На правах рукописи

ВАНЧИКОВА АЯГМА ГАРМАЕВНА

ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ «ФИТОДЕТОКСА» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ПЕЧЕНИ

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

15 [illegible] 2014

Улан-Удэ- 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук

Научный руководитель:
Ажунова Татьяна Александровна, доктор биологических наук

Официальные оппоненты:
Маланов Ким Жапович, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Бурятский государственный университет» Министерства образования и науки РФ / кафедра фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии, и.о. профессора

Банзаракшеев Виталий Гамбалович, кандидат медицинских наук, Негосударственное учреждение здравоохранения «Отделенческая клиническая больница на станции Улан-Удэ ОАО «Российские железные дороги» / клинико-диагностическая лаборатория, заведующий

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного последипломного образования «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Министерства здравоохранения РФ

Защита состоится « 30 » мая 2014 г. в 15^{00} часов на заседании Диссертационного совета ДМ 003.028.02 при Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН.
Автореферат разослан «22» апреля 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук, доцент — В.Б.Хобракова

ВВЕДЕНИЕ

Поражения печени являются широко распространенной патологией и занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности населения. Причинами и факторами их развития являются патогенные микроорганизмы, токсические вещества, гормональные и метаболические нарушения, несбалансированное питание, хронические болезни других органов и систем (Хазанов и др., 2001; Полонский, 2005; Абдулаев, 2005; Лазебник, 2011; Napoli et al., 1996; Ishiietal., 1999). Так, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) отмечается ежегодный рост заболеваемости населения вирусными гепатитами, охватывающим более миллиарда человек, причем только носителей антигена вирусного гепатита В насчитывается около 350 миллионов (Майер, 1999; Kao, Chen, 2002; Lavanchy, 2005; Cokeretal., 2009).

В последние три года заболеваемость вирусными гепатитами в России составляет 18,1-21,9 случая на 100 тыс. населения. Среди заболевших преобладают молодые люди и подростки, в отличие от 70-80-х годов, когда 50 % заболевших составляли лица старше 40-50 лет (Учайкин и др., 1994; Ивашкин, Буеверов, 2002). Наряду с этим, ухудшение экологической ситуации, химизация народного хозяйства и быта обусловливают токсические и аллергические повреждения печени, в патогенезе которых немаловажную роль имеют и лекарственные средства, в особенности у больных с хроническими заболеваниями. Наблюдается тенденция к увеличению поражений печени алкоголем в виде алкогольного гепатита и алкогольного цирроза (Любшина и др., 1999; Хазанов, 2007; Manns, 1996; Rizzetto, 1996; Dusheiko, 1999), а также обусловленных наркоманией и токсикоманией.

В связи с этим возрастает актуальность поиска новых лекарственных препаратов, обладающих гепатопротекторными свойствами, в частности, фитопрепаратов, которые имеют широкий диапазон действия и обладают такими важными преимуществами как высокая эффективность, малая токсичность, доступность, взаимозаменяемость и возможность длительного применения без побочных проявлений.

В Отделе биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН разработано и получено растительное средство, включающее экстракты из плодов шиповника (*Rosa* sp.), корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi), цветков ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), травы мяты перечной (*Mentha piperita* L.), корней солодки уральской (*Glycyrriza uralensis* Fisch.) и травы горца птичьего (*Poligonum aviculare* L.) (условное название «Фитодетокс»). Основанием для этого служили данные литературы и опыт народной медицины (Телятьев, 2000; Соколов, 2006).

Целью исследования явилось определение фармакотерапевтической эффективности растительного средства «Фитодетокс» при повреждениях печени и выявление возможных механизмов его действия.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

1. Определить спектр основных фармакологических свойств «Фитодетокса».

2. Оценить фармакотерапевтическую эффективность «Фитодетокса» при экспериментальном гепатите, вызванном тетрациклином, тетрахлорметаном и этанолом.

3. Выявить основные механизмы гепатозащитного действия «Фитодетокса» при повреждениях печени.

Научная новизна.

Работа представляет собой фармакологическое исследование нового растительного средства «Фитодетокс», предназначенного для лечения и профилактики заболеваний печени. Исследуемое средство обладает широким спектром фармакологических свойств: противовоспалительным, желчегонным, мембраностабилизирующим, антиоксидантным, стимулирует энергетический обмен и процессы репаративной регенерации, повышает активность эндогенной антиоксидантной системы. Доказано, что «Фитодетокс» в экспериментально-терапевтических дозах ингибирует свободнорадикальное окисление биомакромолекул, стабилизирует мембранные образования клеток печени. Установлено, что указанное растительное средство обладает выраженной фармакотерапевтической эффективностью при повреждениях печени, способствует нормализации морфофункционального состояния органа, благодаря мобилизации дезинтоксикационной функции печени, восстановительных процессов на фоне повышения активности антиоксидантной системы, стимуляции желчеобразовательной и желчевыделительной функции печени.

Практическая значимость.

Разработан «Способ получения средства, обладающего дезинтоксикационным и гепатозащитным действием», на который получено положительное решение. Результаты исследований используются в учебном процессе на кафедре фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» Министерства образования и науки РФ (акт внедрения от 06.02.2013 г.).

Положения, выносимые на защиту:

- указанное средство растительного происхождения проявляет широкий спектр фармакологических свойств: антиоксидантное, противовоспалительное, мембраностабилизирующее, дезинтоксикационное и антистрессорное;

- «Фитодетокс» отличается способностью повышать активность ферментов монооксигеназной системы печени – цитохрома Р-450, способствует снижению скорости инактивации указанного фермента;

- «Фитодетокс» обладает выраженной фармакотерапевтической эффективностью при повреждениях печени, способствуя нормализации ее морфофункционального состояния на более ранних сроках.

Апробация материалов диссертации.

Основные положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на:

Международных, Всероссийских и региональных научных конференциях и конгрессах:

- Ежегодных научных сессий Бурятского государственного университета (Улан-Удэ, 2004-2012);
- Байкальские чтения – 5 «Разгрузочно-диетическая терапия и традиционная медицина» (Санкт-Петербург, 2013);
- VI International Scientific conference "Traditional medicine: ways of integration with modern health care" (Ulan-Ude, 2013).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, из них: 2 статьи – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 120 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 10 рисунками, 31 таблицей. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, глав с изложением результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 217 отечественных источников и 68 – на иностранных языках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследованию подвергалось многокомпонентное растительное средство, представляющее собой экстракт сухой, полученный из 6 видов растительного сырья: плодов шиповника (*Rosa* sp.), корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi), цветков ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), корней солодки уральской (*Glycyrriza uralensis* Fisch.), травы горца птичьего (*Poligonum aviculare* L.) (условное название «Фитодетокс»), взятых в соотношениях 3:2:1:2:1:1 масс. частей. Экстракт сухой «Фитодетокс» получали путем измельчения растительного сырья, экстракции 40 % спиртом этиловым, упаривания в вакууме и последующей быстрой сушкой в вакуум-сушильной установке при 60-70^0 С. Полученный экстракт представляет собой хорошо растворимый в воде порошок темно-коричневого цвета со специфическим запахом. В составе полученного экстракта были определены следующие биологически активные вещества: флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, органические кислоты, тритерпеноиды, антоцианы, каротиноиды и полисахариды, а также идентифицированы индивидуальные соединения: кверцетин, рутин, гиперозид, лютеолин, апигенин; кофейная, хлорогеновая, феруловая кислоты; умбеллиферон, скополетин, эскулетин; алантолактон, изоалантолактон; олеаноловая, урсоловая, глицирризиновая кислоты, а также β-каротин и инулин. Сумма фенольных соединений достигает 5 %.

Эксперименты выполнены на 535 белых крысах линии Wistar обоего пола массой 160-210 г. Животные находились в стандартных условиях содержания, на обычном для указанного вида животных рационе при свободном доступе к воде и пище (Приказ МЗ СССР № 1179 от 10.10.83 г.). Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г), а также соблюдали требования Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986) и требованиями Приказа МЗ РФ № 708н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Протокол исследования одобрен этическим комитетом Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (№ 2 от 15 сентября 2010 г.).

Определение острой токсичности растительного средства «Фитодетокс» проводили согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005).

Острый токсический гепатит вызывали у крыс линии Wistar путем введения четыреххлористого углерода (CCl_4) в виде 50 % масляного раствора (V/V) при подкожном введении в объеме 4,0 мл/кг массы (четырехкратно, 1 раз в сутки) (Руководство..., 2000).

Хронический токсический гепатит вызывали путем внутрижелудочного введения тетрахлорметана в растительном масле (V/V) в объеме 0,2 мл/кг 1 раз в сутки в течение 4 недель (Бородин и др., 2008).

Тетрациклиновый гепатит вызывали у крыс путем внутрижелудочного введения тетрациклина гидрохлорида в виде суспензии с Tween-80 (1:10) в дозе 1 г/кг массы 1 раз в сутки ежедневно в течение 7 дней.

Повреждение печени крыс этанолом вызывали внутрижелудочным введением 40 % водного раствора этилового спирта в объеме 7 мл/кг в течение 21 дня 1 раз в сутки (Руководство..., 2005).

Введение животным комплексного растительного средства осуществляли в соответствии с условиями эксперимента интрагастрально курсами: водный раствор «Фитодетокса» вводили в экспериментально-терапевтических дозах 10,0; 50,0 и 100,0 мг/кг1 раз в сутки в объеме 10 мл/кг. Курсы введения указанного средства, а также сроки наблюдения зависели от задачи экспериментов в каждом отдельном случае. В качестве контроля служили крысы, которым вводили воду очищенную в соответствующих объемах по аналогичной схеме. В качестве препарата сравнения использовали фламин в изоэффективной дозе 100 мг/кг (Руководство..., 2005).

Антиоксидантные свойства указанного средства оценивали по его влиянию на образование продуктов свободнорадикального окисления (СРО) биомакромолекул и активность эндогенной антиоксидантной системы организма (АОС) с использованием методов *in vivo u in vitro*. В опытах *in vitro* с

использованием биотест-систем определяли активность каталазы (КАТ), глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП), пируваткиназы (ПК) (Бродова и др., 2004). Концентрацию ТБК-активных продуктов определяли спектрофотометрически в сыворотке крови (Темирбулатов, Селезнев, 1981) и гомогенате печени (Стальная, Гаришвили, 1977). Содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом (Гаврилов, Мишкорудная, 1983). Для оценки активности антиоксидантной активности организма в сыворотке крови животных определяли активность каталазы (Королюк и др., 1988), супероксиддисмутазы (СОД) в плазме крови (Чевари и др., 1985), а также содержание восстановленного глутатиона (ВГ) в крови (Anderson, 1989). Содержание гликогена в печени определяли по методу S. Seifter (1950). В работе были использованы модельные системы: 1 % суспензия эритроцитов донорской крови (Boyum, 1968); суспензия липосом яичного желтка (Сергеев и др., 1991); микросомальная фракция печени (Omura, Sato, 1964); биохимические ферментные тест-системы (Бродова др., 2004). Определение уровня Fe^{2+} - индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) проводили на приборе «Хемилюминометр «PXL – 01» (Россия) по общепринятому методу (Сергеев и др., 1991). Для оценки мембраностабилизирующего действия исследуемого объекта использовалась 1 % суспензия отмытых донорских эритроцитов. Гемолиз эритроцитов вызывали реактивом Фентона (перекисный гемолиз) и в гипоосмотической среде (Ковалев и др., 1986). Активность индикаторных ферментов цитолитического и холестатического синдромов: аланинаминотрансферазы (АлТ) и аспартатаминотрансферазы (АсТ), щелочной фосфатазы (ЩФ); концентрацию β-липопротеидов, содержание общего, прямого и непрямого билирубина, холестерина, общего белка в сыворотке крови определяли с использованием стандартных наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Для оценки дезинтоксикационной функции печени в микросомах печени крыс определяли содержание цитохрома Р-450 (Omura, Sato, 1964), скорость инактивации восстановленного цитохрома Р-450 (Бачманова, 1983), а содержание белка в микросомах - по методу Лоури (1951). Продолжительность гексеналового сна оценивали при однократном внутрибрюшинном введении крысам гексенала в дозе 70 мг/кг (Гацура, 1974). Также о функциональной состоятельности монооксигеназной системы печени судили по данным антипиринового теста (Аширметов, Краковский, 1990; Викторов, Рыбак, 1990). Экскреторно-поглотительную функцию печени оценивали по скорости выведения бромсульфалеина (БСФ) с желчью (Соловьев и др., 1976). Желчеобразовательную и желчевыделительную функцию печени оценивали по скорости секреции и общему количеству выделенной желчи, в которой определяли содержание основных ее ингредиентов: желчных кислот - по методу Я.И. Карбача (1961), билирубина - по методу Н.П.Скакун (1956), холестерина - по методу С.М.Дроговоз (1971). Антистрессорное действие указанного средства оценивали с применением иммобилизации крыс в положении лежа на спине в течение 24 часов (Руководство..., 2000). Морфофункциональную состоятельность печени животных

определяли с использованием ряда гистологических и гистоэнзимологических методов (Микроскопическая..., 1996). При патоморфологических исследованиях срезы печени фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и фиксаторе Буэна. Депарафинированные срезы ткани печени окрашивали гематоксилином и эозином (Автандилов, 1990). При гистохимических и гистоэнзимологических исследованиях выявляли в печени содержание гликогена, нейтрального жира, активность сукцинатдегидрогеназы (Руководство..., 2000). Для проведения морфометрических исследований и микрофотографирования использовали цифровой микроскоп Motic DDM WB1-223 с использованием программного обеспечения «Motic Images-2000».

Полученные в ходе экспериментов данные статистически обработаны с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0. Различия между экспериментальными группами по исследуемым параметрам считали значимыми при $P \leq 0,05$ (Сергиенко, Бондарева, 2006).

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА «ФИТОДЕТОКС»

Определение острой токсичности растительного средства «Фитодетокс»

Исследования по определению острой токсичности «Фитодетокса» проводили с соблюдением правил доклинических испытаний безопасности потенциальных лекарственных средств (Арзамасцев и др., 2005). В частности, острую токсичность растительного средства «Фитодетокс» определяли по Керберу. Полученное средство испытывали в дозах от 1000 до 5000 мг/кг (максимальное количество средства, растворение которого возможно в указанном объеме воды). При однократном внутрижелудочном введении испытуемого средства в объеме 10 мл/кг во всех исследованных дозах гибели животных в течение всего периода наблюдения (14 суток) не отмечали. Лишь в первые часы на фоне введения высоких доз фитоэкстракта наблюдали ограничение двигательной активности, отказ от пищи. Через 5-6 часов после введения «Фитодетокса» животные опытных групп не отличались от крыс контрольной группы по внешнему виду и поведению.

Полученные данные позволяют отнести «Фитодетокс» к группе практически нетоксичных веществ (Руководство..., 2005).

Изучение мембраностабилизирующей активности«Фитодетокса»

Как следует из данных, приведенных в таблице 1, «Фитодетокс» в указанных концентрациях оказывает выраженное мембраностабилизирующее действие, о чем свидетельствует уменьшение степени перекисного и осмотического гемолиза эритроцитов. При этом, наиболее высокая мембраностабилизирующая активность указанного растительного средства отмечалась при использовании его в дозе 1,00 мг/мл: в этом случае перекисный гемолиз эритроцитов уменьшался в 2,2 раза по сравнению с контролем. Установлено

также, что «Фитодетокс» в дозе 1,00 мг/мл уменьшает осмотический гемолиз эритроцитов на 29 % по сравнению с контролем.

Таблица 1 - Влияние «Фитодетокса» на перекисный и осмотический гемолиз эритроцитов

Условия опыта	Доза, мг/мл	Перекисный гемолиз, %	Осмотический гемолиз, %
Контроль (гемолиз)	-	0,84 ± 0,02	0,82 ± 0,03
Опыт (гемолиз + «Фитодетокс»)	0,01	0,51 ± 0,02*	0,79 ± 0,04
	0,10	0,71± 0,03*	0,66± 0,02*
	1,00	0,38± 0,03	0,59± 0,04*

*Примечание: * - здесь и далее разница существенна по сравнению с контролем при $P \leq 0,05$.*

Исследование влияния «Фитодетокса» на активность ферментов антиоксидантной защиты и показатели углеводного обмена

Как следует из данных, приведенных в таблице 2, введение в инкубационную среду «Фитодетокса» в указанных концентрациях сопровождается повышением активности ферментов антиоксидантной защиты: глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП). «Фитодетокс»в концентрации 50 мкг/мл повышает активность ГР на 28 %, ГП – на 27 %, каталазы (КАТ) – на 39 % по сравнению с контролем, а в концентрациях 10 и 50 мкг/мл оказывает значительное активирующее влияние на активность пируваткиназы (ПК), ускоряя ферментативную реакцию в среднем на 30 % по сравнению с контролем (табл. 2).

Таблица 2 - Влияние «Фитодетокса» на скорость ферментативных реакций

Условия опыта	Концентрация, мкг/мл	Скорость реакции, мкмоль/мг мин			
		ГР	КАТ	ГП	ПК
Контроль	-	13,4± 0,17	10,7± 0,91	3,5± 0,03	3,8± 0,30
«Фитодетокс»	5,0	13,4± 1,05	10,6± 0,72	3,5± 0,32	4,5± 0,35
- « -	10,0	13,1± 0,38	12,6± 0,47	3,6± 0,12	5,0± 0,38*
- « -	50,0	17,1± 0,09*	14,9± 0,62*	4,4± 0,29*	5,1± 0,30*
- « -	100,0	14,7± 0,39	10,7 ± 0,61	4,5 ± 0,39	4,2± 0,24

Примечание: ГР – глутатионредуктаза; КАТ – каталаза; ГП - глутатионпероксидаза; ПК – пируваткиназа.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что «Фитодетокс» в концентрациях, соответствующих экспериментально-терапевтическим дозам, оказывает выраженное стимулирующее влияние на активность ферментов антиоксидантной защиты организма, а также активность ключевого фермента энергетического обмена – пируваткиназы, повышает антиоксидантный и энергетический потенциал.

Исследование влияния «Фитодетокса» на желчевыделительную и желчеобразовательную функцию печени у интактных крыс

Данные, приведенные в таблице 3, свидетельствуют, что «Фитодетокс» при его введении в дозах от 10 до 100 мг/кг повышает общее количество выделенной желчи. Так, при введении крысам фитоэкстракта в дозе 50 и 100 мг/кг количество сецернируемой желчи возрастает на 32 и 36 % соответственно по сравнению с контролем.

Содержание желчных кислот в желчи увеличивается при введении указанного средства в дозах 10, 50 и 100 мг/кг на 28, 65 и 65 % соответственно по сравнению с показателями у крыс контрольной группы. Наряду с этим, под его влиянием в желчи повышается содержание билирубина на 28 % (50 мг/кг) и 23 % (100 мг/кг) по сравнению с показателями в контроле. В дозах 50 и 100 мг/кг «Фитодетокс» увеличивает содержание холестерина в желчи в среднем на 30 %. Причем, «Фитодетокс» не уступает, а в ряде случаев превосходит влияние препарата сравнения – фламина на желчеобразовательную и желчевыделительную функцию печени.

Таблица 3 - Влияние «Фитодетокса» на желчеобразовательную и желчевыделительную функцию печени крыс

Группы животных	Общее количество желчи за 1-4 ч	Желчные кислоты, мг/100 г	Билирубин, мг/100 г	Холестерин, мг/100 г
Контроль (H_2O)	1242± 78	5,38	0,105	0,090
«Фитодетокс», 10 мг/кг	1498± 51	6,89	0,115	0,096
«Фитодетокс», 50 мг/кг	1634± 125*	8,88	0,135	0,119
«Фитодетокс», 100 мг/кг	1695± 100*	8,90	0,130	0,120
Фламин, 100 мг/кг	1594± 123*	7,00	0,127	0,104

При оценке влияния «Фитодетокса» на скорость выведения бромсульфалеина (БСФ) с желчью у интактных крыс было установлено, что указанное средство в дозе 50 мг/кг сокращает период полувыведения БСФ на 33 %, в дозе 100 мг/кг – на 25 % по сравнению с данными у крыс контрольной группы. В связи с этим, в дальнейших экспериментах «Фитодетокс» использовался в дозе 50 мг/кг.

Исследование антистрессорной активности «Фитодетокса»

Как следует из полученных данных, в результате суточной иммобилизации у крыс контрольной группы развивались дистрофические изменения внутренних органов, характерные для стрессорной реакции: гипертрофия надпочечников, инволюция тимуса. Введение животным «Фитодетокса» в дозе 50 мг/кг не оказывало значимого влияния на массу надпочечников при стрессе; вместе с тем способствовало уменьшению инволюции тимуса: масса тимуса крыс, получавших исследуемый экстракт, повышалась на 35 % по сравнению с данными у животных контрольной группы.

Данные, приведенные в таблице 4, свидетельствуют, что при введении животным в указанной дозе «Фитодетокса» отмечается снижение среднего числа точечных кровоизлияний, а также существенно уменьшается индекс Паулса. Одновременно наблюдается уменьшение количества эрозий, а полосовидные язвы при введении «Фитодетокса» обнаруживаются только в 33 % случаев.

Таблица 4–Индекс Паулса на фоне введения «Фитодетокса» при иммобилизационном стрессе

Показатели	Группы животных	
	Контрольная (стресс + H_2O)	Опытная (стресс+ «Фитодетокс»)
Индекс Паулса для точечных кровоизлияний	3,32	1,19
Индекс Паулса для эрозий	2,91	1,52
Индекс Паулса для полосовидных язв	1,47	0,47

При патоморфологическом исследовании печени крыс было установлено, что иммобилизационный стресс сопровождается развитием структурных нарушений печени.

Таблица 5 - Влияние «Фитодетокса» на соотношение гепатоцитов (неизмененные/поврежденные) при иммобилизационном стрессе у крыс (4 сутки)

Показатели	Группы животных				
	Интактная	Контрольная (стресс + H_2O)		Опытная (стресс+ «Фитодетокс»)	
		2 сут.	4 сут.	2 сут.	4 сут.
Неизмененные гепатоциты, %	90,3±3,6	66,6±3,4	58,5±1,6	75,7±0,9	92,2±0,6*
Дистрофия гепатоцитов, %	8,6±3,1	20,0±1,5	11,6±0,8	18,8±0,9	4,8±0,3*
Некроз гепатоцитов, %	1,0±0,5	13,3±1,7	9,8±1,2	5,5±0,5*	5,8±0,6*
ЦХИ	2,9±0,2	0,6±0,02	1,2±0,2	0,9±0,03*	1,7±0,1*

Курсовое введение «Фитодетокса» животным на фоне иммобилизационного стресса способствует улучшению микроциркуляции в ткани печени и тем самым ограничивает развитие дистрофических изменений и некроза гепатоцитов. Синусоидные внутридольковые капилляры на микропрепаратах животных опытной группы отличаются меньшими размерами по сравнению с контролем. Морфометрические исследования показали, что у животных, получавших испытуемое средство, количество некротизированных гепатоцитов снижается на 2 и 4 сутки от начала эксперимента на 59 и 41 % соответственно; содержание гликогена в гепатоцитах повышается, о чем свидетельствовало возрастание цитохимического индекса (ЦХИ) соответственно на 50 и

41 % по сравнению с показателями в контроле (табл. 5). Полученные данные позволили предположить о потенциальной дезинтоксикационной активности и гепатозащитном действии данного средства при повреждениях печени.

Таким образом, новое лекарственное средство «Фитодетокс» в экспериментально-терапевтических дозах обладает широким спектром фармакологической активности. Благодаря выраженному мембраностабилизирующему, антиоксидантному и желчегонному действию «Фитодетокс» способствует ограничению повреждений в печени, а также оказывает антистрессорное действие.

Фармакотерапевтическая эффективность растительного средства «Фитодетокс» при повреждении печени крыс четыреххлористым углеродом

Курсовое введение животным «Фитодетокса» в дозах 10, 50 и 100 мг/кг на фоне острого тетрахлорметанового гепатита оказывает выраженное гепатопротекторное влияние, уменьшая тяжесть функциональной депрессии печени животных, наиболее выраженные при дозах 50 и 100 мг/кг. Так, на 7 сутки эксперимента у животных, получавших испытуемое средство в дозе 50 мг/кг, наблюдается достоверное снижение активности аминотрансфераз и альдолазы, уменьшаются показатели тимоловой пробы, а также отмечается повышение содержания гликогена в печени на 35 % по сравнению с показателями у крыс контрольной группы.

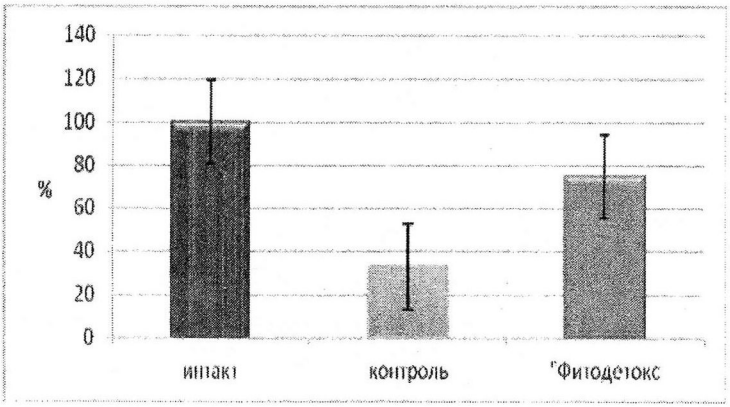

Рисунок 1- Влияние «Фитодетокса» на содержание цитохрома-Р-450 при CCl_4-гепатите у крыс (7 сутки)

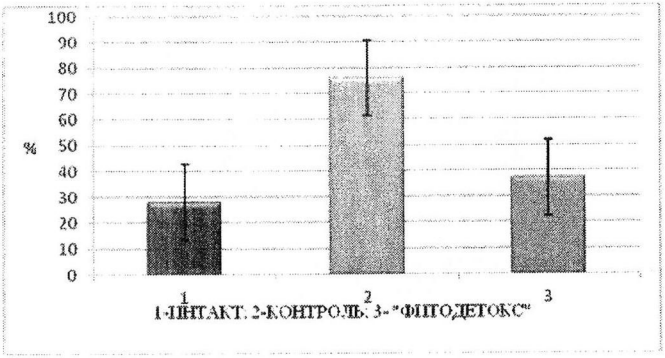

Рисунок 2 - Влияние «Фитодетокса» на скорость инактивации цитохрома Р-450 при CCl_4-гепатите у крыс (7 сутки)

В наших экспериментах при остром гепатите, вызванном введением тетрахлорметана, содержание цитохрома Р-450 в микросомальной фракции печени уменьшалось в 3 раза. Происходила деструкция цитохрома Р-450, а также конверсия в метаболически инертный цитохром Р-420.

Результаты исследований показали, что при введении «Фитодетокса» содержание цитохрома Р-450 в микросомах печени при токсическом гепатите у крыс при введении «Фитодетокса» сопровождается повышением содержания гемопротеида в микросомах печени крыс в 2,3 раза (рис. 1) и снижением скорости его инактивации по сравнению с контролем (рис. 2).

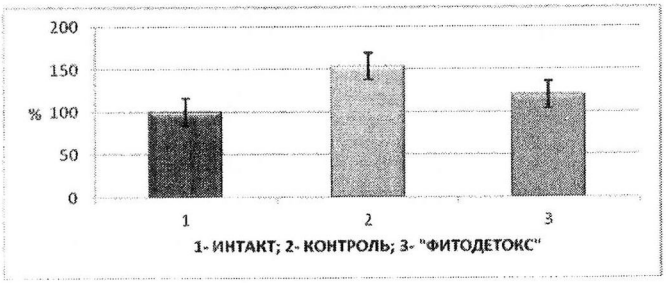

Рисунок 3- Влияние «Фитодетокса» на скорость выведения БСФ при тетрахлорметановом гепатите у крыс (7 сутки)

В другой серии экспериментов на фоне курсового введения указанного средства скорость элиминации бромсульфалеина (БСФ) с желчью и антипирина с кровью возрастает соответственно на 23 и 27 % по сравнению с показателями у крыс контрольной группы, что свидетельствует об активации экскреторной и детоксицирующей функции печени (рис. 3-4).

Рисунок 4- Влияние «Фитодетокса» на скорость выведения антипирина при тетрахлорметановом гепатите у крыс (7 сутки)

Нормализация детоксицирующей функции печени под действием фитоэкстракта сопровождается ускоренным метаболизмом гексенала при тетрахлорметановом гепатите. Так, длительность гексеналового сна у крыс при курсовом введении «Фитодетокса» укорачивается на 30 % по сравнению с показателями у животных контрольной группы (рис. 5).

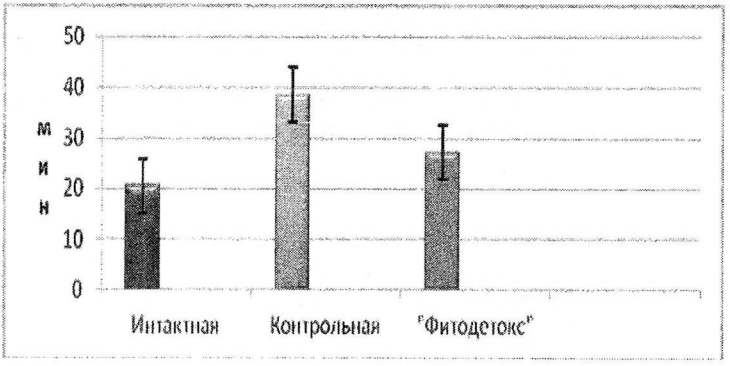

Рисунок 5 - Влияние «Фитодетокса» на продолжительность гексеналового сна при тетрахлорметановом гепатите у крыс (7 сутки)

Как следует из таблицы 6, курсовое введение «Фитодетокса» оказывает выраженное антиоксидантное действие, уменьшая интенсивность процессов перекисного окисления биомакромолекул (ПОЛ) и повышая активность антиокислительной защиты организма.

Таблица 6 - Влияние «Фитодетокса» на содержание продуктов перекисного окисления липидов и состояние эндогенной антиокислительной системы у крыс при остром тетрахлорметановом гепатите (14 сутки)

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Контрольная (тетрахлорметан+H_2O)	Опытная (тетрахлорметан+ «Фитодетокс»)
МДА в гомогенате печени, нмоль/г	0,32± 0,02	0,76± 0,05	0,53± 0,04*
МДА в сыворотке крови, мкмоль/мл мин	2,1± 0,16	5,7± 0,36	3,0± 0,15*
МДА в желчи, ед. ОП	1,0± 0,01	1,9± 0,19	1,2± 0,11*
СОД, мкмоль/л	8,6± 0,58	5,1± 0,41	7,1± 0,33*
Каталаза, мкат/л	1,4± 0,11	1,0± 0,25	1,9± 0,25*
ВГ, ммоль/л	24,3± 2,40	15,5± 1,95	25,5± 2,40*

В таблицах 7-8 приведены результаты изучения влияния «Фитодетокса» на желчеобразовательную и желчевыделительную функции печени при остром токсическом гепатите

Таблица 7 - Влияние Фитодетокса» на желчевыделительную функцию печени у крыс при остром CCl_4-гепатите (14 сутки)

Группы животных	Скорость секреции желчи в течение 4 ч, мг/мин/100 г			
	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Интактная	8,3± 0,40	7,6± 0,32	7,0± 0,32	6,0± 0,22
Контрольная (тетралорметан+H_2O)	4,5± 0,31	4,1± 0,33	4,8± 0,22	4,0± 0,31
Опытная (тетрахлорметан + «Фитодетокс»)	7,4± 0,60*	6,3± 0,20*	5,7± 0,41*	5,2± 0,20

Таблица 8 - Влияние «Фитодетокса» на желчеобразовательную функцию печени у крыс при остром CCl_4-гепатите (14 сутки)

Группы животных	Общее количество желчи, мг/100 г	Желчные кислоты, мг%	Билирубин, мг%	Холестерин, мг%
Интактная	1734± 41	1202,7	26,3	77,7
Контрольная (тетрахлорметан+H_2O)	1304± 66	894,9	20,1	50,5
Опытная (тетрахлорметан + «Фитодетокс»)	1669± 90*	1008,9	26,6	69,7

Как следует из приведенных таблиц, «Фитодетокс» в указанной дозе оказывает выраженное влияние на желчевыделительную функцию печени крыс при токсическом гепатите. В частности, у крыс опытной группы общее количество желчи повышается на 28 % по сравнению с контролем. Следует

отметить, что указанный фитоэкстракт способствует повышению содержания в желчи желчных кислот; их содержание возрастает на 30 % по сравнению с данными в контроле.

Таким образом, «Фитодетокс» обеспечивает эффективную реабилитацию реакций метаболической трансформации. Этот эффект обусловлен подавлением ПОЛ и восстановлением антитоксической функции печени при токсическом гепатите.

Фармакотерапевтическая эффективность «Фитодетокса» при остром гепатите у крыс, вызванном введением тетрациклина

Как следует из данных, приведенных в таблице 9, обнаруживается выраженное антиоксидантное действие испытуемого средства. Так, концентрация малонового диальдегида (МДА) в гомогенате печени и сыворотке крови снижается соответственно на 38 и 30 %, а активность СОД и каталазы возрастает на 68 и 35 % соответственно по сравнению с контролем.

Таблица 9 - Влияние «Фитодетокса» на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крыс при повреждении печени тетрациклином

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Контрольная (тетрациклин+H_2O)	Опытная (тетрациклин+ «Фитодетокс»)
14 сутки			
МДА в гомогенате печени, нмоль/г	0,56± 0,04	2,70± 0,16	1,70± 0,10*
МДА в сыворотке крови, мкмоль/мл	2,52± 1,16	5,40± 0,38	3,81± 0,22*
ДК. ед.ОП	5,11± 0,15	9,80± 0,40	5,72± 0,56*
СОД, мкмоль/л	8,73± 0,77	5,41± 0,44	9,10± 0,80*
Каталаза, мкат/л	2,30± 0,23	0,90± 0,07	1,22± 0,09*
ВГ, мкмоль/л	3,39± 0,14	1,07± 0,16	1,26± 0,09

Таблица 10 - Влияние «Фитодетокса» на экскреторно-поглотительную функцию печени крыс при тетрациклиновом гепатите (14 сутки)

Группы животных	Период полувыведения антипирина, %	Период полувыведения БСФ, %	Продолжительность гексеналового сна, мин
Интактная	100	100	21,4± 1,3
Контрольная (тетрациклин+ H_2O)	169	155	33,3± 2,3
Опытная (тетрациклин+ «Фитодетокс»)	115	113	25,4± 2,0*

«Фитодетокс» восстанавливает нарушенную при тетрациклиновом гепатите у крыс экскреторную функцию печени. Он уменьшает ретенцию бромсульфалеина на 28 %, антипирина – на 32 % по сравнению с данными в контроле, а также сокращает продолжительность гексеналового сна

у животных с тетрациклиновым гепатитом на 24 % по сравнению с контролем (табл. 10).

Фармакотерапевтическая эффективность «Фитодетокса» при экспериментальном остром гепатите у крыс, вызванном введением этанола

Курсовое введение «Фитодетокса» животным, получавшим этанол, сопровождается достоверным снижением содержания диеновых конъюгатов (ДК) и МДА в крови и печени. Наряду с этим, «Фитодетокс» повышает состоятельность антиоксидантной защиты при его курсовом введении животным (табл. 11). При курсовом введении животным «Фитодетокса» содержание цитохрома Р-450 в микросомах печени крыс повышается на 40 %, скорость превращения цитохрома Р-450 в неактивный цитохром Р-420 снижается на 37 % по сравнению с показателями у крыс контрольной группы (табл. 12).

Таблица 11 - Влияние «Фитодетокса» на содержание продуктов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты при повреждении печени крыс этанолом (7 сутки)

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Контрольная (этанол+ H_2O)	Опытная (этанол+ «Фитодетокс»)
МДА в сыворотке крови, мкмоль/мл	2,43±0,57	5,61±0,81	3,75±0,14*
МДА в гомогенате печени, нмоль/г ткани	2,30±0,11	3,20±0,12	2,70±0,12
ДК, ед. ОП	5,56±0,39	10,32±1,43	7,12±0,54*
Каталаза, мкат/л	8,67±0,44	5,20±0,11	6,62±0,17*
СОД мкмоль/л	12,01±1,50	8,39±0,73	9,70±0,67
ВГ, ммоль/л	2,61±0,12	1,81±0,14	2,13±0,14

Таблица 12 - Влияние «Фитодетокса» на содержание цитохрома Р-450 в микросомах печени крыс и степень его инактивации при повреждении печени этанолом (7 сутки)

Группы животных	Цитохром Р-450	
	нмоль/мг белка	Степень инактивации цитохрома Р-450 к 30 мин, %
Интактная	0,81± 0,06	32,1± 2,6
Контрольная (этанол + H_2O)	0,54± 0,01	81,3± 4,7
Опытная (этанол + «Фитодетокс»)	0,76± 0,04*	51,3± 2,5*

Одновременно об активации дезинтоксикационной функции печени крыс под влиянием «Фитодетокса» при гепатите, вызванном введением этанола, свидетельствуют данные о сокращении периода полувыведения антипирина, БСФ и продолжительности гексеналового сна. Так, период полувыведения антипирина снижается на 20 %, БСФ – на 22 %, продолжительность сна - на 27 % по сравнению с показателями в контроле (табл. 13).

Таблица 13 - Влияние «Фитодетокса» на экскреторно-поглотительную и детоксицирующую функции печени крыс при этаноловом гепатите (7 сутки)

Группы животных	Период полувыведения антипирина, %	Период полувыведения БСФ, %	Продолжительность гексеналового сна, мин
Интактная	100	100	24,6± 1,3
Контрольная (этанол + H_2O)	155	167	35,9± 2,0
Опытная (этанол + «Фитодетокс»)	125	131	26,3± 2,5*

Фармакотерапевтическая эффективность «Фитодетокса» при хроническом гепатите у крыс (CCl_4)

Исследование динамики изменения концентрации продуктов перекисного окисления и состояния антиокислительной защиты показало, что курсовое введение «Фитодетокса» животным опытной группы сопровождается снижением концентраций ДК и МДА в крови и печени. Наряду с этим, фитоэкстракт стимулирует активность антиоксидантной защиты организма (табл. 14).

Таблица 14 - Влияние «Фитодетокса» на содержание продуктов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты у крыс при экспериментальном хроническом гепатите (CCl_4)

Показатели	Сроки	Группы животных		
		Интактная	Контрольная (CCl_4+H_2O)	Опытная (CCl_4+ «Фитодетокс»)
МДА, в сыворотке крови, мкмоль/мл	30 сутки	11,4±0,57	18,4±1,24	13,2±1,07*
МДА ткани в гомогенате печени, нмоль/г ткани		2,3±0,11	4,1±0,32	2,9±0,24*
ДК, ед. ОП		5,5±0,39	13,5±1,05	9,3±0,62*
Каталаза,мкат/л		8,6±0,44	4,8±0,13	6,1±0,12*
СОД мкмоль/л		12,0±1,50	7,2±0,48	10,1±0,51*
ВГ, мкмоль/л		2,1±0,12	1,7±0,29	2,1±0,14

При хроническом токсическом гепатите у крыс содержание цитохрома Р-450 в микросомальной фракции печени снижается в 2,3 раза, скорость перехода цитохрома Р-450 в цитохром Р-420 повышается в 2,6 раза по сравнению с показателями у крыс интактной группы. При курсовом введении «Фитодетокса» отмечается повышение содержания гемопротеида к 30-45 суткам наблюдения на 79 %, степень инактивации цитохрома Р-450 снижается в 2,2 раза по сравнению с контролем (табл. 15).

Таблица 15 - Влияние «Фитодетокса» на содержание цитохрома Р-450 в микросомах печени крыс при хроническом гепатите у крыс (CCl_4) (30 сутки)

Группы животных	Цитохром Р-450, нмоль/мг белка		Степень инактивации цитохрома Р-450, %	
	30 сутки	45 сутки	30 сутки	45 сутки
Интактная	0,80± 0,04	0,79± 0,05	26,3± 1,2	27,2± 2,2
Контрольная ($CCl_4 + H_2O$)	0,34± 0,01	0,39± 0,04	71,1± 0,04	73,3± 3,7
Опытная (CCl_4 + «Фитодетокс»)	0,60± 0,04*	0,70± 0,06*	30,0± 2,0*	32,1± 2,5*

Наряду с этим, о повышении активности детоксицирующей функции печени при введении указанного фитоэкстракта свидетельствует снижение периодов полувыведения антипирина и бромсульфалеина: к 30 суткам развития экспериментального хронического гепатита у крыс период полувыведения антипирина сокращается на 29 %, через 45 суток – на 30 % по сравнению с контролем. Продолжительность гексеналового сна через 30 и 45 суток уменьшается на 30 % по сравнению с данными у животных контрольной группы (табл. 16-17).

Таблица 16 - Влияние «Фитодетокса» на экскреторно-поглотительную функцию печени при хроническом гепатите у крыс (30 сутки)

Группы животных	Период полувыведения антипирина, %		Период полувыведения БСФ, %	
	30 сутки	45 сутки	30 сутки	45 сутки
Интактная	100	100	100	100
Контрольная ($CCl_4 + H_2O$)	184	170	147	156
Опытная (CCl_4 + «Фитодетокс»)	132	120	123	110

Таблица 17 - Влияние «Фитодетокса» на продолжительность гексеналового сна крыс при хроническом гепатите (30 сутки)

Группы животных	Продолжительность гексеналового сна, мин	
	30 сутки	45 сутки
Интактная	17,6± 1,10	20,0± 2,33
Контрольная ($CCl_4 + H_2O$)	37,9± 2,22	34,8± 3,36
Опытная (CCl_4 + «Фитодетокс»)	23,0± 1,05*	24,7± 2,30*

Патоморфологические исследования показали, что в печени крыс контрольной группы отмечаются значительные по площади лимфоидно-гистиоцитарные инфильтраты, сочетающиеся с появлением признаков «баллонной» дистрофии гепатоцитов, фиброзная ткань заполняет дольки печени, создавая ложные дольки, что указывает на хронизацию процесса и развитие фиброзно-цирротических изменений в ткани печени (рис. 6).

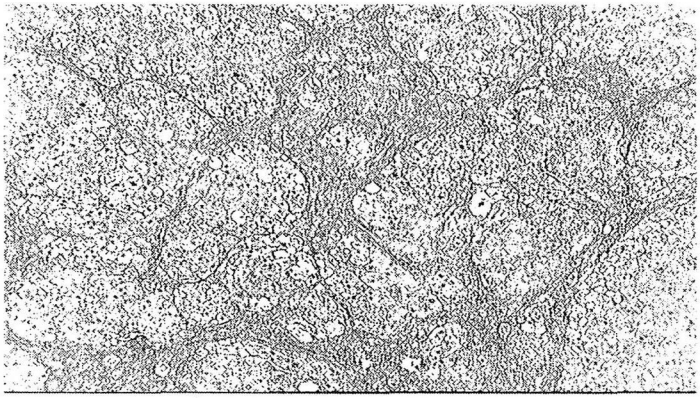

Рисунок 6- Хронический CCl_4-гепатит. 30 сутки. Печень крысы контрольной группы. Разрастание соединительной ткани, образование ложных долек печени, «баллонная» дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 40 х 10.

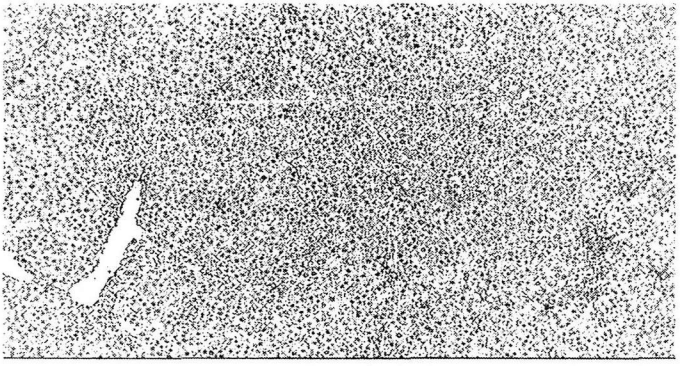

Рисунок 7 - Хронический CCl_4-гепатит. 30 сутки. Печень крысы опытной группы, получавшей «Фитодетокс». Единичные микроочаги лимфоидно-гистиоцитарных инфильтратов. Отсутствие разрастания тяжей соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 40 х 10.

Курсовое введение «Фитодетокса» на фоне экспериментального хронического гепатита оказывает выраженное гепатопротекторное действие, о чем свидетельствует уменьшение выраженности структурных изменений в печени. В частности, на фоне введения испытуемого средства обнаруживаются единичные мелкоочаговые лимфоидно-гистиоцитарные инфильтраты; существенно уменьшается количество гепатоцитов, подвергшихся некрозу и баллонной дистрофии; не наблюдается разрастания тяжей соединительной ткани (рис. 7); в печени крыс повышается содержание гликогена и увеличивается активность СДГ, уменьшается содержание липофусцина в гепатоцитах.

Таким образом, «Фитодетокс» оказывает выраженное фармакотерапевтическое действие при экспериментальном гепатите у крыс. Его фармакотерапевтическая эффективность обеспечивается за счет угнетения процессов свободнорадикального окисления липидов и мембраностабилизирующего действия, а также его способности на этом фоне стимулировать дезинтоксикационную функцию печени. Особенностью фармакотерапевтической эффективности «Фитодетокса» является предупреждение развития синдрома холестаза и жировой дистрофии органа, а также предохранение гепатоцитов от некроза и некробиоза. Наряду с этим, «Фитодетокс» активно стимулирует регенераторные процессы в печени, что также обеспечивает указанному растительному средству высокий фармакотерапевтический эффект.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В токсическом действии четыреххлористого углерода, этанола, высоких доз тетрациклина важное значение имеют механизмы активации свободнорадикального окисления биомакромолекул. Установленный молекулярно-биологический механизм активации свободнорадикальных процессов с дестабилизацией биомембран можно рассматривать с позиций общей патологии как один из универсальных при повреждениях печени (Ажунова, 1998; Николаев, 2012 и др.). Детоксикация ксенобиотиков и эндогенных продуктов метаболизма является приоритетной функцией печени (Сергеев и др., 1996). Реакция окисления ксенобиотиков при участии цитохрома Р-450 сопровождается образованием свободных радикалов кислорода и токсических промежуточных продуктов.

Так, в базисном механизме фармакотерапевтического влияния «Фитодетокса», как показали наши исследования, важное значение имеет его способность ингибировать свободнорадикальное окисление биомакромолекул и стабилизировать биологические мембраны; выявлена его способность стимулировать дезинтоксикационную функцию печени, повышая активность ферментов системы монооксигеназ, и тем самым ограничивать некроз гепатоцитов. При введении животным «Фитодетокса» при токсических поражениях печени, включая холестатическую форму гепатита, вызванную введением высоких доз тетрациклина и этанола, обнаруживается высокий эффект в отношении предотвращения им вторичных очагов некроза и некробиоза в печени, обусловленное торможением свободнорадикального окисления липидов и повышением функциональной активности антиоксидантной защиты организма со стимуляцией дезинтоксикационной функции печени.

Таким образом, выраженное фармакотерапевтическое влияние «Фитодетокса» при повреждениях печени обусловлено наличием в них комплекса биологически активных веществ и, прежде всего, соединений фенольной природы. Благодаря доминирующему содержанию их обеспечивается ингибирующее действие на свободнорадикальное окисление биомакромолекул, стабилизация биологических мембран с последующим повышением функ-

циональной детоксицирующей активности органа. При курсовом введении животным «Фитодетокса» в экспериментально-терапевтических дозах животным с повреждениями печени ограничиваются дисфункция, грубая деструкция и ускоряются процессы инволюции нарушений в печени.

ВЫВОДЫ

1. Основными фармакологическими свойствами «Фитодетокса» являются: антиоксидантное, мембраностабилизирующее, антистрессорное, противовоспалительное, дезинтоксикационное и желчегонное.
2. Курсовое введение животным указанного растительного средства в экспериментально-терапевтических дозах при повреждениях печени, вызванных тетрахлорметаном, тетрациклином и этанолом, оказывает выраженное фармакотерапевтическое влияние, ограничивая проявления цитолиза и холестаза, стимулируя репаративно-восстановительные процессы в печени.
3. Особенностью в его фармакотерапевтическом влиянии является способность стимулировать дезинтоксикационную функцию печени, повышая активность ферментов монооксигеназной системы, а также мобилизуя холеретическую реакцию печени.
4. Основные механизмы, обеспечивающие фармакотерапевтическую эффективность указанного средства при повреждениях печени, заключаются в торможении свободнорадикальных реакций, повышении активности ферментов антиоксидантной защиты, стабилизации мембранных образований гепатоцитов, повышении дезинтоксикационной функции, обусловливающие нормализацию морфофункционального состояния органа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При фармакотерапии заболеваний печени следует учитывать степень выраженности окислительного стресса.
2. При заболеваниях печени следует использовать растительные лекарственные средства, снижающие степень эндогенной интоксикации и повышающие дезинтоксикационную функцию печени.
3. Полученные данные о фармакологических свойствах и высокой фармакотерапевтической эффективности нового комплексного средства «Фитодетокс» при повреждениях печени аргументируют целесообразность его широкого применения в комплексном лечении и профилактике больных с гепатобилиарным профилем расстройств.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Ажунова Т.А. Технология неспецифической дезинтоксикации и десенсибилизации организма в лечении и профилактике распространенных заболеваний / Т.А.Ажунова, А.Г.Ванчикова, Э.Н.Батуев // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий. – 2006. – Вып. 10. – С. 104.
2. Ванчикова А.Г. Фитопрепараты в профилактике распространенных заболеваний / А.Г.Ванчикова, Э.Д.Батуев // Материалы Всеросс. научн. конф. «Экология в современном мире: взгляд научной молодежи». – Улан-Удэ, 2007. – С. 350.
3. Zandanov A.O. Phytotherapy of cronic obstructive lung disease / A.O.Zandanov, A.G.Vanchikova, S.M.Nikolaev, A.I.Bartanov // Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese minorities. – 2007. – P. 31.
4. Vanchikova A.G. Efficiency of the technology for detoxication and desensibilization of the body in chronic diseases / A.G.Vanchikova, S.M.Nikolaev, T.A.Azhunova // Materials of the III International scientific conference "Traditional mtdicine: a current situation and perspectives of development". – Ulan-Ude, 2008. – P 104.
5. Ванчикова А.Г. Фармакотерапевтическая эффективность растительного средства при токсическом гепатите / А.Г.Ванчикова, Т.А.Ажунова // **Вестник Бурятского государственного университета.** – 2010. – Вып. 12. – С. 45-50.
6. Ванчикова А.Г. Стресс-протективное действие комплексного растительного средства / А.Г.Ванчикова, Т.А.Ажунова // **Вестник Бурятского государственного университета.** – 2012. – Вып. 2. – С. 4-7.
7. Ванчикова А.Г. Влияние комплексного растительного средства на дезинтоксикационную функцию печени при экспериментальном токсическом гепатите / А.Г.Ванчикова, Т.А.Ажунова // Байкальские чтения – 5 «Разгрузочно-диетическая терапия и традиционная медицина. – СПб., 2013. – С. 179-183.
8. Zandanov A.O. Prospects of phytotherapy use in the clinical practice / A.O.Zandanov, A.G.Vanchikova // VI International Scientific conference "Traditional medicine: ways of integration with modern health care".– Ulan-Ude, 2013. – P. 102.

Подписано в печать 16.04.2014 г. Формат 60x84 1/16.
Бумага офсетная. Объем 1,5 печ. л. Тираж 100. Заказ № 17.

Отпечатано в типографии Изд-ва БНЦ СО РАН
670047 г. Улан-Удэ ул. Сахьяновой, 6.