сполуками шестивалентного хрому. Медична та клінічна хімія. 2016;18(1):89–93.
15. Вакуленко ЄП, Кармазіна АО, Будько ТМ, та ін. Ефективність лікування неалкогольної жирової хвороби печінки гепатопротекторами рослинного походження на прикладі препарату “Гепаназе.” Сучасна гастроентерологія. 2015;(4):66–70.
16. Вашкеба–Бітлер ЕМ. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту з листя хрину звичайного в умовах парацетамолового гепатиту. Вісник проблем біології і медицини. 2014;4(4):58–62.
17. Влізло ВВ, Приступа ОІ. Жовчоутворення та жовчовиділення у щурів при гострому експериментальному ураженні печінки. Біологія тварин. 2011;13(1–2):305–8.
18. Влізло ВВ, Федорук РС, Ратич ІБ, та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Влізло ВВ, редактор. Львів: СПОЛОМ; 2012. 764 с.

19. Вогнівенко ЛП, Євтушенко МЮ, Шевряков МВ, та ін. Біохімія гідробіонтів. Херсон: Олді-плюс; 2009;536 с.
20. Вороніна АК, Борщевський ГІ. Гепатопротекторна ефективність препарату Лесфаль за експериментального гепатиту в щурів. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2013;(2):37–41.
21. Галенова ТІ, Ракша НГ, Савчук ОМ. Зміна біохімічного профілю організму за умов тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у щурів. ScienceRise. Biological science. 2016;(2):47–54.
22. Гарник ТП, Фролов ВМ. Вітчизняний препарат артишоку колючого (*Synara scolymus* L.) артіхол: механізми фармакологічної дії та клінічна ефективність при патології гепатобіліарної системи (огляд літератури та результати особистих спостережень). Український медичний альманах. 2011;14(6):65–8.
23. Гембаровський МВ, Кліщ ІМ, Марущак МІ. Вплив харчової депривації на показники пероксидного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту печінки щурів. Медична хімія. 2013;15(1):25–9.
24. Герасимець ІІ, Фіра ЛС, Медвідь ІІ. Вивчення гепатопротекторних властивостей сухого екстракту грибів рейши. Укр. біофарм. журнал. 2019;(4):28–34.
25. Глущенко АВ, Георгіянц ВА, Валігура ЮГ. Аналітичний огляд фармацевтичного ринку сучасних гепатопротекторних препаратів. Фармацевтичний журнал. 2014;(4):17–23.
26. Гопчук ОМ. Терапевтична підтримка гепатобіліарної системи у практиці акушера-гінеколога. Здоров'є жінчини. 2017;(10):79–84.
27. Горальський ЛП, Хомич ВТ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфологічні методи досліджень у нормі та при патології. Навчальний посібник. Видання третє, виправлене і доповнене. Житомир: «Полісся»; 2015. 286 с.
28. Горячковский АМ. Справочное пособие по клинической биохимии. Одесса: ОКФА; 1994. 416 с.

29. Грек ОР, Иванова ВВ, Карпов МА, и др. Гепатопротекторное действие водно-спиртового экстракта диспергированной бересты при остром отравлении парацетамолом. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2014;(5):22.
30. Гриненко УВ, Журавель Ю, Могильна ОМ. Порівняльний аналіз жирнокислотного складу листя шпинату городнього сортів Красень Полісся та Фантазія. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. 2018;(30):388–97.
31. Гриненко УВ, Журавель Ю. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів в листі шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.). Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. 2017;(28):29–33.
32. Грицик АР, Гузько НМ, Посацька НМ. Пошук лікарських рослин, які застосовуються для лікування захворювань гепатобіліарної системи. *Фітотерапія*. 2007;(2):47–51.
33. Грицишин ЛЄ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Активність цитолітичних процесів у щурів за умов хронічної неопластичної інтоксикації після застосування цитостатиків. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2019;(2):105–11.
34. Грищенко ВА. Гематологічний профіль у щурів при експериментальному диклофенак-індукованому гепатиті. *Ukr. J. Ecol*. 2017;7(3):78–83.
35. Громова ВФ, Шаповал ГС, Миронюк ІЕ. Антиоксидантні властивості лікарських рослин. *Хіміко-фармац. журн*. 2008;42(3):26–9.
36. Губергриц НБ, Лящук СН. К вопросу о формах выпуска препарата “Гепадиф®”. *Сучасна гастроентерологія*. 2013;(3):63–7.
37. Губергриц НБ, Фоменко ПГ, Лукашевич ГМ, и др. Фармакотерапевтические эффекты и клинические возможности эталонного препарата силимарина. *Фарматека*. 2012;(2):24–31.
38. Губергриц НБ, Фоменко ПГ, Голубова ОО, та ін. Перспективи застосування сучасного натурального гепатопротектора при неалкогольному

стеатогепатиті в поєднанні з хронічним безкам'яним холециститом. Практикуючий лікар. 2012;(4):40–50.

39. Гудзенко ОП, Левченко ЮО, Козицька КІ. Дослідження асортименту гепатопротекторів, представлених на вітчизняному фармацевтичному ринку. Український медичний альманах. 2013;16(2):114–6.

40. Гудивок ЯС, Шеремета ЛМ, Аравіцька МГ, та ін. Вплив препаратів із гепатопротекторною дією на процеси обміну речовин в умовах експериментальних токсичних гепатитів. Фармацевтичний часопис. 2014;(4):118–21.

41. Гутий БВ. Вплив хлориду кадмію на стан антиоксидантної системи у печінці щурів. Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2013;(2):102–3.

42. Давыдова ВВ. Гепатопротекторные свойства извлечений из кориандра посевного травы (*Coriandrum sativum* L. Herba) при токсическом поражении печени [диссертация]. Волгоград: ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 2018. 153 с.

43. Данилюк СВ, Хіміон ЛВ, Яценко ОБ, та ін. Сучасні підходи до діагностики та ведення хворих із холестатичним синдромом на первинному рівні медичної допомоги. Сімейна медицина. 2016;(3):6–10.

44. Дегтярева ИИ, Скрыпник ИН, Невойт АВ. Гепатопротекторы-антиоксиданты в терапии больных с хроническими диффузными заболеваниями печени. Новые мед. технологии. 2002;(6):18–23.

45. Дегтярьова ІІ, Осьодло ГВ, Скрипник ІМ, та ін. Застосування силімаріновмісних препаратів для лікування хронічних токсичних гепатитів і жирової дистрофії печінки. Сучасна гастроентерол. 2001;6(4):65-71.

46. Дейнега ВГ, Кривенко ВВ. Вплив оксидативного стресу на серцево-судинні показники у хворих з поєднаним перебігом хронічного обструктивного захворювання легень і гіпертонічної хвороби. Патологія. 2013;(1):20–3.

47. Державний реєстр сортів рослин України, придатних для поширення в Україні на 2018 рік. Київ: Міністерство аграрної політики та продовольства України; 2018. 447 с.
48. Діденко ВІ, Кленіна ІА. Морфофункціональні зміни печінки щурів з експериментальним гепатитом в умовах дисбалансу оксиду азоту. Гастроентерологія. 2014;(4):48–54.
49. Діордіца ЯВ. Антиоксидантна система печінки щурів за умов гострого гепатиту під час корекції комплексами антиоксидантів. Вісник Львівського університету: зб. наук. пр. 2019;(81):12–20.
50. Дроговоз СМ, Белик ГВ, Дем'яненко ДВ, та ін. Скринінгові фармакологічні дослідження зрідженогазових екстрактів суцвіть липи. Фармацевтичний журнал. 2012;(5):94–100.
51. Дроговоз СМ, Губський ЮІ, Скакун МП, та ін. Експериментальне вивчення жовчогінної, холеспазмолітичної, холелітіазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів (методичні рекомендації). В: Стефанов ОВ, редактор. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод рек. Київ: Авіцена; 2001. с. 334–51.
52. Другова ЕС, Мерзляков ВЮ, Кушнерова НФ, и др. Восстановление метаболических реакций печени крыс экстрактом из морской бурой водоросли *Saccharina japonica* при интоксикации четыреххлористым углеродом. Символ науки. 2016;(9):9–11.
53. Еременко СВ. Терапевтическое действие ларивитола при токсическом поражении печени лабораторных животных и гепатозах цыплят-бройлеров [автореферат]. Белгород: Белгородская государственная сельскохозяйственная академия имени В. Я. Горина; 2012. 19 с.
54. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідах. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2003;2(22):108–9.

55. Єрмоєнко РФ, Малоштан ЛМ, Шаталова ОМ. Обґрунтування використання рослинного засобу «Медикабол» при порушеннях білкового обміну. *Одеський медичний журнал*. 2014;(3):41–4.
56. Єрмоєнко РФ, Малоштан ЛМ, Шаталова ОМ. Особливості фармакодинаміки коректору білкового обміну з анаболічною дією. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015;1(2):132–5.
57. Єрмоєнко РФ, Малоштан ЛМ. Вивчення безпечності екстракту з трави люцерни посівної. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015;5(2):24–32.
58. Єрмоєнко РФ, Остапець МО, Карабут ЛВ. Сучасні уявлення про фармакокорекцію порушень білкового обміну (Огляд літератури). *Journal of Education, Health and Sport*. 2017;7(8):823–35.
59. Єрмоєнко РФ, Рядних ОК. Експериментальне обґрунтування доцільності пошуку коректора білкового обміну серед екстрактів з рослин роду бобових (Fabaceae). *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2013;(6):28–35.
60. Єрмоєнко РФ. Вивчення впливу екстрактів з трави люцерни посівної та сої щетинистої на білковий обмін в організмі здорових щурів. *Запорозж. мед. журн*. 2011;13(4):20–2.
61. Єрмоєнко РФ. Визначення впливу екстракту з трави люцерни посівної на білковий обмін у системі крові за умов доксорубіцинової гіпопротеїнемії. *Медична хімія*. 2012;14(1):100–3.
62. Єрмоєнко РФ. Вплив коректора білкового обміну екстракту з трави люцерни посівної на гістоструктуру та функції органів імунної системи щурів в умовах експериментального імунодефіциту. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2012;(4):24–36.
63. Загута ЮБ. Вплив препаратів з анаболічною дією на динаміку показників функціонального стану адренкортикальної системи у хворих на ко-інфекцію туберкульоз/ВІЛ. *Укр. пульмонол. журнал*. 2016;(3):49–52.
64. Ибрагимова КИ. Влияние пищевой депривации в период органогенеза пренатального развития на обмен ГАМК в структурах ЦНС у

трехмесячных крыс в постнатальном онтогенеза. Международный научно-исследовательский журнал. 2017;12(66):21–6.

65. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕДпресс-информ; 2009. 43 с.

66. Карпюк УВ, Єрьоменко РФ, Малоштан ЛМ, та ін. Стандартизація густого екстракту з трави сої щетинистої та вивчення його анаболічної активності. Фармакол. та лікарська токсикол. 2009;(3):38–43.

67. Качур ОІ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Застосування ентеросорбенту АУТ для корекції окиснювальних процесів за експериментального колоректального канцерогенезу в щурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2019;(3):79–86.

68. Кернична ІЗ, Івануса ІБ, Михалків ММ. Визначення елементного складу шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.) родини лободових (*Chenopodiaceae*). Медична та клінічна хімія. 2015;17(4):84–6.

69. Керімова ГФ, Рибак ВА, Король ВВ. Вивчення механізму дії анаболічних лікарських засобів з метою створення нового фітопрепарату. В: Матеріали І наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації; 2019 Трав 15; Харків. Харків: НФаУ; 2019, с. 96.

70. Керімова ГФ. Вивчення анаболічної активності сухих екстрактів листя і кореневищ *Iris Hungarica* в інтактних тварин. Фітотерапія. 2020;(2):50–5.

71. Коваленко ВМ, Мхітарян ЛС, Орлова НМ, та ін. Особливості оксидантного стресу та його основних компонентів в умовах коронарогенних і некоронарогенних захворювань серця. Український кардіологічний журнал. 2011;(3):39–43.

72. Коваленко ВМ, Стефанов ОВ, Максимов ЮМ, та ін. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. В: Стефанов ОВ, редактор. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод рек. Київ: Авіцена; 2001. с. 74–97.



73. Коваленко СМ, Коваленко ЮІ, Губін СМ, та ін. Актуальність створення нових комбінованих лікарських препаратів гепатопротекторної дії. Запорозький медичний журнал. 2009;(1):52–6.
74. Коваль МІ. Вікові особливості активності ферментів цитолізу за умов токсичного ураження парацетамолом і його корекція в експерименті. Медична та клінічна хімія. 2015;17(3):114–8.
75. Коваль ТВ, Іщук ТВ, Раєцька ЯБ, та ін. Вміст молекул середньої маси та олігопептидів у крові та тканинах щурів за умов розвитку кислотного опіку стравоходу. Біологічні системи. 2015;7(2):143–8.
76. Ковальов СВ, Ковальова АМ, Єрмоменко РФ, та ін. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної. Фармацевтичний часопис. 2008;6(2):27–30.
77. Кожем'якін ЮМ, Хромов ОС, Болдирєва НЄ, та ін. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ: Інтерсервіс; 2017. 182 с.
78. Колб ВГ, Камишников ВС. Визначення активності церулоплазміну в крові. В: Клиническая биохимия. Минск: Беларусь; 1976. с. 219-220.
79. Кононенко АГ, Уланова ВА, Єрмоменко РФ. Гістологічна оцінка гепатопротекторної активності водного екстракту листків кукурудзи при гострому токсичному ураженні печінки. Український біофармацевтичний журнал. 2016;(2):53–7.
80. Король ВВ, Рибак ВВ. Розробка складу та стандартизація рослинного засобу з анаболічною активністю. В: Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології: зб. наук. пр. № 6. Харків: НФаУ; 2019. с. 237–40.
81. Королюк МА, Іванова ЛІ, Майорова ІТ, и др. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988;(1):16–8.
82. Коропецька НЮ, Остапів ДД, Нектегаєв ІО, та ін. Вплив ретаболілу, речовини LES-2222, тестостерону пропіонату на масу тіла та внутрішніх органів щурів при харчовій депривації. Вісник наукових досліджень. 2015;(1):103–5.

83. Коропецька НЮ, Остапів ДД, Нектегаєв ІО, та ін. Вплив речовини LES-2222, ретаболілу та тестостерону пропіонату на біохімічні показники в крові щурів за харчової депривації. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2015;(2):60–5.

84. Коропецька НЮ, Остапів ДД, Нектегаєв ІО, та ін. Зміни спектра білків крові і м'язів щурів за впливу ретаболілу, речовини LES-2222\* і тестостерону пропіонату при харчовій депривації. Буковинський медичний вісник. 2015;19(2):106–10.

85. Коропецька НЮ, Остапів ДД, Нектегаєв ІО, та ін. Зміни спектра білків органів щурів за впливу ретаболілу, речовини LES-2222\* і тестостерону пропіонату при харчовій депривації. Буковинський медичний вісник. 2015;19(3):73–7.

86. Коропецька НЮ, Остапів ДД, Нектегаєв ІО, та ін. Порівняльний аналіз впливу ретаболілу, похідного тіопіранотіазолу (речовина LES-2222), тестостерону пропіонату на білковий метаболізм організму щурів при харчовій депривації. Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. 2015;(2):27–33.

87. Косматых ТА, Шевченко МЮ, Попов ВН, и др. Влияние пищевой депривации на углеводный метаболизм в органах и тканях крыс. Вестник ВГУ. Серия: химия, биология. 2001;(2):118–20.

88. Костина ОВ, Преснякова МВ, Галова ЕА, и др. Нарушения белкового обмена у детей в острый период ожоговой болезни. Медицинский альманах. 2019;61(5–6):98–100.

89. Крижна СІ, Тацький ОФ, Торянік ЕЛ. Анаболічна дія хіноболіну на експериментальній моделі ізадринової міокардіодистрофії. Клінічна фармація. 2008;(3):53–5.

90. Криницька ІЯ. Функціональний стан системи антиоксидантного захисту крові у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом. Медична хімія. 2013;15(1):34–9.

91. Кузів ОІ. Патогенетичне обґрунтування корекції тетрахлорметанового гепатозу повним голодуванням та поєднанням його з

ентеросорбцією [дисертація]. Тернопіль: Тернопільська держ. медична академія ім. І. Я. Горбачевського; 2004. 179 с.

92. Кузьмак ІІ. Динаміка показників цитолізу у щурів за умов гострого отруєння токсинами блідої поганки у віковому аспекті. Вісник проблем біології і медицини. 2013;2(1):121–4.

93. Лавришин ЮЮ, Вархоляк ІС, Мартишук ТВ, та ін. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. 2016;18(2):100–11.

94. Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион; 2000. 320 с.

95. Леоненко НС. Стан перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків в організмі щурів при дії метсульфурон-метилу в малих дозах. Сучасні проблеми токсикології. 2005;(4):53–7.

96. Линда ОС, Фіра ЛС, Кузьмак ІІ. Вплив настойки з хости ланцетолистої на показники цитолізу клітинних мембран у щурів, уражених тетрахлометаном. Український біофармацевтичний журнал. 2017;(6):56–60.

97. Лис ОБ, Регеда МС. Ступінь ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового ушкодження міокарда. Вісник наукових досліджень. 2019;(1):131–4.

98. Литвиненко ОМ. Показники ліпідного та жовчно-кислотного обмінів за експериментального медикаментозного гепатиту та їх корекція [автореферат]. Київ: Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України; 2010. 24 с.

99. Литвінець-Голутяк УЄ. Особливості макро- і мікроелементного обміну організму та їх корекція при хірургічному лікуванні одонтогенних кист щелепно-лицевої ділянки у хворих Прикарпатського регіону [автореферат]. Івано-Франківськ: ДВНЗ “Івано-Франків. нац. мед. ун-т”; 2018. 20 с.

100. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування мілдронату за умов окиснювального стресу у щурів, уражених натрію нітритом, на тлі інтоксикації тютюновим димом. *Світ медицини та біології*. 2017;13(3):128–34.
101. Лихацький ПГ. Вікові особливості метаболізму у щурів за дії нітриту натрію та тютюнового диму, шляхи корекції виявлених порушень [дисертація]. Тернопіль: ТДМУ; 2018. 430 с.
102. Лихацький ПГ. Дослідження показників ендогенної антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *ScienceRise. Biological science*. 2017;(5):18–23.
103. Лопушинська ІВ. Зміни субциркадіанних ритмів показників системи прооксидантно-антиоксидантного захисту нирок щурів при інтоксикації тетрахлорметаном та корекція мелатоніном. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018;17(3):63–8.
104. Макар БГ, Процак ТВ, Гаїна НІ, та ін. Роль печінки у підтриманні гомеостазу організму людини за фізіологічних та патологічних умов. *Вісник проблем біології і медицини*. 2012;(3):15–7.
105. Максів ХЯ, Марущак МІ. Роль оксидативного стресу в розвитку хронічного обструктивного захворювання легень. *Медична та клінічна хімія*. 2019;21(1):120–5.
106. Маніщенкова ЮО, Орлова ОА, Шкала ЛВ. Окислювальна модифікація білків у хворих з коморбідною патологією. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2010;5(1):126–9.
107. Мартишук ТВ. Вплив оксидативного стресу на систему антиоксидантного захисту організму щурів. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина*. 2016;1(7):8–12.
108. Мартюшев-Поклад АВ, Воронина ТА. Стресс-лимитирующие системы и нейрональная пластичность в патогенезе психических и неврологических расстройств. *Обзоры по клинической лекарственной терапии*. 2003;2(4):15–25.

109. Марчишин СМ, Наконечна СС. Вивчення антиальтеративної та репаративної активності густого екстракту трави фіалки. Фітотерапія. 2013;(4):50–3.
110. Мещишен ІФ. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові. Бук. мед. вісник. 1998;2(1):156–8.
111. Мокрик ОЯ, Горицький ВМ. Вивчення в умовах експерименту впливу даларгіну на вміст гістаміну у вогнищі гострого запалення та больову реакцію. Клінічна та експериментальна патологія. 2014;13(3):121–4.
112. Муфазалова НА, Муфазалова ЛФ, Мухаметзянова АЯ, и др. Повреждающее воздействие тетрахлорметана на функциональное состояние мононуклеарных фагоцитов. Международный научно-исследовательский журнал. 2015;33(2):48–52.
113. Недашківський СМ. Медикаментозно зумовлені ураження печінки: принципи діагностики, патологічні зміни й підходи до лікування. Медицина невідкладних станів. 2019;(2):63–70.
114. Нестеров ЮВ, Чумакова АС, Турченко НВ. Влияние стресс-индуцированных воздействий разной модальности и антиоксиданта на свободнорадикальные процессы в легких и печени белых крыс. Естественные науки. 2010;(3):122–6.
115. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листа на моделі тетрахлорметанового ураження печінки. Мед. та клін. хімія. 2018;20(4):36–43.
116. Окусок ОМ, Гришук ЛА, Небесна ЗМ, та ін. Діагностика цитолітичного синдрому у хворих на туберкульоз легень. Медична та клінічна хімія. 2017;19(1):47–52.
117. Олещук АМ, Миколенко АЗ, Трач-Росоловская СВ. Показатели системы оксида азота и морфофункционального состояния печени при экспериментальном циррозе. Journal of Siberian Medical Sciences. 2013;(2):33.

118. Особа ІА. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму. Рибогосподарська наука України. 2009;(1):133–9.
119. Осьодло ГВ, Федорова ОО. Комбінований захист печінки - основа сучасної гепатопротекції. Рациональная фармакотерапия. 2016;(2):45–52.
120. Палій ІГ. Токсичний вплив антибіотиків на печінку. Правда чи міф? Здоровье женщины. 2013;(4):30–3.
121. Пастушенко ТВ, Маруший ПБ, Жуков АА. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ. Гигиена и санитария. 1985;(6):46–9.
122. Петровська УВ, Журавель ІО, Гуцол ВВ. Визначення кількісного вмісту протеїну та клітковини в листі та насінні шпинату городнього сортів Красень Полісся та Фантазія. Фітотерапія. Часопис. 2018;(4):56–8.
123. Петровська УВ, Журавель ІО. Кількісне дослідження фракцій полісахаридів в сировині шпинату городнього сортів Фантазія та Красень Полісся. В: Матеріали І наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації; 2019 Трав 15; Харків. Харків: НФаУ; 2019. 138 с.
124. Пида ВП, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Вивчення протизапальної активності сухого екстракту з листя салату посівного. Медична та клінічна хімія. 2018;20(3):57–62.
125. Підручна СР, Степанова ГМ. Динаміка змін показників ендогенної інтоксикації у лабораторних щурів різних вікових груп в умовах політравми. Вісник проблем біології і медицини. 2017;3(4):199–202.
126. Поготова ГА, Горчакова НО, Беленічев ІФ, та ін. Вплив лівонорму та детоксику на енергетичний обмін, прооксидантно-антиоксидантну систему в печінці, міокарді та головному мозку щурів при дихлоретановому гепатиті. Вісник проблем біології і медицини. 2014;3(3):187–91.
127. Попадинець ОГ, Грицик АР, Мандзій ТП. Вивчення протизапальної активності та гострої токсичності екстрактів сосни звичайної. Фармацевтичний журнал. 2017;(3–4):89–96.

128. Притульська НВ, Нездолій АО. Дослідження протизапальної та анаболічної активності цукерок та топінгу для людей з тривалим статико-фізичним навантаженням. Вестник Херсонського національного технічного університета. 2015;(2):53–8.
129. Прохорова МИ. Методы биохимических исследований. Ленинград: Изд-во ЛГУ; 1982. 168 с.
130. Процюк РГ, Загута ЮБ, Бегоулев ОЄ. Ефективність застосування гормональних препаратів з анаболічною дією у лікуванні хворих на КО-інфекцію туберкульоз. Український медичний альманах. 2013;16(4):39–42.
131. Радченко ОМ, Кондратюк МО. Синдром ендогенної інтоксикації в клініці внутрішніх хвороб (огляд літератури та власні спостереження). Медична гідрологія та реабілітація. 2009;7(3):25–32.
132. Разнатовская ЕН. Биохимические и иммунологические аспекты эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких. Запорожский медицинский журнал. 2012;(1):20–3.
133. Резніков ОГ, Полумбрик ОМ, Бальон ЯГ, та ін. Про- та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини. Вісник НАН України. 2014;(10):17–29.
134. Рибак ВА, Керімова ГФ. Перспективи застосування сухого екстракту *Iris Hungarica* для корекції порушень білкового обміну. В: Матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів; 2019 Берез 14-15; Харків. Харків: НФаУ; 2019. с. 220.
135. Рибак ВА, Малоштан ЛМ, Павиченко ОВ. Експериментальне визначення токсикологічних властивостей, ульцерогенної та місцевоподразнюючої дії густого екстракту квасолі. Світ медицини та біології. 2015;(3):107–12.
136. Рыболовлев ЮР, Рыболовлев РС. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. Доклады АН СССР. 1979;(6):1513–6.

137. Севастьянова ТВ. Характеристика сучасних гепатозахисних засобів (огляд літератури). Вісник Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна № 639. Сер: Медицина. 2004;(9):82–9.
138. Середюк КМ, Стадницька НЄ, Яремкевич ОС, та ін. Дослідження антиоксидантної активності екстрактів лікарських рослин. Вісн. Нац. ун-ту “Львів політехніка.” 2016;(841):228–32.
139. Сидоров КК. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикол. новых промышленных химических веществ. 1973;(13):47–51.
140. Скіданов АГ, Леонтьева ФС, Морозенко ДВ, та ін. Біохімічні маркери для оцінювання стану м'язів за умов дегенеративних захворювань хребта (огляд літератури). Ортопедия, травматология и протезирование. 2016;(4):119–23.
141. Скрипник ІМ. Гепатопротекторні засоби в сучасній гепатології. Consilium medicum. 2007;(5):11–5.
142. Скрыпник ИН, Вахненко АВ. Роль гипоксии в развитии заболеваний органов пищеварения и обоснование применения антигипоксантов в гастроэнтерологии. Сучас. гастроентерологія. 2010;(4):90–100.
143. Скуратов АГ. Тетрахлорметановая модель гепатита и цирроза печени у крыс. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2012;(9):37–40.
144. Смойловська ГП. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у листі *Urtica dioica* L. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2015;(3):48–51.
145. Сорочинников АП, Доросевич АЕ. Гистологическая и микроскопическая техника: руководство. Смоленск: “САУ”; 2000. 476 с.
146. Степанов ЮМ, Бреславец ЮС. Клінічний досвід застосування біологічного гепатопротектора прогепар у лікуванні хворих із гепатобіліарною патологією (огляд). Гастроентерологія. 2015;57(3):133–41.



147. Стефанов ОВ, редактор. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. Київ: Авіцена; 2001. 528 с.
148. Сторожук О, Руденко О, Білюк А, та ін. Гамма-глутамілтранспептидазна активність в трансформованих клітинах за впливу на рецептор епідермального фактора росту. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія. 2015;69(1):14–6.
149. Стремоухов ОО. Вплив жовчних кислот на процеси травлення. Запорозький медичинський журнал. 2013;(6):47–9.
150. Тарасова ЛВ, Арямкина ОЛ, Волкова ТВ, и др. Нарушения белкового обмена при хронических вирусных гепатитах. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;163(3):105–12.
151. Тацький ОФ. Анаболічна дія хіноболіну [автореферат]. Одеса: Одеський державний медичний університет; 2010. 22 с.
152. Тимирбулатов РР, Селезнев ЕИ. Методы повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение. Лаб. дело. 1981;(4):209–11.
153. Тиц НУ, редактор. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Москва: Лабинформ; 1997. 960 с.
154. Тищенко Ю. Анаболічна дія комплексу бар з Paliurus Spina-Chisti Mill. Вісник фармації. 2001;(3):178.
155. Томчук ВА. Жовчні кислоти в організмі здорових і хворих новонароджених телят та після застосування ентеросорбентів. Біологія тварин. 2014;16(2):127–33.
156. Трохимович АА, Кишко АА, Сливка ЯІ, та ін. Вільнорадикальне окислення і антиоксидантна система в серцево-судинній патології. Науковий вісник Ужгородського університету. Сер: Медицина. 2011;(2):361–4.
157. Туряница ИМ, Росток ЛМ, Федорович ТМ, и др. Среднемолекулярные пептиды сыворотки крови крыс при остром повреждении печени и введении йодированного масла. Укр. биохим. журн. 1991;63(2):102–5.

158. Унгурян ТМ, Заморський П. Зміна вмісту церулоплазміну в плазмі крові за умов міоглобінуричної форми гострого пошкодження нирок. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(6):67–72.
159. Філіппов ЮО. Використання рослинного препарату Гепатофіл в комплексному лікуванні хворих на хронічні неспецифічні запальні захворювання кишечника. Гастроентерологія. 2008;(41):245–52.
160. Філіппова ОЮ. Можливості фітотерапії у лікуванні неалкогольної жирової хвороби печінки. Сучас. гастроентерологія. 2011;(2):116–22.
161. Філіппова ОЮ. Хвороби гепатобіліарної системи: фокус на раціональну гепатотропну терапію. Гастроентерологія. 2019;53(3):188–95.
162. Футорний СМ. Принципи фармакологічної імунокорегуючої терапії у сучасній спортивній медицині. В: Єрмаков СС, редактор. Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту: зб. наук. пр. № 3. Харків; 2009. с. 154-157.
163. Харченко НВ, Анохіна ГА, Чекман СІ, та ін. Гепатопротектори в лікуванні захворювань печінки: клініко-біохімічні механізми дії. Новості медицини и фармації. Гастроэнтерол. 2013;(457):5–6.
164. Хохлова НА, Деркач НВ, Затыльникова ОА. Влияние сухих гидрофильных экстрактов ириса на показатели белкового обмена. Український біофармацевтичний журнал. 2010;(3):45–9.
165. Царенко Т, Кравченко О, Савчук О. Ліпопротеїновий профіль і активність ензимів печінки у крові пацієнтів з цукровим діабетом другого типу за умов розвитку ішемічного інсульту. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016;(73):329–35.
166. Чала ІВ, Русак ВС. Редокс–потенціал та стан перекисного окиснення ліпідів крові корів, що утримуються у екологічно несприятливих умовах. Наук. вісн. Львів нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. Сер: Вет. науки. 2016;18(2):197–201.

167. Чевари С, Чаба И, Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985;(11):678–81.
168. Чекман ІС, Поготова ГА, Небесна ТЮ, та ін. Квантово-фармакологічне дослідження антиоксидантних властивостей силімарину. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014;(2):24–8.
169. Черкасова ВВ. Роль молекул середньої маси при експериментальному L-аргінін індукованому панкреатиті та при корекції дексаметазоном. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2017;(2):125–30.
170. Чернова ВМ. Токсические поражения печени: современные взгляды и подходы к терапии. Острые и неотложные состояния в практике врача. 2011;(2):26–30.
171. Чумакова АС, Теплый ДЛ, Нестерова ЮВ. Изменения свободнорадикальных процессов в различных органах крыс разного возраста при остром стрессе. *Биологические исследования*. 2009;(4):34–7.
172. Шаповал ОН. Нестероидные противовоспалительные средства: проблемы и перспективы применения в медицинской практике. *Провизор*. 2004;(12):6–10.
173. Шаталова ОМ, Малоштан ЛМ. Гідрофільний екстракт сої у фармакологічній корекції порушень білкового обміну на моделі харчової депривації. *Одеський медичний журнал*. 2007;(3):35–7.
174. Шаталова ОМ. Вивчення анаболічної активності гідрофільного екстракту трави сої на моделі підвищеного катаболізму. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015;(4):13–6.
175. Шаталова ОМ. Дослідження анаболічної активності гідрофільного екстракту трави сої на моделі доксорубіцин індукованого катаболізму у щурів. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013;(3):35–9.
176. Шилкіна ЛМ, Іваницький ІВ, Світловська ІС, та ін. Клінічний випадок токсичного ураження печінки пестицидами. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2018;18(2):260–5.

177. Штробля АЛ, Фира ЛС, Лихацкий ПГ, и др. Изучение гепатозащитных свойств сухого экстракта из листьев абрикоса обыкновенного на модели поражения печени тетрахлорметаном. Вестник Российской академии медицинских наук. 2013;(3):68–72.
178. Штробля АЛ. Вивчення жовчовидільної та жовчоутворювальної функцій печінки в умовах тетрахлорметанового гепатиту після застосування екстракту з листя абрикоса звичайного. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2015;(1):132–4.
179. Ющишена ОВ, Цуркан ОО, Корабльова ОА. Жирні кислоти листя, стебел та суцвіть вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.). Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2014;(1):139–41.
180. Яковлева ЛВ, Безчаснюк ЕМ, Улесов АВ, и др. L-карнитин: свойства, препараты, медицинское применение. Укр. журн. клін. та лаб. мед. 2011;6(2):17–24.
181. Яковлева ЛВ, Марчишин СМ. Дослідження анаболічної дії екстракту пирію повзучого на моделі харчової депривації. Мед. хімія. 2005;7(4):85–7.
182. Яковлева ЛВ, Леницька ОБ, Геруш ОВ. Дослідження гепатозахисної активності препарату “Гепадиф” в умовах експериментального гострого тетрахлорметанового гепатиту. Клінічна фармація. 2010;(1):65–8.
183. Яковлева ЛВ, Марчишин СМ. Екстракт пирію повзучого — перспективний анаболічний засіб. Вісник фармації. 2006;(2):74–7.
184. Яковлева ЛВ, Цубанова НА, Марчишин СМ. Вивчення можливої ембріотоксичної дії нового анаболічного препарату екстракту пирію. Вісник фармації. 2006;(3):66–71.
185. Abbas ZK, Saggi S, Sakeran MI, Zidan N, Rehman H, Ansari AA. Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. Saudi J. Biol. Sci. 2015;22(3):322–6.

186. Abdallah RM, Hammoda HM, Radwan MM, El-Gazzar NS, Wanas AS, ElSohly MA, et al. Phytochemical and pharmacological appraisal of the aerial parts of *Lotus corniculatus* L. growing in Egypt. *Nat. Prod. Res.* 2020;1–4.
187. Abdel-Moneim AM, Al-Kahtani MA, El-Kersh MA, Al-Omair MA. Free radical-scavenging, anti-inflammatory/anti-fibrotic and hepatoprotective actions of taurine and silymarin against CCl<sub>4</sub> induced rat liver damage. *PLoS One.* 2015;10(12):e0144509.
188. Abdullah, Khan MA, Ahmad W, Ahmad M, Nisar M. Hepatoprotective effect of the solvent extracts of *Viola canescens* Wall. ex. Roxb. against CCl<sub>4</sub> induced toxicity through antioxidant and membrane stabilizing activity. *BMC Complement Altern. Med.* 2017;17(1):10.
189. Abenavoli L, Capasso R, Milic N, Capasso F. Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytother. Res.* 2010;24(10):1423–32.
190. Abenavoli L, Izzo AA, Milić N, Cicala C, Santini A, Capasso R. Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases. *Phytother. Res.* 2018;32(11):2202–13.
191. Adam G, Kw M, Straub P. Isolation and Characterization of a Virus Inhibitor from Spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of Phytopathology.* 2008;115(4):357–67.
192. Aida K, Allem R, Zahzeh T, Oulmane S, Tafroukhte Z. Abuse of androgenic anabolic drugs with “Cycling” induces hepatic steatosis in adult male mice. *Steroids.* 2019;155:108574.
193. Akalin PP, Ataseven VS, Fırat D, Ergün Y, Başpınar N, Özcan O. Selected biochemical and oxidative stress parameters and ceruloplasmin as acute phase protein associated with bovine leukaemia virus infection in dairy cows. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 2015;59(3):327–30.
194. Albasher G, Almeer R, Al-Otibi FO, Al-Kubaisi N, Mahmoud AM. Ameliorative effect of beta vulgaris root extract on chlorpyrifos-induced oxidative stress, inflammation and liver injury in rats. *Biomolecules.* 2019;9(7):261.

195. Allen K, Jaeschke H, Copple BL. Bile acids induce inflammatory genes in hepatocytes: a novel mechanism of inflammation during obstructive cholestasis. *Am. J. Pathol.* 2011;178(1):175–86.
196. Althnaian T, Albokhadaim I, El-Bahr SM. Biochemical and histopathological study in rats intoxicated with carbon tetrachloride and treated with camel milk. *Springerplus.* 2013;2(1):57.
197. Amdekar S, Roy P, Singh V, Kumar A, Singh R, Sharma P. Anti-inflammatory activity of lactobacillus on carrageenan-induced paw edema in male wistar rats. *Int. J. Inflam.* 2012;2012:752015.
198. Authier F, Desbuquois B. Glucagon receptors. *Cell Mol Life Sci.* 2008;12(65):1880–99.
199. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014;2014:360438.
200. Bag A, Bhattacharyya SK, Pal NK, Chattopadhyay RR. Anti-inflammatory, anti-lipid peroxidative, antioxidant and membrane stabilizing activities of hydroalcoholic extract of *Terminalia chebula* fruits. *Pharmaceutical Biology.* 2013;51(12):1515–20.
201. Baghdasaryan A, Fuchs CD, Österreicher CH, Lemberger UJ, Halilbasic E, Pählman I, et al. Inhibition of intestinal bile acid absorption improves cholestatic liver and bile duct injury in a mouse model of sclerosing cholangitis. *J. Hepatol.* 2016;64(3):674–81.
202. Bahashwan S, Hassan MH, Aly H, Ghobara MM, El-Beshbishy HA, Busati I. Crocin mitigates carbon tetrachloride-induced liver toxicity in rats. *J. Taibah Univ. Med. Sci.* 2015;10(2):140–9.
203. Bartels H, Bohmer M. Eine Mikromethode zur Kreatininbestimmung. *Clinical Chimica Acta.* 1971;32(1):81–85.
204. Belcastro E, Wu W, Fries-Raeth I, Corti A, Pompella A, Leroy P, et al. Oxidative stress enhances and modulates protein S-nitrosation in smooth muscle cells exposed to S-nitrosoglutathione. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2017;(69):10–21.

205. Berrazaga I, Micard V, Gueugneau M, Walrand S. The role of the anabolic properties of plant- versus animal-based protein sources in supporting muscle mass maintenance: A critical review. *Nutrients*. 2019;11(8):1825.
206. Berrazaga I, Salles J, Laleg K, Guillet C, Patrac V, Giraudet C, et al. Anabolic Properties of Mixed Wheat-Legume Pasta Products in Old Rats: Impact on Whole-Body Protein Retention and Skeletal Muscle Protein Synthesis. *Nutrients*. 2020;12(6):1596.
207. Bhakuni GS, Bedi O, Bariwal J, Deshmukh R, Kumar P. Animal models of hepatotoxicity. *Inflamm. Res*. 2016;65(1):13–24.
208. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol. Rev*. 2014;94(2):329–54.
209. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J*. 2012;5(1):9–19.
210. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *J. Physiol. Pharmacol*. 2005;56(5):33–55.
211. Bunchorntavakul C, Reddy KR. Review article: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol. Ther*. 2013;37(1):3–17.
212. Calderon RM, Cubeddu LX, Goldberg RB, Schiff ER. Statins in the treatment of dyslipidemia in the presence of elevated liver aminotransferase levels: a therapeutic dilemma. *Mayo Clin. Proc*. 2010;85(4):349–56.
213. Cheshchevik VT, Lapshina EA, Dremza IK, Zabrodskaya SV, Reiter RJ, Prokopchik NI, et al. Rat liver mitochondrial damage under acute or chronic carbon tetrachloride-induced intoxication: protection by melatonin and cranberry flavonoids. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 2012;261(3):271–9.
214. Cichoż-Lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J. Gastroenterol*. 2014;20(25):8082–91.

215. Conrad M, Kagan VE, Bayir H, Pagnussat GC, Head B, Traber MG, et al. Regulation of lipid peroxidation and ferroptosis in diverse species. *Genes Dev.* 2018;32(9–10):602–19.
216. Cooper AJ, Pinto JT, Callery PS. Reversible and irreversible protein glutathionylation: biological and clinical aspects. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2011;7(7):891–910.
217. Cundiff HI, Rosenthal HL. New biuret reagent for the determination of proteins in cerebrospinal fluid. *Clin. Chem.* 1956;2(6):394–400.
218. Dai J, Liu M, Ai Q, Lin L, Wu K, Deng X, et al. Involvement of catalase in the protective benefits of metformin in mice with oxidative liver injury. *Chem. Biol. Interact.* 2014;216:34–42.
219. Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radic. Biol. Med.* 2013;62:170–85.
220. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016;2016:1245049.
221. Dietze S, Lees KR, Fink H, Brosda J, Voigt J-P. Food deprivation, body weight loss and anxiety-related behavior in rats. *Animals (Basel).* 2016;6(1):4.
222. Dongare PP, Dhande SR, Kadam VJ. Standardization of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat. *Am. J. PharmTech Res.* 2013;3(5):438–445.
223. Donnelly MC, Davidson JS, Martin K, Baird A, Hayes PC, Simpson KJ. Acute liver failure in Scotland: changes in aetiology and outcomes over time (the Scottish Look-Back Study). *Aliment Pharmacol. Ther.* 2017;45(6):833–43.
224. Edman K, Ericson I. Phospholipid and fatty acid composition in mitochondria from spinach (*Spinacia oleracea*) leaves and petioles. A comparative study. *Biochem. J.* 1987;243(2):575–8.
225. Eroğlu Ö, Yuksel S. Statistical method selection in medical research. *Soc. Sci. Stud. J.* 2019;5(29):364–71.



226. Estévez M, Xiong Y. Intake of oxidized proteins and amino acids and causative oxidative stress and disease: Recent scientific evidences and hypotheses: Protein oxidation and oxidative stress. *J. Food. Sci.* 2019;84(3):387–96.
227. Ezhilarasan D. Oxidative stress is bane in chronic liver diseases: Clinical and experimental perspective. *Arab. J. Gastroenterol.* 2018;19(2):56–64.
228. Fabbrini E, Magkos F. Hepatic steatosis as a marker of metabolic dysfunction. *Nutrients.* 2015;7(6):4995–5019.
229. Fabiny DL, Ertingshausen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the Centrifichem. *Clin. Chem.* 1971;17(8):696–700.
230. Farzaei M, Zobeiri M, Parvizi F, El-Senduny F, Marmouzi I, Coy-Barrera E, et al. Curcumin in liver diseases: A systematic review of the cellular mechanisms of oxidative stress and clinical perspective. *Nutrients.* 2018;10(7):855.
231. Fernandez A, Kirsch I, Noël L, Rodondi PY, Kaptchuk TJ, Suter MR, et al. A test of positive suggestions about side effects as a way of enhancing the analgesic response to NSAIDs. *PLoS One.* 2019;14(1):e0209851.
232. Ferreres F, Castaner M, Tomas-Barberan FA. Acylated flavonol glycoside from spinach leaves (*Spinacia oleracea*). *Photochemistry.* 1997;45(8):1701–5.
233. Fokunang CN, Fokunang ET, Frederick K, Ngameni B, Ngadjui B. Overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in resource limited countries. *MOJ Toxicol.* 2018;4(1):5–13.
234. Freitinger SZ, Zölzer F, Beránek L, Racek J. Indicators of oxidative stress after ionizing and/or non-ionizing radiation: superoxid dismutase and malondialdehyde. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2012;117:111–4.
235. Fulzele V, Shedage AT, Dhas AG, Smith A, Gaikwad TV, Kirtane SR. Comparative hepatoprotective activity of Liv-52 and Silymarine against hepatotoxicity induced by antiandrogen - Bicalutamide in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2012;4(3):211–3.

236. Gaikwad PS, Shete RV, Otari KV. *Spinacia oleracea* Linn: a pharmacognostic and pharmacological overview. *International Journal of Research in Ayurveda Pharmacy*. 2010;1(1):78–84.
237. Gamkrelidze N, Sanikidze T, Pavliashvili N, Petriashvili T, Topuridze M. Changes of lipoperoxidation and antioxidative enzymes during crush-syndrome modelling. *Georgian med. news*. 2016;251:84–8.
238. Gariani K, Ryu D, Menzies KJ, Yi H-S, Stein S, Zhang H, et al. Inhibiting poly ADP-ribosylation increases fatty acid oxidation and protects against fatty liver disease. *J. Hepatol*. 2017;66(1):132–41.
239. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2017;482(3):419–25.
240. Ghafoory S, Breitkopf-Heinlein K, Li Q, Scholl C, Dooley S, Wöfl S. Zonation of nitrogen and glucose metabolism gene expression upon acute liver damage in mouse. *PLoS One*. 2013;8(10):e78262.
241. Ghosh N, Ghosh R, Mandal V, Mandal SC. Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases. *Pharm. Biol*. 2011;49(9):970–88.
242. Girish C, Pradhan SC. Hepatoprotective activities of picroliv, curcumin, and ellagic acid compared to silymarin on carbon-tetrachloride-induced liver toxicity in mice. *J. Pharmacol. Pharmacother*. 2012;3(2):149–55.
243. Głazowska J, Kamiński MM, Kamiński M. Chromatographic separation, determination and identification of ecdysteroids: Focus on Maral root (*Rhaponticum carthamoides*, *Leuzea carthamoides*). *J. Sep. Sci*. 2018;41(23):4304–14.
244. Gorissen S, Witard O. Characterising the muscle anabolic potential of dairy, meat and plant-based protein sources in older adults. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2018;77(1):20–31.
245. Gross D, Tolba R. Ethics in animal-based research. *Eur. Surg. Res*. 2015;55(1–2):43–57.
246. Gu X, Manautou J. Molecular mechanisms underlying chemical liver injury. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2012;14:e4.

247. Guang HY, Yun HC. Sparassis crispa Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury in Rats. *Korean Journal of Physical Anthropology*. 2014;27(3):113–22.
248. Guéraud F, Atalay M, Bresgen N, Cipak A, Eckl PM, Huc L, et al. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radic. Res*. 2010;44(10):1098–124.
249. Hill BG, Ramana KV, Jian Cai J, Bhatnagar A, Srivastava SK. Measurement and identification of s-glutathiolated proteins. *Methods Enzymol*. 2010;473:179–197.
250. Horváth E, Bela K, Gallé Á, Riyazuddin R, Csomor G, Csenki D, et al. Compensation of mutation in arabidopsis glutathione transferase (AtGSTU) genes under control or salt stress conditions. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21(7):2349.
251. Hrytsyk RA, Struk OA, Ivanochko VM. Investigation of the effect of Artemisia l. Herb extracts on the progress of the toxic tetrachloromethane liver damage. *Med. Clin. Chem*. 2020;(4):147–55.
252. Hsu Y-J, Wang C-Y, Lee M-C, Huang C-C. Hepatoprotection by traditional essence of ginseng against carbon tetrachloride-induced liver damage. *Nutrients*. 2020;12(10):3214.
253. Huseini HF, Alavian SM, Heshmat R, Heydari MR, Abolmaali K. The efficacy of Liv-52 on liver cirrhotic patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled first approach. *Phytomedicine*. 2005;12(9):619–24.
254. Igbokwe NA. A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility. *Sokoto J. Vet. Sci*. 2019;16(4):1–23.
255. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J. Med*. 2018;54(4):287–93.
256. Imlay JA. The mismetallation of enzymes during oxidative stress. *Biol. Chem*. 2014;289(41):28121–8.

257. Ip EJ, Doroudgar S, Lau B, Barnett MJ. Anabolic steroid users' misuse of non-traditional prescription drugs. *Res. Social Adm. Pharm.* 2019;15(8):949–52.
258. Iskusnykh IY, Popova TN, Aleksander AA, Pinheiro de Carvalho MA, Rjevskiy SG. Expression of Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase and Level of Free Radical Processes under Toxic Hepatitis in Rats. *Journal of Toxicology.* 2013;2013:870628.
259. Islam O, Azad AK, Mustafezur RM, Khorshed AA, Khairuzzaman M, Ferdous J, et al. Phytochemical profiling and evaluation of antioxidant and antidiabetic activity of methanol extract of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Int. J. Pharm. Sci. & Scient. Res.* 2018;4(1):24–7.
260. Iwata T, Kantarci A, Yagi M, Jackson T, Hasturk H, Kurihara H, et al. Ceruloplasmin induces polymorphonuclear leukocyte priming in localized aggressive periodontitis. *J. Periodontol.* 2009;80(8):1300–6.
261. Jahan A, Shams S, Ali S, Samrana S, Ali A, Adhikari A, et al. Govaniadine ameliorates oxidative stress, inflammation, and Kupffer cell activation in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *ACS Omega.* 2021;6(4):2462–72.
262. Jahani A, Bozorgmehri-Fard M, Kiaei S, Hesarakhi S, Sheikhi N. Study The protective effects of *Cichorium intybus* L. root extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in broiler chickens. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences.* 2021;52(1):23–30.
263. Jaime L, Vázquez E, Fornari T, López-Hazas MDC, García-Risco MR, Santoyo S, et al. Extraction of functional ingredients from spinach (*Spinacia oleracea* L.) using liquid solvent and supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2014;95(4):722–9.
264. Jiraungkoorskul W. Review of neuro–nutrition used as anti–alzheimer plant, spinach, *Spinacia oleracea*. *Pharmacognosy Reviews.* 2016;10(20):105–8.
265. Katerji M, Filippova M, Duerksen-Hughes P. Approaches and methods to measure oxidative stress in clinical samples: Research applications in the cancer field. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019;2019:1279250.

266. Kavalappa YP, Gopal SS, Ponesakki G. Lutein inhibits breast cancer cell growth by suppressing antioxidant and cell survival signals and induces apoptosis. *J. Cell. Physiol.* 2021;236(3):1798–809.
267. Kim H-Y, Choi S, Yoon J-H, Lim HJ, Lee H, Choi J, et al. Small molecule inhibitors of the Dishevelled-CXXC5 interaction are new drug candidates for bone anabolic osteoporosis therapy. *EMBO Mol. Med.* 2016;8(4):375–87.
268. Ko SH, Park JH, Kim SY, Lee SW, Chun SS, Park E. Antioxidant Effects of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) supplementation in hyperlipidemic rats. *Preventive Nutrition and Food Science.* 2014;19(1):19–26.
269. Koliaki C, Szendroedi J, Kaul K, Jelenik T, Nowotny P, Jankowiak F, et al. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell Metab.* 2015;21(5):739–46.
270. Kuru S, Kismet K, Barlas AM, Tuncal S, Celepli P, Surer H, et al. The effect of montelukast on liver damage in an experimental obstructive jaundice model. *Viszeralmedizin.* 2015;31(2):131–8.
271. Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology.* 2008;135(1):41–60.
272. Lalminghlui K, Jagetia GC. Evaluation of the free-radical scavenging and antioxidant activities of Chilauni, *Schima wallichii* Korth in vitro. *Future Sci. OA.* 2018;4(2):FSO272.
273. Li X, Chen Y, Ye W, Tao X, Zhu J, Wu S, et al. Blockade of CCN4 attenuates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis. *Arch. Med. Sci.* 2015;11(3):647–53.
274. Li X-X, Zheng Q-C, Wang Y, Zhang H-X. Theoretical insights into the reductive metabolism of CCl<sub>4</sub> by cytochrome P450 enzymes and the CCl<sub>4</sub>-dependent suicidal inactivation of P450. *Dalton Trans.* 2014;43(39):14833–40.
275. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging.* 2018;13:757–72.
276. Lin SC, Heba E, Bettencourt R, Lin GY, Valasek MA, Lunde O, et al. Assessment of treatment response in non-alcoholic steatohepatitis using advanced magnetic resonance imaging. *Aliment Pharmacol. Ther.* 2017;45(6):844–54.

277. Linder MC. Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update. *Metallomics: integrated biometal science*. 2016;8(9):887–905.
278. Liu W, Hou T, Shi W, Guo D, He H. Hepatoprotective effects of selenium-biofortified soybean peptides on liver fibrosis induced by tetrachloromethane. *J. Funct. Foods*. 2018;50:183–91.
279. Luo J, Long Y, Ren G, Zhang Y, Chen J, Huang R, et al. Punicalagin reversed the hepatic injury of tetrachloromethane by antioxidation and enhancement of autophagy. *J. Med. Food*. 2019;22(12):1271–9.
280. Lushchak VI, Bagnyukova TV. Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol*. 2006;144(3):283–9.
281. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem. Biol. Interact*. 2014;224:164–75.
282. Lyhatskiy PG, Fira LS, Medvid II. Age-related changes in the protection systems of rats organism after the intoxication by sodium nitrite. In: Abstracts of the 7th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry; 2013 May, 23-24. Lviv, Ukraine. 2013. p. 99.
283. Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *Journal of Hepatology*. 2011;54(4):795–809.
284. Mandal S, Hazra B, Sarkar R, Biswas S, Mandal N. Assessment of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging activity of methanolic extract of *Caesalpinia crista* leaf. *Evid. Based Complement Alternat. Med*. 2011;2011:173768.
285. Mandal SM, Dias RO, Franco OL. Phenolic compounds in antimicrobial therapy. *J. Med. Food*. 2017;20(10):1031–8.
286. Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. 2007;25(3):185–209.

287. Marcella GM, Sánchez V, Katherine P, Caroline LA, Maria BE, Franco N, et al. Cyclooxygenase biology in renal function - literature review. *Rev. colom. nefro.* 2017;4(1):27–37.
288. Marinković P, Pesić V, Loncarević N, Smiljanić K, Kanazir S, Ruzdijić S. Behavioral and biochemical effects of various food-restriction regimens in the rats. *Physiol. Behav.* 2007;92(3):492–9.
289. Martin LD, Rochelle LG, Fischer BM, Krunkosky TM, Adler KB. Airway epithelium as an effector of inflammation molecular regulation of secondary mediators. *European Respiratory Journal.* 1997;10(9):2139–46.
290. Masarone M, Rosato V, Dallio M, Gravina AG, Aglitti A, Loguercio C, et al. Role of oxidative stress in pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018;2018:9547613.
291. Mazur OO. Role of active forms of oxygen in the aging process (literature review). *Deutscher Wissenschaftsherold.* 2016;(3):24–8.
292. McGill MR. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI Journal.* 2016;15:817–28.
293. Menghini L, Genovese S, Epifano F, Tirillini B, Ferrante C, Leporini L. Antiproliferative, protective and antioxidant effects of artichoke, dandelion, turmeric and rosemary extracts and their formulation. *Int J. Immunopathol. Pharmacol.* 2010;23(2):601–10.
294. Messina M, Erdman J Jr, Setchell KDR. Introduction to and perspectives from the fifth international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. *J. Nutr.* 2004;134(5):1205S-1206S.
295. Messina M, Ho S, Alekel DL. Skeletal benefits of soy isoflavones: a review of the clinical trial and epidemiologic. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2004;7(6):649–58.
296. Metha D, Belemkar S. Pharmacological activity of *spinacia oleracea* linn. - a complete overview. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development.* 2014;2(1):83–93.

297. Milić N, Milosević N, Suvajdžić L, Zarkov M, Abenavoli L. New therapeutic potentials of milk thistle (*Silybum marianum*). *Nat. Prod. Commun.* 2013;8(12):1801–10.
298. Moole H, Ahmed Z, Saxena N, Puli SR, Dhillon S. Oral clindamycin causing acute cholestatic hepatitis without ductopenia: a brief review of idiosyncratic drug-induced liver injury and a case report. *J. Community. Hosp. Intern. Med. Perspect.* 2015;5(5):28746.
299. Muriel P. Role of free radicals in liver diseases. *Hepatology International.* 2009;3(4):526–36.
300. Narsing Rao G, Prabhakara Rao G, Sulochanamma G, Satyanarayan A. Physico-chemical aminoacid composition, fatty acid profile, functional and antioxidant properties of *Spinacia oleracea* L. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences.* 2015;(3):27–37.
301. Nazıroğlu M. Molecular role of catalase on oxidative stress-induced Ca<sup>2+</sup> signaling and TRP cation channel activation in nervous system. *Journal of Receptors and Signal Transduction.* 2012;32(3):134–41.
302. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P. Determination of the effective dose of dry extract *Spinacia oleracea* L. leaf on the model of food deprivation in rats. *International Independent Scientific Journal.* 2020;14:47–51.
303. Okudo J, Anusim N. Hepatotoxicity due to clindamycin in combination with acetaminophen in a 62-year-old African American female: A case report and review of the literature. *Case Reports Hepatol.* 2016;2016:2724738.
304. Patil UK, Dave S, Bhaiji A, Baghel US, Yadav SK, Sharma VK. In-vitro anthelmintic activity of leaves of *Spinacia oleraceae* Linn. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research.* 2009;1(1):21–3.
305. Powers T, Morimoto RI, Dillin A, Kelly JW, Balch WE. Biological and chemical approaches to diseases of proteostasis deficiency. *Annual Review of Biochemistry.* 2009;78:959–91.
306. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia.* 2011;82(4):513–23.



307. Quesada-Romero L, Fernández-Galleguillos C, Bergmann J, Amorós M-E, Jiménez-Aspee F, González A, et al. Phenolic fingerprinting, antioxidant, and deterrent potentials of *Persicaria maculosa* extracts. *Molecules*. 2020;25(13):3054.
308. Rahmani S, Asgary S, Askari G, Keshvari M, Hatamipour M, Feizi A, et al. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease with curcumin: A randomized placebo-controlled trial: Curcumin supplementation for NAFLD. *Phyther. Res*. 2016;30(9):1540–8.
309. Ray PD, Huang BW, & Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*. 2012;24(5):981–90.
310. Rehecho S, Hidalgo O, García-Iñiguez de Cirano M, Navarro I, Astiasarán I, Ansorena D, et al. Chemical composition, mineral content and antioxidant activity of *Verbena officinalis* L. *Lebenson Wiss. Technol*. 2011;44(4):875–82.
311. Reitman S, Frankel S. Definition of biochemical indicators of the toxicity of liver. *Amer. J. Clin. Path*. 1957;28(1):56–60.
312. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2011;31(5):986–1000.
313. Ritesh KR, Suganya A, Dileepkumar HV, Rajashekar Y, Shivanandappa T. A single acute hepatotoxic dose of CCl<sub>4</sub> causes oxidative stress in the rat brain. *Toxicol. Rep*. 2015;2:891–5.
314. Rustan AC, Drevon CA. Fatty acids: structures and properties. *Encyclopedia of Lifesciences*. 2005;(9):1–7.
315. Sangeetha N, Aranganathan S, Panneerselvam J, Shanthi P, Rama G, Nalini N. Oral supplementation of silibinin prevents colon carcinogenesis in a long term preclinical model. *Eur. J. Pharmacol*. 2010;643(1):93–100.
316. Sansbury BE, Spite M. Resolution of acute inflammation and the role of resolvins in immunity, thrombosis, and vascular biology. *Circ. Res*. 2016;119(1):113–30.

317. Santos RP, Pereira A, Guedes H, Lourenço C, Azevedo J, Pinto P. Anabolic drugs and myocardial infarction - a clinical case report. *Arq. Bras. Cardiol.* 2015;105(3):316–9.
318. Schellong G, Wende U. Mikromethode zur Bestimmung des Serum bilirubins aus Kapillarblut bei Neugeborenen. *Arch. Kinderheilkunde.* 1960;162:126–35.
319. Shakhmardanova SA, Babaniyazova ZH, Tarasov VV, Pevnev GO, Chubarev VN, Sologova SS. Protective effect of acyazol in a model of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Bionanoscience.* 2017;7(2):329–32.
320. Shrestha P, Yun J-H, Kim WT, Kim T-Y, Lee W. Cloning, purification, and characterization of recombinant human extracellular superoxide dismutase in SF9 insect cells. *Mol. Cells.* 2016;39(3):242–9.
321. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry.* 2017;86(1):715–748.
322. Singh S, Bansal A, Kumar P. CRP levels in viral hepatitis: A meta-analysis study. *Int. J. Infect.* 2020;8(1):e108958.
323. Spiller F, Alves MK, Vieira SM, Carvalho TA, Leite CE, Lunardelli A, et al. Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2008;60(4):473–8.
324. Su L-J, Zhang J-H, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019;2019:5080843.
325. Sultana B, Anwar F. Flavonols (kampeferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chem.* 2008;108(3):879–84.
326. Sumbul S, Ahmad MA, Mohd A, Mohd A. Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview. *J. Pharm. Bioallied. Sci.* 2011;3(3):361–7.
327. Surai PF, Fisinin VI. Antioxidant-Prooxidant Balance in the Intestine: Applications in Chick Placement and Pig Weaning. *J. Vet. Sci. Med.* 2015;3(1):1–16.

328. Taleb MH, Almasri IM, Siam NI, Najim AA, Ahmed AI. The effect of atorvastatin on liver function among patients with coronary heart disease in Gaza strip. *Pharmacol. Pharm.* 2014;5(8):781–8.
329. Talke H, Schubert GE. Enzymatic urea determination in the blood and serum in Warburg optical test. *Klinische Wochenschrift.* 1965;(41):174–5.
330. Tarrant J, Meyer D, Katavolos P. Use of optimized aminotransferase methods in regulated preclinical studies. *Veterinary Clinical Pathology.* 2013;42(4):535–8.
331. Thiem B, Kikowska M, Maliński MP, Kruszka D, Napierała M, Florek E. Ecdysteroids: production in plant in vitro cultures. *Phytochem. Rev.* 2017;16(4):603–22.
332. Trouillas P, Marsal P, Svobodová A, Vostálová J, Gažák R, Hrbáč J, et al. Mechanism of the antioxidant action of silybin and 2,3-dehydrosilybin flavolignans: a joint experimental and theoretical study. *J. Phys. Chem.* 2008;112(5):1054–63.
333. Verbeek J, Lannoo M, Pirinen E, Ryu D, Spincemaille P, Vander Elst I, et al. Roux-en-y gastric bypass attenuates hepatic mitochondrial dysfunction in mice with non-alcoholic steatohepatitis. *Gut.* 2015;64(4):673–83.
334. Verma RK, Sisodia R, Bhatia AL. Role of *Spinacia oleracea* as Antioxidant: A biochemical study on mice brain after exposure of gamma radiation. *Asian Journal of Experimental Sciences.* 2003;17:51–7.
335. Verster JC, Brady K, Galanter M, Conrod P, editors. *Drug Abuse and Addiction in Medical Illness: Causes, Consequences and Treatment.* Berlin, Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2012. p. 251–64.
336. Vilahur G, Sutelman P, Mendieta G, Ben-Aicha S, Borrell-Pages M, Peña E, et al. Triglyceride-induced cardiac lipotoxicity is mitigated by *Silybum marianum*. *Atherosclerosis.* 2021;324:91–101.
337. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology.* 2003;33(2):105–36.

338. Wróblewska A, Janda K, Makuch E, Walasek M, Miądlicki P, Jakubczyk K. Effect of extraction method on the antioxidative activity of ground elder (*Aegopodium podagraria* L.). *Pol. J. Chem. Technol.* 2019;21(3):13–8.
339. Xia N, Pautz A, Wollscheid U, Reifenberg G, Förstermann U, Li H. Artichoke, cynarin and cyanidin downregulate the expression of inducible nitric oxide synthase in human coronary smooth muscle cells. *Molecules.* 2014;19(3):3654–68.
340. Yang X, Wang G, Gong X, Huang C, Mao Q, Zeng L, et al. Effects of chronic stress on intestinal amino acid pathways. *Physiol. Behav.* 2019;204:199–209.
341. Younis T, Khan MR, Sajid M, Majid M, Zahra Z, Shah NA. *Fraxinus xanthoxyloides* leaves reduced the level of inflammatory mediators during in vitro and in vivo studies. *BMC Complement Altern. Med.* 2016;16(1):230.
342. Yuan L, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver injury. *Clin. Liver Dis.* 2013;17(4):507–18.

## ДОДАТОК А

### СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА

1. Никифоруk АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Експериментальне обґрунтування безпечності густого екстракту зі шпинату городнього. Український біофармацевтичний журнал. 2018;(3):16–21.
2. Никифоруk АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Встановлення ефективної дози густого екстракту з листя шпинату городнього на моделі токсичного ураження печінки. Фітотерапія. Часопис. 2018;(3):38–42.
3. Никифоруk АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листя на моделі тетрахлорметанового ураження печінки. Медична та клінічна хімія. 2018;20(4):36–43.
4. Никифоруk АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження протизапальних властивостей густого екстракту з листя шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.). Фітотерапія. Часопис. 2019;(1):85–8.
5. Никифоруk АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Перспективність застосування густого екстракту з шпинату городнього листя як мембранопротекторного засобу за умов токсичного гепатиту. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):74–82.
6. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P. Determination of the effective dose of dry extract *Spinacia oleracea* L. leaf on the model of food deprivation in rats. International independent scientific journal. 2020;(14):47–51.
7. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P, Pyda V. Experimental research of garden spinach extract as a potential anabolic medicinal product. Pharmacia. 2020;67(4):277–82.
8. Петровська УВ, Никифоруk АЯ, Журавель ІО, Фіра ЛС винахідники; Петровська УВ, патентовласник. Лікарський рослинний засіб з гепатопротекторною активністю. Патент на корисну модель № 136789. Бюлетень №16. 2019 серпень 27.

9. Никифорок АЯ, Фіра ЛС. Дослідження гострої токсичності густого екстракту з листя шпинату городнього. В: Матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2018 верес. 27-28; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018; с. 282-3.

10. Никифорок АЯ. Вплив густого екстракту з листя шпинату городнього на показники ендогенної антиоксидантної системи шурів за токсичного гепатиту. В: Матеріали XXIII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2019 квіт. 15-17; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2019; с. 227.

11. Никифорок АЯ, Фіра ЛС. Дослідження мембранопротекторних властивостей густого екстракту з листя шпинату городнього. В: Матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю. Хімія природних сполук; 2019 трав. 30-31; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ; 2019; с. 98-9.

12. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження гострої токсичності білково-ліпідного комплексу зі шпинату городнього листя. В: Матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції. Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження; 2020 берез. 11; Харків. Харків: НФаУ; 2020; с. 113.

13. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження протизапальної активності сухого екстракту зі шпинату городнього листя. В: Матеріали VIII науково-практичної конференції з міжнародною участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2020 верес. 23-24; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2020; с. 294-5.

14. Никифорок АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Дослідження мембранопротекторних властивостей густого екстракту зі шпинату городнього листя. В: Матеріали науково-практичної дистанційної конференції з

міжнародною участю. Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії; 2020 жовт. 2; Харків. Харків: НФаУ; 2020; с. 31.

15. Никифрук АЯ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Активність процесів жовчевиділення в щурів за умов токсичного гепатиту та вплив на них густого екстракту зі шпинату городнього листя. В: Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм, присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О (Галицькі читання II); 2020 жовт. 29-30; Тернопіль. Тернопіль: ТНМУ; 2020; с. 79-80.

## ДОДАТОК Б

### ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

- VII Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р.) *(публікація)*;

- XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.) *(публікація)*;

- V Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р.) *(доповідь, публікація)*;

- II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (м. Харків, 11 березня 2020 р.) *(публікація)*;

- VIII Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р.) *(доповідь, публікація)*;

- Науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (м. Харків, 2 жовтня 2020 р.) *(публікація)*;

- XII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Галицькі читання II) (м. Тернопіль, 29-30 жовтня) *(публікація)*;



## ДОДАТОК В

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 136789

ЛІКАРСЬКИЙ РОСЛИННИЙ ЗАСІБ З  
ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ АКТИВНІСТЮ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 27.08.2019.

Заступник Міністра економічного розвитку і торгівлі України

Ю.П. Бровченко



(11) **136789**(19) **UA**(51) МПК (2019.01)  
**A61K 36/00**  
A61P 1/16 (2006.01)(21) Номер заявки: **u 2019 06898**(22) Дата подання заявки: **20.06.2019**(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну модель: **27.08.2019**(46) Дата публікації відомостей  
про видачу патенту та  
номер бюлетеня: **27.08.2019,**  
**Бюл. № 16**(72) Винахідники:  
**Петровська Уляна**  
**Василівна, UA,**  
**Никифорук Андрій**  
**Ярославович, UA,**  
**Журавель Ірина**  
**Олександрівна, UA,**  
**Фіра Людмила Степанівна,**  
**UA**(73) Власник:  
**Петровська Уляна**  
**Василівна,**  
прос. Тракторобудівників, 85 А,  
кв. 26, м. Харків, 61123, UA

(54) Назва корисної моделі:

**ЛІКАРСЬКИЙ РОСЛИННИЙ ЗАСІБ З ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ АКТИВНІСТЮ**

(57) Формула корисної моделі:

Лікарський рослинний засіб з гепатопротекторною активністю, що містить витяжки з природних компонентів, який відрізняється тим, що як витяжки з природних компонентів використовують шпинату городнього густий екстракт на 40 % етиловому спирті при співвідношенні сировини і екстрагенту 1:5.

(11) **136789**

Державне підприємство  
«Український інститут інтелектуальної власності»  
(Укрпатент)

Оригіналом цього документа є електронний документ з відповідними реквізитами, у тому числі з накладеним електронним цифровим підписом уповноваженої особи Міністерства економічного розвитку і торгівлі України та сформованою позначкою часу.

Ідентифікатор електронного документа 4989220819.

Для отримання оригіналу документа необхідно:

1. Зайти до ІДС «Стан діловодства за заявками на винаходи та корисні моделі», яка розташована на сторінці <http://base.uipv.org/searchInvStat/>.
2. Виконати пошук за номером заявки.
3. У розділі «Документи Укрпатенту» поруч з реєстраційним номером документа натиснути кнопку «Завантажити оригінал» та ввести ідентифікатор електронного документа.

Ідентичний за документарною інформацією та реквізитами паперовий примірник цього документа містить 2 арк., які пронумеровані та прошиті металевими люверсами.

Уповноважена особа Укрпатенту

І.Є. Матусевич

27.08.2019





## ДОДАТОК Г.1

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
Проректор з науково-педагогічної роботи  
Буковинського державного медичного  
університету



І.В. Геруш

2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа за токсичного гепатиту як перспективного антиоксидантного засобу.
- 2. Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармації факультету післядипломної освіти, Никифорок Андрій Ярославович.
- 3. Джерело інформації:** 1. Никифорок А.Я., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листа на моделі тетрахлорметанового ураження печінки // Медична та клінічна хімія. – 2018. – Том 20, № 4 (77). – С. 36-43.  
2. Никифорок А.Я., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Встановлення ефективної дози густого екстракту з листа шпинату городнього на моделі токсичного ураження печінки // Журнал "Фітотерапія. Часопис." – 2018. – № 3. – С. 38-42.
- 4. Де впроваджено:** кафедра фармації Буковинського державного медичного університету (БДМУ)
- 5. Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення антиоксидантних властивостей нових рослинних засобів
- 7. Строки впровадження:** 2020-2021 н.р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації БДМУ  
к. фарм. н., доцент

О.В. Геруш

## ДОДАТОК Г.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Буковинського державного медичного  
університету

І.В. Геруш

2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Ефективність застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листа за харчової депривації.

**2. Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармації факультету післядипломної освіти, Никифорок Андрій Ярославович.

**3. Джерело інформації:** 1. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P, Pyda V. Experimental research of garden spinach extract as a potential anabolic medicinal product // Pharmacia. 2020. – 67(4). – P. 277-282.

2. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P. Determination of the effective dose of dry extract Spinacia oleracea L. leaf on the model of food deprivation in rats // International independent scientific journal. – 2020. – № 14. – P. 47-51.

**4. Де впроваджено:** кафедра фармації Буковинського державного медичного університету (БДМУ)

**5. Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.

**6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення анаболічних властивостей нових рослинних засобів

**7. Строки впровадження:** 2020-2021 н.р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації БДМУ  
к. фарм. н., доцент

О.В. Геруш

## ДОДАТОК Г.3

«Затверджую»  
 Перший проректор Івано-Франківського  
 національного медичного університету  
 професор М. Ерстенюк  
 \_\_\_\_\_ 2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа за токсичного гепатиту як перспективного антиоксидантного засобу
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармації факультету післядипломної освіти, Никифрук Андрій Ярославович.
3. **Джерело інформації:** 1. Никифрук А.Я., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листа на моделі тетрахлорметанового ураження печінки // Медична та клінічна хімія. – 2018. – Том 20, № 4 (77). – С. 36-43.  
 2. Никифрук А.Я., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Встановлення ефективної дози густого екстракту з листа шпинату городнього на моделі токсичного ураження печінки // Журнал "Фітотерапія. Часопис." – 2018. – № 3. – С. 38-42.
4. **Де впроваджено:** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра фармації
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення антиоксидантних властивостей нових рослинних засобів
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 н.р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації,  
 доктор фарм.наук, професор

А.Р. Грицик



## ДОДАТОК Г.4

«Затверджую»  
Перший проректор Івано-Франківського  
національного медичного університету  
професор Г.М. Єретенюк  
2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** ефективність застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листа за харчової депривації
- 2. Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармації факультету післядипломної освіти, Никифорок Андрій Ярославович.
- 3. Джерело інформації:** 1. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P, Pyda V. Experimental research of garden spinach extract as a potential anabolic medicinal product // Pharmacia. 2020. – 67(4). – P. 277-282.  
2. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P. Determination of the effective dose of dry extract Spinacia oleracea L. leaf on the model of food deprivation in rats // International independent scientific journal. – 2020. – № 14. – P. 47-51.
- 4. Де впроваджено:** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра фармації
- 5. Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення анаболічних властивостей нових рослинних засобів
- 7. Строки впровадження:** 2020-2021 н.р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації,  
доктор фарм.наук, професор



А.Р. Грицик

## ДОДАТОК Г.5

«Затверджую»

Проректор з наукової роботи Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України  
 професор І.М. Кліщ  
 2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Ефективність застосування сухого екстракту зі шпинату городнього листа за харчової депривації
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармації факультету післядипломної освіти, Никифорок Андрій Ярославович.
3. **Джерело інформації:** 1. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P, Pyda V. Experimental research of garden spinach extract as a potential anabolic medicinal product // Pharmacia. 2020. – 67(4). – P. 277-282.  
 2. Nykyforuk A, Fira L, Lykhatskyi P. Determination of the effective dose of dry extract Spinacia oleracea L. leaf on the model of food deprivation in rats // International independent scientific journal. – 2020. – № 14. – P. 47-51.
4. **Де впроваджено:** Тернопільський національний медичний університет, кафедра фармакології з клінічною фармакологією
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення анаболічних властивостей нових рослинних засобів
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 н.р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології з клінічною фармакологією,  
 доктор мед.наук, професор

О.М. Олещук



## ДОДАТОК Г.6

«Затверджую»

Проректор з наукової роботи Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України  
 професор І.М. Кліщ  
 2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа за токсичного гепатиту як перспективного антиоксидантного засобу
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармації факультету післядипломної освіти, Никифорок Андрій Ярославович.
3. **Джерело інформації:** 1. Никифорок А.Я., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листа на моделі тетрахлорметанового ураження печінки // Медична та клінічна хімія. – 2018. – Том 20, № 4 (77). – С. 36-43.  
 2. Никифорок А.Я., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Встановлення ефективної дози густого екстракту з листа шпинату городнього на моделі токсичного ураження печінки // Журнал “Фітотерапія. Часопис.” – 2018. – № 3. – С. 38-42.
4. **Де впроваджено:** Тернопільський національний медичний університет, кафедра фармакології з клінічною фармакологією
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення антиоксидантних властивостей нових рослинних засобів
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 н.р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармакології з  
 клінічною фармакологією,  
 доктор мед.наук, професор

О.М. Олещук