

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**РОМАШЕНКО АРТЕМ ВИКТОРОВИЧ**

**КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ И  
СПОСОБЫ ИХ ВОЗМОЖНОЙ КОРРЕКЦИИ**

1.5.4. Биохимия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

**Микашинович Зоя Ивановна**

Ростов-на-Дону – 2023

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	5
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	15
1.1. Методы моделирования хронического панкреатита	15
1.2. Метаболические изменения в исследуемых органах и крови	18
1.3. Способы коррекции заболеваний желудочно-кишечного тракта фитопрепаратами	22
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	27
2.1. Краткая характеристика экспериментального материала	27
2.2. Биохимические методы исследования	30
2.2.1. Приготовление гемолизатов и гомогенатов для исследования	30
2.2.2. Методы биохимического исследования плазмы крови	31
2.2.3. Методы определения метаболитов в ткани и эритроцитах крыс	38
2.2.4. Методы определения активности ферментов	41
2.3. Гистологические методы исследования	42
2.4. Статистическая обработка экспериментальных данных	43
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	44
<b>ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕЦИИ КОМПЛЕКСОМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СЕМЯН ТЫКВЫ</b>	
3.1. Метаболические изменения в плазме крови у животных с гиперхолестеринемией	44
3.2. Метаболические изменения в плазме крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом	53
3.3. Метаболические изменения в плазме крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы	59

<b>ГЛАВА 4. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВИ И</b>	<b>67</b>
<b>ТКАНЯХ ОРГАНОВ У ЖИВОТНЫХ С</b>	
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ</b>	
<b>ТОКСИЧЕСКИМ</b>	
<b>ПАНКРЕАТИТОМ И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИХ</b>	
<b>КОРРЕЦИИ КОМПЛЕКСОМ БИОЛОГИЧЕСКИ</b>	
<b>АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СЕМЯН</b>	
<b>ТЫКВЫ</b>	
4.1. Поджелудочная железа	67
4.1.1. Метаболические изменения в ткани поджелудочной железы у животных с гиперхолестеринемией	69
4.1.2. Метаболические изменения в ткани поджелудочной железы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом	71
4.1.3. Метаболические изменения в ткани поджелудочной железы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы	74
4.2. Печень	78
4.2.1. Метаболические изменения в ткани печени у животных с гиперхолестеринемией	79
4.2.2. Метаболические изменения в ткани печени у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом	81
4.2.3. Метаболические изменения в ткани печени у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы	85
4.3. Сердце	89
4.3.1. Метаболические изменения в ткани сердечной мышцы у животных с гиперхолестеринемией	91
4.3.2. Метаболические изменения в ткани сердечной мышцы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом	93
4.3.3. Метаболические изменения в ткани сердечной мышцы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы	97
4.4. Эритроциты крови	101
4.4.1. Метаболические изменения в эритроцитах у животных с гиперхолестеринемией	102
4.4.2. Метаболические изменения в эритроцитах крови у	103

животных с экспериментальным токсическим панкреатитом	
4.4.3. Метаболические изменения в эритроцитах крови у	106
животных с экспериментальным токсическим панкреатитом	
после введения комплекса биологически активных веществ,	
полученных из семян тыквы	
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	110
<b>ВЫВОДЫ</b>	126
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>	128
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ</b>	129
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	130
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b>	154

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Известно, что поджелудочная железа является уникальным органом, выполняющим ряд важных функций. Нарушение ее работы приводит к сбою функционирования важных органов и систем, а именно к нарушению работы желудочно-кишечного тракта, развитию панкреатита, сахарного диабета и ряда сопутствующих заболеваний (Żorniak M., Sirtl S., Mayerle J. [et al.], 2020).

Актуальность проблемы панкреатита алкогольной этиологии, как одной из самых распространенных форм, обусловлена не только ростом заболеваемости и высокой летальностью, но и трудностями диагностики, нежеланием пациентов признавать пристрастие к алкоголю, нечеткими представлениями о механизмах возникновения и развития данной патологии (Косюра С.Д., Ильченко Л.Ю., Сторожаков Г.И. [и др.], 2012; Белякова С.В., 2019; Rasineni K., Srinivasan M.P., Valamurugan A.N. [et al.], 2020). По данным статистики на тысячу населения Земли один человек страдает патологией поджелудочной железы различного генеза (Lévy P., Domínguez-Muñoz E., Imrie C. [et al.], 2014; Шевченко Е.А., Потемина Т.Е., Успенская О.А. [и др.], 2015; Белякова С.В., 2019).

На сегодняшний день имеется представление о том, что регулярное употребление алкоголя приводит к формированию токсического панкреатита, сопровождающегося внутриорганной патологией. Но природа повреждающего фактора и взаимосвязь органных нарушений в патогенезе формирования токсического панкреатита окончательно не выяснены (Окулова И.И., Шимов К.И., Исмаилов А.М. [и др.], 2017; Красовский В.С., Масютина С.М., 2018).

В этой связи экспериментальное моделирование повреждений поджелудочной железы представляется перспективным для решения многих насущных вопросов, хотя разработка таких экспериментальных моделей является сложной задачей.

В современной литературе авторами представлены различные методики. Наиболее популярные модели с применением химических веществ не являются естественными для человека (Дорошкевич С.В., Дорошкевич Е.Ю., 2009;

Летуновский А.В., Микашинович З.И., Панькина Н.С., 2010; Ошмянская Н.Ю., Галинский А.А., Гайдар Ю.А., 2014).

Другой подход связан с использованием рационов, содержащих экзогенный холестерол, искусственно повышающий его содержание в крови экспериментальных животных (Можейко Л.А., 2019). Наиболее перспективным является воспроизведение токсического панкреатита на фоне провокации высокоэнергетической диетой, вызывающей эндогенную гиперхолестеринемию, позволяющую получить адекватную картину патобиохимических сдвигов. В свою очередь это необходимо для разработки схем метаболической коррекции с учетом степени выраженности структурно-функциональных нарушений и атеросклеротического компонента, которые сопровождают процесс воспаления.

**Степень разработанности темы.** Ряд авторов указывает на взаимосвязь нарушений функционального состояния печени и параметров, характеризующих антиоксидантную систему при хронической алкоголизации (Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2012; Latchoumycandane C., Nagy L.E., McIntyre T.M., 2014; Arias C.F., Arias C.F., 2015; Turpin C., Catan A., Meilhac O. [et al.], 2021).

В то же время не установлена конкретная патогенетическая связь между особенностями обменных сдвигов в печени и характером течения воспалительного процесса в поджелудочной железе. Печень, мышечные ткани, как и поджелудочная железа наиболее чувствительна к действию алкоголя (Thomes P.G., Rasineni K., Yang L. [et al.], 2019). Несмотря на множество биохимических процессов, протекающих в печени, выявленные изменения не всегда достаточно информативны для установления их патогенетической значимости.

Принято считать, что наибольшую диагностическую ценность представляют секреторные и индикаторные ферменты, позволяющие определить роль органоспецифических метаболических сдвигов в патогенезе токсического панкреатита.

В последнее время показано, что ключевым фактором полиорганной

недостаточности при панкреатите является нарушение сердечно-сосудистой системы, в том числе миокардиальная депрессия (Ершов А.В., Андреев В.С., Манасова З.Ш., 2020). Несмотря на длительный период исследований, точки приложения «факторов депрессии миокарда» остаются на стадии анализа и дискуссий.

В литературе имеются данные о том, что экспериментальная гиперхолестеринемия усиливает окислительный стресс и приводит к повреждению артерий, способствует развитию атеросклеротической бляшки в поврежденных участках сосудов и до настоящего времени остаются неизвестными точные механизмы влияния гиперхолестеринемии на ткани поджелудочной железы и сердечной мышцы (Csonka C., Sárközy M., Pipicz M. [et al.], 2016; Csonka C., Varanyai T., Tiszlavicz L. [et al.], 2017). Тем не менее, существует мнение о благоприятном действии алкоголя на развитие атеросклероза, так называемый «французский парадокс» (Haseeb S., Alexander B., Baranchuk A., 2017).

Все вышесказанное обосновывает интерес к анализу механизмов формирования токсического панкреатита и поиску действенных способов системного корригирующего воздействия на воспалительный процесс.

Известно, что в условиях окислительного стресса активируются окислительно-восстановительные циклы, маркером которых является восстановленный глутатион и ферментативная система, регулирующая его уровень. Существующая в организме физиологическая антиоксидантная система может в определенной степени снизить повреждающее воздействие свободных радикалов. Интенсивность воспалительной реакции связана с повреждением клеток кислородными метаболитами, что позволяет отнести панкреатит к свободно радикальной патологии. Исходя из этого, важным компонентом метаболической коррекции могут быть препараты антиоксидантной направленности.

В настоящее время возрос интерес к физико-химическим, пищевым, физиологическим свойствам масла семян плодов семейства Cucurbitaceae (Salehi B., Capanoglu E., Adrar N. [et al.], 2019; Men X., Choi S.I., Han X. [и др.],

2020; Özbek Z.A., Ergönül P.G., 2020; Rolnik A, Olas B., 2020; Mokhtar M., Bouamar S. [et al.], 2021; Salehi B., Quispe C., Sharifi-Rad J. [et al.], 2021). Известно, что в составе масла семян тыквы присутствуют триглицериды, эфирные масла, фосфолипиды, токоферолы, каротиноиды, пектины, стерины, витамины А, Е и F, селен. Масло богато белком, полиненасыщенными жирными кислотами и цинком. Высокое содержание этих веществ предполагает выраженное антиоксидантное действие, защищающее клеточные мембраны от действия токсических продуктов. Повышение адаптивных ресурсов органов за счет включения механизмов передачи редокс-сигналов в клетке могут быть полезны при тех патологических состояниях, когда окислительный стресс играет важную роль.

Исследование взаимосвязи при токсическом панкреатите между выраженностью гипоксии, состоянием обменных процессов, антиоксидантной системой и возможностями метаболической коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, позволит определить место препарата в выборе методов антигипоксической и антиоксидантной защиты.

**Цель исследования** – изучить особенности изменения метаболических процессов, протекающих в крови и тканях поджелудочной железы, печени и сердца, а также определить возможность их коррекции комплексным препаратом, содержащим биологически активные вещества, получаемые из семян тыквы, при экспериментальном токсическом панкреатите.

**Задачи исследования:**

1. Изучить метаболические изменения в плазме крови при экспериментальном токсическом панкреатите до и после коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

2. Выявить метаболические изменения в ткани поджелудочной железы при экспериментальном токсическом панкреатите до и после коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.



3. Установить метаболические изменения в ткани печени при экспериментальном токсическом панкреатите до и после коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

4. Охарактеризовать метаболические изменения в ткани сердечной мышцы при экспериментальном токсическом панкреатите до и после коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

5. Определить метаболические изменения в эритроцитах при экспериментальном токсическом панкреатите до и после коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

### **Научная новизна исследования.**

При выполнении диссертационной работы впервые:

1. Воспроизведена модель экспериментального токсического панкреатита (без использования химических веществ и хирургических манипуляций), которая характеризуется вовлечением в патологический процесс ведущих органов и систем организма – системы крови, поджелудочной железы, печени и сердечной мышцы.

2. Проведена комплексная оценка метаболических изменений при моделировании экспериментального токсического панкреатита, включающая развернутый биохимический анализ плазмы крови, подтверждающий адекватность модели, а анализ интегральных показателей состояния углеводно-энергетического обмена и системы глутатиона позволил оценить органоспецифические особенности метаболических нарушений в исследуемых органах;

3. Произведена оценка возможности коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, метаболических процессов при экспериментальном токсическом панкреатите, позволившая установить, что эффективность применения фитопрепарата наиболее четко определяется со стороны метаболического ответа панкреоцитов и гепатоцитов, имеет антигипоксическую и антирадикальную направленность.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** Теоретическая значимость работы заключается в анализе метаболических изменений, происходящих в крови и тканях поджелудочной железы, печени, сердца, а также выявлении патогенетически значимых звеньев органоспецифических процессов при экспериментальном токсическом панкреатите.

Полученные результаты исследования позволили оценить эффективность применения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, при экспериментальном токсическом панкреатите.

Практическая значимость исследования состоит в предложении использовать «Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии» (№ 2733693 от 06.10.2020 г.) для воспроизведения экспериментального токсического панкреатита, наиболее адекватного естественному течению процесса, с целью разработки способов оптимизации схем коррекции метаболических процессов при токсическом панкреатите.

**Методология и методы исследования.** В соответствии с поставленной целью и задачами диссертационной работы разработана модель исследования, включающая в себя четыре группы крыс-самцов (n=135), у которых по окончании сроков эксперимента осуществляли забор биоматериала. В гомогенатах тканей органов (поджелудочной железы, печени, сердца) и в плазме и гемолизате эритроцитов крови проводили анализ как интегральных показателей углеводного, энергетического обмена и системы антиоксидантной защиты, так и биохимический анализ плазмы крови, для выявления органоспецифических метаболических нарушений и подтверждения адекватности модели. Все полученные результаты были статистически обработаны, что позволило судить о достоверности полученных данных и сделать обоснованные выводы.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Экспериментальный токсический панкреатит, воспроизводимый на фоне гиперхолестеринемии и алкогольной интоксикации, характеризуется вовлечением

в патологический процесс ведущих органов и систем организма – системы крови, поджелудочной железы, печени и сердечной мышцы, что документируется тканевой гипоксией, характерными симптомами панкреатита, гиперферментемией, изменением ключевых показателей белкового, углеводного, липидного, пигментного обмена и глутатионового звена антиоксидантной защиты.

2. После введения комплексного препарата, содержащего биологически активные вещества, получаемые из семян тыквы, выявлены неоднозначные метаболические изменения в исследуемых органах. В печени, поджелудочной железе и эритроцитах регистрируется снижение уровня лактоацидоза, что указывает на уменьшение тканевой гипоксии, тогда как в сердечной мышце сохраняется анаэробная направленность обмена, а в плазме крови сохраняется гиперферментемия (амилаза, щелочная фосфатаза и аспартатаминотрансфераза). В сердечной мышце и эритроцитах определяется высокий уровень восстановленного глутатиона, отражающий напряженность работы глутатионового звена антиоксидантной защиты, тогда как этот показатель в поджелудочной железе значительно снижается, а в печени нормализуется.

3. Эффективность коррекции комплексным препаратом, содержащим биологически активные вещества, получаемые из семян тыквы, наиболее четко определяется со стороны метаболического ответа панкреоцитов и гепатоцитов: снижается выраженность тканевой гипоксии, синхронизируется реакция ферментов глутатионового звена антиоксидантной защиты, восстанавливается пигментный обмен, улучшаются показатели индекса атерогенности, уменьшается гипергликемия и уровень триглицеридов, повышенные до лечения, и отмечается тенденция к восстановлению синтеза мочевины до исходных данных.

**Степень достоверности и апробация работы.** Проведенное фундаментальное исследование выполнено на группах животных с достаточными объемами выборок. Определение исследуемых лабораторных показателей в биоматериалах проведено на современном оборудовании с использованием

актуальных наборов реактивов и применением апробированных биохимических методов, соответствующих цели и задачам диссертационной работы. Применение программы STATISTICA 10.0 и Microsoft Office Excel Worksheet для подготовки и интерпретации результатов, позволило наглядно отобразить полученные данные в таблицах и проиллюстрировать рисунками работу.

Основные положения и выводы диссертационного исследования доложены и обсуждены на: XV Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону» (Ростов-на-Дону, 2016); XX международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке»: «Отечественная медицина как основа развития современного здравоохранения» (в аспектах модернизаций технологии, информации, науки и системы образования) (Москва, 2018); 7-ой итоговой научной сессии, посвященной 90-летию Ростовского государственного медицинского университета (Ростов-на-Дону, 2020); XIX Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении – дни клинической лабораторной диагностики на Дону» (Ростов-на-Дону, 2020); XX Российской научно-практической конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении – дни клинической лабораторной диагностики на Дону» (Ростов-на-Дону, 2021); 8-ой итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2021); XLVII Международная выставка-презентация научных, технических, учебно-методических и литературно-художественных изданий (Москва, 2021).

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры общей и клинической биохимии № 1 (протокол № 21 от 18.04.2023 г.) и проблемной комиссии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 22 от 02.05.2023 г.).

**Внедрение результатов исследования.** Основные результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры патологической физиологии (акт внедрения от 12.12.2022 г.), кафедры фармакологии и клинической фармакологии (акт внедрения от 15.12.2022 г.) и кафедры общей и клинической биохимии №1 (акт внедрения от 16.12.2022 г.) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Публикации результатов исследования.** По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 6 – в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе получено 3 патента на изобретение.

**Личный вклад автора в исследование.** Лично диссертантом проведен научно-информационный поиск данных для обзора литературы, его анализ и обобщение (93 %), сформулированы цель и задачи, а также разработан дизайн исследования (95 %). Автором самостоятельно осуществлена экспериментальная часть работы, заключающаяся в сборе биоматериала и его анализе с применением актуальных биохимических и статистических методов (85 %). А также соискатель принимал активное участие в: формулировании выводов и положений, выносимых на защиту (80 %); разработке практических рекомендаций и внедрении полученных результатов (85 %); написании текста диссертации (90 %), тезисов, статей и патентов на изобретения (75 %); в подготовке иллюстрированного материала (96 %).

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертационная работа изложена на 160 страницах, содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, две главы собственных исследований, заключение и выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы и приложения. Диссертация иллюстрирована 16 таблицами и 23 рисунками. Библиография представлена ссылками на 198 литературных источников (88 отечественных и 110 зарубежных авторов).

**ГЛАВА 1****ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ****1.1. Методы моделирования хронического панкреатита**

Панкреатология является динамично развивающейся современной наукой, о чем свидетельствует многообразие классификаций панкреатита, разработанных на основании клинических и экспериментальных исследований (Седова Г.А., Федоров И.Г., Косюра С.Д. [и др.], 2013; Ивашкин В.Т., Маев И.В. [и др.], 2014; Клинические рекомендации Минздрава России «Хронический панкреатит», 2020).

В современной литературе определение термина «хронический панкреатит» трактуется, как группа хронических заболеваний поджелудочной железы (ПЖ) различной этиологии в основном воспалительной природы, приводящее к нарушению не только ферментативной и гормональной функций, но и достаточно серьезным морфологическим изменениям структуры органа (Минушкин О.Н., Масловский Л.В., 2005; Маев И.В., Кучерявый Ю.А., 2009; Седова Г.А., Федоров И.Г., Косюра С.Д. [и др.], 2013; Ивашкин В.Т., Маев И.В., Охлобыстин А.В. [и др.], 2017).

Анализ результатов исследований отечественных и зарубежных авторов показал, что одной из ключевых причин развития ХП (в 60-80 % случаев) является регулярное употребление алкоголя (Lévy P., Domínguez-Muñoz E. [et al.], 2014; Ивашкин В.Т., Маев И.В., Охлобыстин А.В. [и др.], 2014; Шевченко Е.А., Потемина Т.Е., Успенская О.А. [и др.], 2015). По рекомендациям Всемирной организации здравоохранения алкогольный хронический панкреатит выделен в отдельную нозологическую единицу – К.86.0 (Клинические рекомендации Минздрава России "Хронический панкреатит", 2020).

Значимость медико-социальной проблемы связанной с чрезмерным употреблением этанола и ведением нездорового образа жизни (высокожирового рациона питания и табакокурения) лицами молодого возраста может влиять на частоту постановки гастроэнтерологами и терапевтами диагноза «хронический

алкогольный панкреатит» (токсический панкреатит) (Косюра С.Д., Ильченко Л.Ю., Сторожаков Г.И. [и др.], 2012; Белякова С.В., 2019).

На сегодняшний день существующие «классические» схемы лечения различных видов ХП не могут позволить врачу вести полноценно больного от момента скрининга до назначения лечения (Можейко Л.А., 2020). В связи с этим все актуальнее становятся исследования в области панкреатологии: разработка новых методов моделирования токсического панкреатита и схем терапии, в том числе и алкогольной этиологии.

Известен метод моделирования хронического панкреатита на крысах-самцах путем проведения лапаротомии и окклюзии протока поджелудочной железы лигатурой «Prolene» 5/0 (Page B.J., Toit D.F., Muller C.J.F. [et al.], 2000; Макарчук В.А., Ушакова Г.А., 2014).

Ошмянская Н.Ю. с соавторами в своем исследовании предложили несколько вариантов развития экспериментального панкреатита. Один из вариантов заключался в том, что первоначально животных подвергали пищевой депривации, но доступ оставался свободным к воде, а по истечению 20 часов проводили лигирование главного панкреатического протока в хвостовой части ПЖ нитью «Кетгут» 3/0. Также предлагают методы, включающие как ежедневное пероральное введение одного алкоголя (по 4 мл/кг массы животного), так и в сочетании с интраперитонеальным введением донаторов готовых молекул оксида азота или ингибиторов NO-синтаз (по 1,5 мг/кг в 2 мл 0,9 %-ного раствора NaCl) (Ошмянская Н.Ю., Галинский А.А., Гайдар Ю.А., 2014).

Существует модель этанол-индуцированного острого панкреатита, разработанная Горским В.А. и группой авторов. Для этого они в течение 2-10 недель вместо питьевой воды давали аутбредным крысам CD категории SPF 10 %-ный раствор этилового спирта, а для потенцирования эффекта алкоголизации авторы вводили раствор церулеина в дозе 40 мкг/кг (Горский В.А., Агапов М.А., Леоненко И.В. [и др.], 2014).

Сотрудниками Гомельского государственного медицинского университета предложена травматическая модель острого и хронического панкреатита. Для



воспроизведения данных моделей они использовали нелинейных белых крыс и криохирургический комплекс «КСН 3 А/В» (для местного замораживания тканей). Суть метода заключалась в проведении под эфирным наркозом животным лапаротомии, с выведением селезеночного сегмента ПЖ (вместе с саленником и селезенкой), и воздействием на него в течении одной минуты низких температур ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), после проведения криохирургических манипуляций на участке ПЖ давали ему оттаять в течении 30 секунд и погружали в брюшную полость, соответственно. Животных забивали спустя 5/30/60 минут, через 3/6/12/24 часа, на 3/7/14/21/30/45/60/75/90 сутки после локальной гипотермии поджелудочной железы. Авторы заверяют, что данная модель выделяется стабильностью воспроизведения и высокой специфичностью, так как первоначально поражается лишь поджелудочная железа (Дорошкевич С.В., Дорошкевич Е.Ю., 2009).

Другой группой авторов предложен способ моделирования хронического панкреатита, который реализуется путем деструкции ткани поджелудочной железы крыс единичным введением 1 %-ным раствором тритона X-100 в объеме 0,1 мл, с последующей алкоголизацией животных в течение трех месяцев 15 %-ным водным раствором этанола, используемого для питья вместо воды. (Летуновский А.В., Микашинович З.И., Паныкина Н.С., 2010; Микашинович З.И., Летуновский А.В., Воронкин Д.А. [и др.], 2010; Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2011). Однако этот метод не является естественным для человека, так как животным вводится химическое вещество – «Тритон X-100».

Таким образом, известные хирургические методы моделирования токсического панкреатита, в том числе и алкогольной этиологии, сосредоточены на легировании панкреатического протока или криохирургических манипуляциях, а токсико-инфекционные модели основываются на введении в протоки и/или паренхиму ПЖ желчи, ферментов, бактериальных, масляных (оливковое масло) и токсичных веществ, а также спирта. Безусловно, все эти методы апробированы для изучения повреждений поджелудочной железы, так как вызывают необратимые структурно-функциональные изменения в ПЖ. Однако, данные

модели пригодны для проведения исследований в основном ПЖ, но необходимо также учитывать токсико-инфекционное влияние на органы такие, как печень, сердце и другие. В связи с этим остается актуальным вопрос о разработке модели, наиболее адекватных течению воспалительного процесса, позволяющих оценить патогенетическую значимость органоспецифических сдвигов со стороны жизненно важных биосистем.

## **1.2. Метаболические изменения в исследуемых органах и крови**

На сегодняшний день механизмы развития токсического панкреатита на фоне алкоголизации нуждаются в углубленном изучении (Кучерявый Ю.А., 2011; Ивашкин В.Т., Маев И.В., Охлобыстин А.В. [и др.], 2014; Скворцов В.В., Устинова М.Н., Халилова У.А., 2017). Известно, что в патогенезе токсического панкреатита алкогольной этиологии участвуют следующие механизмы: под воздействием этанола происходит внутрипротоковая гипертензия, которая способствует увеличению проницаемости стенок протоков ПЖ ферментов, приводящих к аутолизу ткани (Stevens T., Parsi M.A., 2010; Скворцов В.В., Устинова М.Н., Халилова У.А., 2017). Отмечено, что под воздействием алкоголя изменяется качественный состав панкреатического сока, характеризующийся увеличением количества белка и низкой концентрацией бикарбонатов, что способствует образованию в панкреатических протоках кальцинирующихся пробок, которые приводят к образованию псевдокист и панкреонекрозу (Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Москалева А.Б., 2010; Комаров Ф.И., Осадчук М.А., Осадчук А.М., 2010; Кучерявый Ю., Тибилова З., Андреев Д. [и др.], 2013). Кроме этого, алкоголь и его эфиры оказывают токсическое действие на ткань ПЖ, снижая антиоксидантную активность. Вследствие этого, накапливается большое количество свободных радикалов, которое способствует нарушению микроциркуляции и развитию воспалительных процессов, а также приводит к жировой дистрофии и некрозу ткани (Detlefsen S., Spos B., Feyerabend B. [et al.], 2006; Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Москалева А.Б., 2008; Скворцов В.В., Устинова М.Н., Халилова У.А., 2017).

Обращает внимание то, что работ, посвященных анализу метаболических процессов в поджелудочной железе, недостаточно для обоснованного заключения о механизмах ее повреждения при токсическом панкреатите. Известно, что уровень антиоксидантной защиты в ткани поджелудочной железы один из самых низких, что может быть мишенью накапливающихся продуктов свободнорадикального окисления (Çöl S., Dinler K., Hasdemir O. [et al.], 2010; Макарьчук В.А., Ушакова Г.А., 2014).

При моделировании экспериментального хронического алкогольного панкреатита у белых беспородных крыс путем инъекции раствора тритона X-100 и последующей принудительной алкоголизацией в миокарде отмечали тканевую гипоксию, выраженный цитолиз, а со стороны антиоксидантной защиты – активация всех ферментов глутатионового звена, что можно рассматривать, как защитную реакцию на развитие патологического процесса. (Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2012). При анализе ткани печени отмечали развитие окислительного стресса и декомпенсацию в системе антиоксидантной защиты, а также выраженную гипоксию за счет избыточного количества лактата (Летуновский А.В., 2011).

В работе Лачумикандане Каливаратана и соавторов установлено, что прием этанола в стандартной модели Либеры - де Карли (высокоэнергетическая диета и этанол) сопровождался инфильтрацией и активацией лейкоцитов в почках, в результате чего усиливалось окисление липидов и апоптотическая гибель клеток, что приводило к нарушению фильтрующей функции почек, выражавшемуся в увеличении уровня мочевины и креатинина в крови и усилением выделения альбумина с мочой (Latchoumuscandane S., Nagy L.E., McIntyre T.M., 2014).

В исследовании Фернанда Колерауса Сильва и соавторов показано, что длительное воздействие даже относительно низких доз этанола, присутствующих в фармацевтических препаратах (фитотерапевтических настойках), может изменять липидный профиль крови, вызывая повреждение печени, и увеличивать содержание креатинина, нарушая функцию почек (Silva F.C., de Lara de Souza J.G., Reichert A.M. [et al.], 2015).

Однако установлено, что у животных, находящихся на гиперлипидемической диете, в мембране эритроцитов возрастало содержание холестерина и отмечалась экстернализация фосфатидилсерина (что является маркером повреждения или старения клеток). Это способствует активации взаимодействия эритроцитов с макрофагами селезенки и приводит к их утилизации, высвобождая большие количества гема (Unruh D., Srinivasan R., Benson T. [et al.], 2015; Arias C.F., Arias C.F., 2015; Turpin C., Catan A., Meilhac O. [et al.], 2021).

Интересные результаты получены в работе Караман Ю.К., изучавшей механизмы адаптации организма крыс к алиментарной высокожировой нагрузке на сроках 30, 90 и 180 суток. Исследователем была продемонстрирована нормализация метаболической функции, уровня гидроперекисей липидов и малонового альдегида (МДА) в крови и печени, активности каталазы, повышение общей антиоксидантной активности, а также активности глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГПО) в эритроцитах на 90 сутки высокожировой нагрузки. При этом на 30 и 180 сутки активность ГР и ГПО в эритроцитах была снижена. Автор высказывает предположение о том, что к 90 суткам алиментарной высокожировой нагрузки в организме развивается резистентность гомеостатических систем, в частности эритроцитов, в рамках компенсаторно-приспособительных механизмов долгосрочной адаптации (Караман Ю.К., 2011).

Помимо этого обогащение мембраны холестерином способствует снижению ее текучести, снижает ее деформируемость, повышает ригидность мембраны, приводя к изменению морфологии эритроцитов, результатом чего может быть усиление процесса гемолиза (Holm T.M., Braun A., Trigatti B.L. [et al.], 2002; Meurs I., Hoekstra M., van Wanrooij E.J. [et al.], 2005; Tanczos B., Somogyi V., Bombicz M. [et al.], 2021).

В дополнение к вышесказанному в исследовании Дастен Унру и соавторов показано, что обогащенная жирами диета индуцировала усиление внутриклеточной генерации свободных радикалов в эритроцитах по непонятному пока механизму (Unruh D., Srinivasan R., Benson T. [et al.], 2015). Преобладающей активной формой кислорода в эритроцитах является перекись водорода  $H_2O_2$ ,

образующаяся при автоокислении гемоглобина. Для нейтрализации внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) в эритроцитах существует мощная антиоксидантная система защиты, представленная, прежде всего пулом восстановленного глутатиона (GSH), сульфгидрильными группами самого гемоглобина и многочисленными антиоксидантными ферментами (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, пероксиредоксины) (Летуновский А.В., Белоусова Е.С., Коваленко Т.Д. [и др.], 2006; Mohanty J.G., Nagababu E., Rifkind J.M., 2014). Результаты, полученные при исследовании у животных уровня внутриклеточных тиолов, достаточно противоречивы.

Так в работе Кемпайя Р.К. и Шринивасана К. показано, что уровень общих внутриклеточных тиолов и восстановленного глутатиона были значительно истощены в эритроцитах крыс, получавших пищу с высоким содержанием жира, а концентрация липопероксидов (внутриклеточных и мембранных) была значительно повышена (Kempaiyah R.K., Srinivasan K., 2004).

В противоположность этому в исследовании Вальчевска Анны и соавторов редокс-статус глутатиона восстановленного/окисленного (GSH/GSSG) в эритроцитах, наоборот, был самым высоким у крыс, получавших диету, содержащую сало, и самым низким у крыс, получавших подсолнечное масло, т.е. диета, богатая подсолнечным маслом вызывала в эритроцитах окислительный стресс (Walczewska A., Dziedzic B., Stepien T. [et al.], 2010). Авторы исследования объясняют такой результат тем, что активность окислительных процессов и антиоксидантных ферментов может зависеть от типа жира, преобладающего в рационе (Mollapour E., Linch D.C., Roberts P.J., 2001; Sabitha P., Vasudevan D.M., Kamath P., 2010).

Кроме этого, проведенный Можейко Л.А. анализ научной литературы показал, что алкоголь и его метаболиты на клеточном уровне приводят к недостаточной секреции воды, карбонатов и ферментов, повышению кислотности и вязкости секрета ПЖ, что впоследствии способствует формированию слизисто-белковых пробок, а в дальнейшем камнеобразованию (Можейко Л.А., 2019). Нарушения, происходящие в митохондриях, указывают на снижение продукции АТФ

(аденозинтрифосфорной кислоты) и деэнергизации ацильных клеток, а влияние алкоголя и его метаболитов на звездчатые клетки ускоряют процесс фиброза ткани ПЖ (Можейко Л.А., 2020).

На модели хронического панкреатита, воспроизведенного путем окклюзии панкреатического протока продемонстрировано нарушение функции поджелудочной железы: снижение антиоксидантной защиты, развитие эндогенной интоксикации. Помимо этого, обнаружено изменение показателей клеточной адгезии, наиболее выраженное в мозжечке и таламусе. Авторы связывают эти сдвиги с развитием эндотоксикации (Макарчук В.А., Ушакова Г.А., 2014).

Таким образом, несмотря на обилие исследований патогенеза токсического панкреатита, остается открытым вопрос о рассмотрении взаимосвязи структурно-функциональных изменений в органах и крови. При создании модели токсического панкреатита алкогольной и гиперлипидной этиологии, наиболее приближенной к естественному патологическому процессу, возможно, провести оценку эффективности различных схем коррекции.

### **1.3. Способы коррекции заболеваний желудочно-кишечного тракта фитопрепаратами**

Наше исследование посвящено изучению механизмов эффективности комплексного препарата, содержащего биологически активные вещества, получаемые из семян тыквы, как гепатопротекторного, антиоксидантного, противовоспалительного средства, обладающего возможным защитным действием на поджелудочную железу. Известно, что в составе масла семян тыквы преимущественное место занимает кукурбитин, состоящий из аминокислот (тирозина, лизина, пролина, гистидина, аргинина, триптофана, аспаргиновой и глутаминовой кислоты), а также в нем присутствуют триглицериды кислот (олеиновой, линоленовой, стеариновой, пальмитиновой) и витамин *E* в избытке. Биологические добавки к пище и лекарственные препараты, в составе которых имеется масло семян тыквы, применяют при дискинезии желчевыводящих путей,

гепатитах и холецистохолангитах, жировой дистрофии печени и других заболеваниях связанных с желудочно-кишечным трактом (Спасов А.А., Иёжица И.Н. [и др.], 2002). В настоящее время возрос интерес к физико-химическим, пищевым, физиологическим свойствам масла семян плодов семейства *Cucurbitaceae* (Salehi B., Capanoglu E., Adrar N. [et al.], 2019; Men X., Choi S.I., Han X. [et al.], 2020; Özbek Z.A., Ergönül P.G., 2020; Rolnik A, Olas B., 2020; Mokhtar M., Bouamar S., Di Lorenzo A. [et al.], 2021; Salehi B., Quispe C., Sharifi-Rad J. [et al.], 2021).

В отечественной литературе имеется немного информации о клинической эффективности и связанном с этим изменении биохимических показателей крови под влиянием терапии комплексным препаратом, содержащим биологически активные вещества, получаемые из семян тыквы. Например, в работе Басиева З.Г. и Басиевой О.З. представлены результаты применения препарата в течение трех недель у пациентов с тяжелым течением бронхиальной астмы, показавшие снижение индекса интоксикации, увеличение диуреза и выведения хлоридов, уменьшение проявлений гипоксии, улучшение билиарного пассажа (Басиев З.Г., Басиева О.З., 2003).

В исследовании Череновой Л.П. и соавторов изучалась клиничко-лабораторная эффективность приема препарата в течение 3-х недель при острых вирусных гепатитах А и В. У пациентов отмечено уменьшение продолжительности синдрома интоксикации, желтушного периода, более быстрое восстановление размеров печени. При этом наблюдались более быстрая нормализация содержания билирубина в крови, но менее выраженный эффект касался активности аланинаминотрансфераза (АлАТ), так как у части больных длительно сохранялась умеренная гиперферментемия (Черенова Л.П., Галимзянов Х.М., Михалева М.А., 2009).

Однако результаты работы Вахрушева Я.М. и Бейлиной Т.А. не подтвердили улучшение показателей пигментного обмена у пожилых людей с хроническим некалькулезным холециститом, у которых «Тыквеол» применялся в сочетании с «Эссенциале» для профилактики развития желчекаменной болезни. Хотя при этом

было отмечено улучшение биохимического состава желчи и кратковременное улучшение показателей липидного обмена (холестерина, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов) (Вахрушев Я.М., Бейлина Т.А., 2012).

В зарубежной литературе имеются сведения о том, что употребление масла семян тыквы способствует снижению содержания триацилглицерина (Kris-Etherton P.M., Pearson T.A., Wan Y. [et al.], 1999), снижению липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и увеличению липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) (Gossell-Williams M., Hyde C., Hunter T. [et al.], 2011; Ras R., Geleijnse J., Trautwein E., 2014; Majid A.K., Ahmed Z., Khan R., 2020), содержащиеся в препарате фитостеринны ослабляют гиперхолестеринемию у беременных и кормящих самок мышей, возможно, посредством ингибирования абсорбции холестерина в тонком кишечнике за счет снижения соотношения гидрофобных/гидрофильных кислот и снижения мицеллярной растворимости холестерина (Nissinen M., Gylling H., Vuoristo M. [et al.], 2002; Phillips K.M., Ruggio D.M., Ashraf-Khorassani M., 2005; Demonty I., Ras R.T. [et al.], 2009; Dumolt J.H., Radhakrishna S.K., Moghadasian M.H. [et al.], 2018; Cedó L., Farràs M., Lee-Rueckert M. [et al.], 2019).

В диссертационном исследовании Сазоновой Н.В. препарат «Тыквеол» применяли энтерально длительно в схемах лечения собак с острой и хронической экземой. Было установлено, что у животных, в схемы лечения которых входил комплексный препарат, содержание глюкозы и билирубина в крови в разные периоды болезни соответствовали нормальным физиологическим показателям, значительно уменьшалось количество животных с нарушением выделительной и гликогенообразующей функции печени, а содержание в крови холестерина, триглицеридов и пировиноградной кислоты (ПВК) к 90-му дню ремиссии не отличалось от уровня у здоровых собак в отличие от животных, которых лечили без применения лекарственного препарата (Сазонова Н.В., 2003). Значительный эффект снижения уровня глюкозы продемонстрирован у мышей в экспериментальной модели диабета, индуцированного стрептозотоцином и диетой с высоким содержанием жиров (Jiang Z, Du Q., 2011).



В исследовании Макни М. и соавторов показаны антиатерогенные и цитопротекторные эффекты масла семян тыквы у крыс, находившихся на холестериновой диете и получавших смесь масла семян тыквы и льна: у животных значительно снизились общий холестерин, триглицериды в плазме крови и печени, ЛПНП, соотношение ЛПНП/ЛПВП в плазме и индекс атерогенности, происходило изменение жирнокислотного состава плазмы и печени (увеличение количества полиненасыщенных жирных кислот), снижение уровня МДА. Гистологическая картина печени у крыс с холестериновой диетой, обогащенной маслами не характеризовалась выраженными структурными изменениями (Makni M., Fetoui H., Gargouri N.K. [et al.], 2008).

В ряде исследований отмечаются существенные антиоксидантные и противовоспалительные свойства масла семян тыквы, которые объясняют высоким уровнем фенольных кислот и флавоноидов, а также активностью сложного эфира олеиновой кислоты и гидроксioлеиновой кислоты, приводившей к уменьшению воспаления в жировой ткани за счет ингибирования экспрессии цитокинов IL-12, IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  (Dong X.J., Chen J.Y., Chen S.F.[et al.], 2021; Mokhtar M., Bouamar S., Di Lorenzo A. [et al.], 2021; Salehi B., Quispe C., Sharifi-Rad J. [et al.], 2021). В работе Буамар Сары и соавторов гистологическое исследование показало значительную инфильтрацию нейтрофилами в месте инъекции каррагинана и ослабление этого эффекта у животных, получавших каротиноиды и полифенолы в составе масла семян тыквы (Bouamar S., Mokhtar M., Bouziane N. [et al.], 2017).

Обращает внимание то, что в перечисленных исследованиях использование масла семян тыквы, как правило, не было длительным.

В работах Летуновского А.В. и Микашинович З.И. проведены исследования, посвященные анализу метаболических изменений в тканях и крови беспородных крыс, при коррекции комплексным препаратом «Тыквеол» экспериментального хронического алкогольного панкреатита, который моделировался путем введения в поджелудочную железу химического вещества и алкоголизации. Результаты этих исследований (относительно как миокарда, так и ткани печени) указывали на

нормализацию показателей антиоксидантной защиты, снижение гипоксии за счет усиления аэробного метаболизма. При этом авторы отмечали снижение падежа экспериментальных животных при введении комплексного препарата (Микашинович З.И., Летуновский А.В., Воронкин Д.А. [и др.], 2008; Летуновский А.В., 2011; Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2012).

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Краткая характеристика экспериментального материала

Диссертационное исследование проведено на беспородных крысах-самцах в количестве 135 особей и возрасте 12 месяцев с массой  $375 \pm 25$  грамм.

Для реализации экспериментального исследования первоначально отбирали здоровых животных по экстерьеру, прошедших двухнедельный карантин.

Согласно всем нормативно-правовым актам для испытуемых были созданы следующие условия пребывания: световой день не менее 10-12 часов; температурный режим был в пределах 20-24 °С; чистота в клетках поддерживалась ежедневно, а генеральную уборку проводили каждую неделю; корм и поилки с водой для животных находились в свободном доступе. Животных контрольной группы содержали на сбалансированном корме для грызунов, а остальные группы на специально свежеприготовленных рационах, соответствующих поставленным цели и задачам экспериментального исследования.

Все манипуляции с экспериментальными животными проводили согласно с принципами гуманного отношения к ним, руководствуясь «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и с нормами, утвержденными приказом № 755 от 12.08.77 (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»).

Согласно разработанному дизайну исследования животных разделили на группы (рисунок 1):



**Рисунок 1** – Дизайн исследования

Первая группа (n=30) – интактные животные, находившиеся на общем рационе вивария (сбалансированный корм для грызунов) (контрольная группа);

*Вторая группа (n=35)* – животные, с индуцированной гиперхолестеринемией путем содержания их на специальном высокожировом рационе в течение 3-х месяцев (Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Семенец И.А. [и др.], 2020);

*Третья группа (n=35)* – животные, у которых моделировали экспериментальный токсический панкреатит. Для этого у них первоначально развивали гиперхолестеринемию, как у второй группы, а после достижения целевого уровня холестерина равного  $3,83 \pm 0,31$  ммоль/л (контроль  $2,2 \pm 0,2$  ммоль/л), сохраняя рацион питания, в качестве единственного источника питья в течении двух месяцев давали 15%-ный раствор этанола (группа сравнения);

*Четвертая группа (n=35)* – животные с экспериментальным токсическим панкреатитом (как у третьей группы), в рацион которых вводили комплекс биологически активных веществ (КБАВ), полученных из семян тыквы – комплексный препарат «Тыквеол®» (производитель компания – НПО ЕВРОПА-БИОФАРМ, ЗАО (Россия)) по 0,06 мл/100 г массы три раза в сутки через пищеводный зонд в течении двух месяцев (экспериментальная группа).

Для чистоты эксперимента животным группы контроля через пищеводный зонд три раза в сутки вводили по 1 мл воды дистиллированной.

По окончании сроков эксперимента с испытуемыми выполняли ряд манипуляций, которые в соответствовали с «Общими этическими принципами экспериментов над животными», утвержденным I Национальным конгрессом по биоэтике и «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой от 18.03.1986 г. в Страсбурге, подтвержденной от 15.06.2006 г. Проведение диссертационного исследования с использованием животных согласовано и одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол от 25.03.2021 г. № 6/21): под эфирным наркозом животных декапитировали.

## **2.2. Биохимические методы исследования**

Метаболические изменения у животных оценивали по комплексу показателей отражающих состояние углеводно-энергетического обмена и системы глутатиона. Кроме этого, проводили развернутый биохимический анализ плазмы крови, позволивший оценить органоспецифические метаболические нарушения и функциональное состояние различных систем органов.

### **2.2.1. Приготовление гемолизатов и гомогенатов для исследования**

У крыс-самцов после декапитации собирали кровь в стеклянные центрифужные пробирки, обработанные стабилизированным гепарином (10 ед/мл) и эритроциты отделяли от лейкоцитов и тромбоцитов центрифугированием в течение 15 минут при 320 g. После этого осторожно отбирали плазму для проведения дальнейших исследований, а осадок эритроцитов ресуспендировали в 10 мл охлажденного 0,9 % раствора хлорида натрия, затем осаждали клетки центрифугированием в течение 5 минут при 1000 g. В последующем 2-3 раза отмывали эритроциты охлажденным физиологическим раствором, и далее их центрифугировали в течение 30 минут при 640 g для получения плотного осадка для определения уровня субстратов. Затем готовили гемолизаты в соотношении 1:20, которые хранили на холоде до момента их использования для определения активности ферментов.

Кроме этого, сразу после забора крови проводили препарирование животного, используя охлажденные стерильные хирургические инструменты, проводили извлечение поджелудочной железы, печени и сердца, помещали их на фильтровальную бумагу в ледяную среду и проводили взвешивание каждого органа. Далее по очереди их помещали в ступки, размещенные на льду. Гомогенизировали в соотношении 1:9 с охлажденным изотоническим раствором натрия хлорида до получения однородной суспензии. Полученную смесь центрифугировали в течение 2-3 минут при 3000 g для осаждения крупных обломков клеток (Уилсон К., Уолкер Дж., 2015).

### 2.2.2. Методы биохимического исследования плазмы крови

Активность *амилазы* в плазме крови определяли унифицированным методом Смита-Роя и Каравея (1959), описанным Ежовой Г.П. и Бабаевым А.А. (2010). Метод заключается в гидролизационном расщеплении амилазой крахмала и получении конечных продуктов, не дающих цветной реакции с йодом. Об активности амилазы судили по уменьшению интенсивности окраски, которую измеряли на фотоэлектроколориметре (ФЭК) КФК-2 (ЗАО НПО «Техноком») при  $\lambda=630-690$  нм через красный светофильтр относительно воды. Активность амилазы выражали в миллиграммах, гидролизованного 1 л биологической жидкости за 1 с инкубации при 37 °С. Расчет производили по формуле:

$$\text{Активность амилазы, Е/л} = (E_1 - E_2) \times C \times t \times K / E_1,$$

где  $E_1$  – экстинкция холостой пробы,  $E_2$  - экстинкция опытной пробы,  $C$  – количество крахмала, введенного в опытную и холостую пробы,  $t$  – коэффициент пересчета на 1 с инкубации,  $K$  – коэффициент пересчета на 1 л биологической жидкости с учетом разведения, соотношение  $C \times t \times K = 0,2 / (300 \times 10^{-5}) = 66,6$ .

Для определения содержания в плазме крови *общего белка* применяли метод Брэдфорда (1976), приведенный в справочнике Досона Р. (1991). Метод заключается на переходе исходного красителя «Кумасси G-250» (оранжевый) при взаимодействии с белком в синий цвет. При фотоколориметрировании на КФК-2 данной реакционной смеси отмечается изменение максимума поглощения с 465 нм на 595 нм. Концентрацию общего белка в плазме крови выражали в граммах белка на 1 л сыворотки крови (г/л).

Для исследования активности *аспартатаминотрансферазы (АсАТ)* в плазме крови применяли метод Райтмана-Френкеля (1957), унифицированный с 1972 г. и описанный Камышниковым В.С. (2009). В основе данного метода лежит реакция трансаминирования между L-аспартатом и  $\alpha$ -кетоглутаратом. Данная реакция протекает под воздействием АсАТ, впоследствии которой образуются L-глутамат и оксалоацетат. В свою очередь оксалоацетат подвергается декарбоксилированию с образованием пировиноградной кислоты (ПВК). При введении в реакционную смесь раствора 2,4-динитрофенилгидразина (2,4-ДНФГ) происходит образование

веществ: гидразонов оксалоацетата и ПВК, которые дают окрашивание в щелочной среде. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству образовавшихся кислот и активности АсАТ. Активность АсАТ выражали в Е/л ( $1 \text{ Е/л} = 16,67 \text{ нмоль}/(\text{с} \times \text{л})$ ), где с - секунда; л – литр.

Активность *аланинаминотрансферазы (АлАТ)* в плазме крови устанавливали унифицированным методом Райтмана-Френкеля (1957), описанным Камышниковым В.С. (2009), суть которого аналогична определению АсАТ только под воздействием АлАТ на продукты трансаминирования, образуются L-глутамат и пировиноградная кислота (ПВК). После добавления в реакционную смесь 2,4-ДНФГ образуются гидразоны ПВК, которые в щелочной среде дают окрашивание. Его интенсивность пропорциональна количеству образовавшейся кислоты и активности АлАТ. Активность АлАТ выражали в Е/л ( $1 \text{ Е/л} = 16,67 \text{ нмоль}/(\text{с} \times \text{л})$ ), где с - секунда; л - литр).

Для определения активности *щелочной фосфатазы (ЩФ)* в плазме крови животных использовали унифицированный метод Бессея, Лоури, Брока., описанный Камышниковым В.С. (2009). Суть метода основана на определении количества *n*-нитрофенола, который образовывается в результате энзиматического расщепления *n*-нитрофенилфосфата. В щелочной среде *n*-нитрофенол дает окрашивание желтого цвета. Интенсивность окраски фотометрируемого раствора пропорциональна активности ЩФ. Активность ЩФ выражали в Е/л ( $1 \text{ Е/л} = 16,67 \text{ нмоль}/(\text{с} \times \text{л})$ ), где с - секунда; л - литр).

Концентрацию *мочевины* в плазме крови устанавливали по методике приведенной Камышниковым В.С. (2009). Известно, что в кислой среде мочевина в присутствии тиосемикарбозида и солей железа образует с диацетилмонооксимом окрашенное соединение, а интенсивность его окраски пропорциональна содержанию мочевины в плазме крови. Для этого в центрифужную пробирку вносили дистиллированную воду и плазму крови в соотношении 40:1, затем добавляли и 1 мл 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ), далее полученную смесь перемешивали и оставляли в покое 10-15 минут, по истечению времени подвергали центрифугированию (при 3000 g на



15-20 минут). После этого брали чистую пробирку и вносили надсадочную жидкость и цветной реактив в соотношении 1:10, закрывали резиновой пробкой и помещали в кипящую водяную баню на 20 минут, потом охлаждали под струей холодной воды в течение 2-3 минут. Фотоколориметрирование на КФК-2 проводили в течение 15 минут после охлаждения (так как окраска не устойчива) при  $\lambda=530-560$  нм против холостой пробы, используя зеленый светофильтр. Расчет проводили по формуле:

$$\text{Концентрация мочевины, ммоль/л} = \frac{E_1 \times 16,65 \times 10}{E_2},$$

где  $E_1$  – экстинкция опытной пробы;  $E_2$  – экстинкция стандартной пробы; 16,65 – концентрация мочевины в стандартной пробе в ммоль/л; 10 – разведение плазмы крови.

Определение концентрации *креатинина* проводили кинетическим методом Яффе (1886), описанным Камышниковым В.С. (2009), Макаровым В.Г. и Макаровой М.Н. (2013). Суть метода заключается в образовании таутомера пикрата креатинина красного цвета при реакции креатинина с пикратом в щелочной среде. Для этого сыворотку крови смешивали с раствором пикриновой кислоты в пропорции 1:3, через 5 минут помещали в кипящую водяную баню на 15-20 секунд и затем центрифугировали при 1000 g в течение 5 минут. К полученному центрифугату (4 мл) добавляли 2,5 моль/л раствора едкого натра тщательно перемешивали. Если после подщелачивания раствор мутнел, так как происходило выпадение фосфатов, то повторно подвергали центрифугированию. Далее полученный раствор доводят водой до объема 10 мл и во избежание интерференции полученного комплекса незамедлительно на фотометре «Юнико-1200» (Россия) фиксировали изменение оптической плотности при  $\lambda=500-550$  нм через зеленый фильтр против холостой пробы. Расчет производили по калибровочному графику (полученные данные образовавшегося комплекса пропорциональны концентрации креатинина в пробе), а активность креатинина в плазме крови выражали в ммоль/л.

Концентрацию *общего и прямого билирубина* в плазме крови определяли методом Ендрассика-Грофа описанным Есауленко Е.Е. (2014). Для этого с каждой

пробы готовили по 3 пробирки, из которых I – для определения общего билирубина, II – связанного (прямого) и III – контрольная (холостая). В каждую сначала вносили сыворотку крови, затем в I и III пробирки добавляли кофеиновый реактив, после во II вносили кофеиновый реактив и в III – раствор NaCl; далее вносили диазосмесь в I и II пробирки. По истечению 5-10 минут после смешивания проводили определения связанного билирубина, так как в реакцию вступает несвязанный (непрямой) билирубин при длительном стоянии. Для определения концентрации общего билирубина пробы оставляли в покое на 20 минут, чтобы произошло окрашивание, которое в дальнейшем измеряли на ФЭК КФК-2 (ЗАО НПО «Техноком») при  $\lambda=500-560$  нм через зеленый фильтр против воды, где интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации билирубина в пробе. Затем из показателей, полученных при измерении общего и связанного билирубина, вычитали показатель холостой пробы и производили расчет по калибровочному графику.

Содержание *непрямого (несвязанного) билирубина* рассчитывали по разнице концентраций между общим и связанным билирубином. Полученные результаты выражали в мкмоль/л плазмы крови.

Концентрацию *глюкозы* в плазме крови устанавливали по реакции Триндера энзиматическим колориметрическим методом, описанным Камышниковым В.С. (2009) и Корочанской С.П., Сторожук П.Г., Быковым И.М. (2015). В основе данного метода лежит реакция окисления  $\beta$ -D-глюкозы под действием глюкозооксидазы кислородом воздуха, образующееся при этом эквимолярное количество перекиси водорода, которое в свою очередь окисляет хромогенные субстраты под действием энзима пероксидазы с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски образовавшегося продукта реакции прямо пропорциональна концентрации глюкозы и пробе плазме крови. Для определения концентрации глюкозы готовили эталонный раствор и опытную пробу, для которой в центрифужную пробирку вносили осадитель белков и кровь, встряхивали и отправляли в центрифугу на 5 минут. Затем отбирали 0,1 мл центрифугата и добавляли к нему смесь

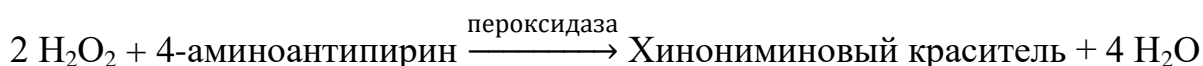
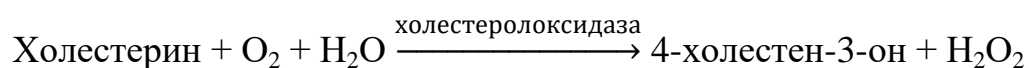
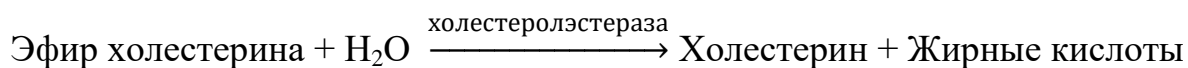
ферментов, хромогена и антипирина. Для проведения окислительно-восстановительной реакции полученную смесь отправляли на 30 минут в термостат при 37 °С, а после фотометрировали на КФК-2 (ЗАО НПО «Техноком») при  $\lambda=510$  нм через зеленый фильтр против воды. Аналогичные манипуляции выполняли и с эталонным раствором. Для расчета использовали формулу:

$$\text{Концентрация глюкозы, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{эт}}} \times 10,$$

где  $E_{\text{оп}}$  – экситинкция опытной пробы;  $E_{\text{эт}}$  – экстинкция эталонного раствора глюкозы; 10 – концентрация глюкозы в эталонном растворе. Полученные результаты выражали в ммоль/л сыворотки крови.

Кроме этого, определяли компоненты липидограммы: общего холестерина, липопротеидов высокой плотности и липопротеидов низкой плотности.

Концентрацию *общего холестерина (ОХС)* в плазме крови определяли колориметрическим методом Триндера, приведенным Камышниковым В.С. (2009). Для постановки данного анализа использовали набор реагентов «Холестерин» (№ РЗН 2017/6469), АО «Вектор-Бест». Данный метод основывается на ряде выполнения реакций:



Для определения концентрации ОХС в плазме каждого животного готовили по три инкубационные пробы:

- 1 – опытная проба = монореагент + плазма;
- 2 – калибровочная проба = монореагент + калибратор (раствор холестерина);
- 3 – контрольная проба = монореагент + вода дистиллированная.

Все пробы помещали в инкубатор на 10 минут при 37 °С, затем проводили измерение оптической плотности и опытной, и калибровочной проб против контрольной при  $\lambda=490-520$  нм (500 нм). Расчет концентрации ОХС проводили по формуле:

$$\text{Концентрация общего холестерина, ммоль/л} = \frac{E_1}{E_2} \times 5,17,$$

где  $E_1$  – оптическая плотность опытной пробы;  $E_2$  – оптическая плотность калибровочной пробы; 5,17 ммоль/л – концентрация холестерина в калибраторе.

Для определения концентрации *триглицеридов (ТГ)* в плазме крови использовали колориметрический метод. Принцип метода заключается в расщеплении триацилглицеридов липопротеинлипазой до глицерина и жирных кислот. Глицерин в свою очередь под воздействием глицеролкиназы превращается в глицерол-3-фосфат и окисляется глицерофосфатоксидазой до дигидроксиацетона и перекиси водорода. Пероксид водорода с 4-аминоантипирином и 3,5-дихлор-2-гидроксибензолсульфонатом натрия дает окрашенный хинонимин.

Для постановки данного анализа использовали набор реагентов «Триглицериды» (№ РЗН 2017/6082), АО «Вектор-Бест». В две пробирки добавляли рабочий реагент и в одну (опытная проба) сыворотку, а в другую (калибровочная проба) – калибратор, который содержит раствор глицерина с эквивалентной концентрацией триглицеридов, содержимое пробирок перемешивали и давали настояться 10 минут при температуре 20-25 °С. Далее измеряли на ФЭК оптическую плотность опытной и калибровочной проб против рабочего реагента при  $\lambda=490-550$  нм (546 нм). Расчет концентрации ТГ проводили по формуле:

$$\text{Концентрация триглицеридов, ммоль/л} = \frac{E_1}{E_2} \times 2,29,$$

где  $E_1$  – оптическая плотность опытной пробы;  $E_2$  – оптическая плотность калибровочной пробы; 2,29 ммоль/л – концентрация триглицеридов в калибраторе.

Для установления концентрации *липопротеидов высокой плотности (ЛПВП)* в плазме крови применяли энзиматический колориметрический метод описанный Камышниковым В.С. (2009) и приведенный Есауленко Е.Е. (2014). Суть метода заключается в осаждении хиломикрон (ХМ), липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) при введении фосфорновольфрамной кислоты и магния хлористого («реагент осаждающий»).

Для постановки данного анализа использовали набор реагентов «ЛВП-

Холестерин-Ново-А» (№ РЗН 2015/3508), АО «Вектор-Бест». В центрифужные пробирки вносили «реагент осаждающий» и соответствующие реагенты: в «опытную пробу» плазму крови, а в «калибровочную пробу» – калибровочный раствор холестерина, далее содержимое пробирок перемешивали, давали настояться при комнатной температуре (10 минут) и помещали в центрифугу на 3000 g в течение 10 минут. После этого полученный супернатант отмеряли в чистые пробирки. На следующем этапе брали две пробирки, отмеряли в них необходимое количество рабочего реагента и в одну из них добавляли полученный супернатант (опытная проба), а в другую разбавленный калибровочный раствор (калибровочная проба); все компоненты перемешивали, и пробы отправляли в термостат на 25 минут при температуре 37 °С, по истечению времени проводили на ФЭК измерение оптической плотности проб против рабочего реагента при  $\lambda=490-520$  нм (500 нм). Расчет концентрации ЛПВП проводили по формуле:

$$\text{Концентрация ЛПВП, ммоль/л} = \frac{E_1}{E_2} \times 1,29,$$

где  $E_1$  – оптическая плотность опытной пробы;  $E_2$  – оптическая плотность калибровочной пробы; 1,29 ммоль/л – концентрация холестерина в калибраторе.

Исходя из полученных нами данных, расчетным методом, используя формулы Fridwald W.T. (1972), проводили определение концентрации *липопротеидов низкой плотности (ЛПНП)* и *липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП)* в плазме крови:

$$\text{Концентрация ЛПОНП, ммоль/л} = \text{ТАГ} / 2,2$$

$$\text{Концентрация ЛПНП, ммоль/л} = \text{ОХС} - \text{ЛПВП} - \text{ЛПОНП}$$

Проведение интегральной оценки про- и антиатерогенных изменений липидного спектра плазмы крови испытуемых животных проводили, используя холестеринный *индекс атерогенности (ИА)*, который рассчитывали по формуле предложенной по А.Н. Климовым (1999):

$$\text{Коэффициент ИА} = (\text{ОХС} - \text{ЛПВП}) / \text{ЛПВП}$$

### 2.2.3. Методы определения метаболитов в ткани и эритроцитах крыс

Для определения метаболитов нами использовались исключительно охлажденные растворы необходимых реактивов в связи с высокой лабильностью содержания субстратов энергетического обмена в тканях и эритроцитах.

Определение концентрации *пировиноградной кислоты (ПВК)* устанавливали по методу Фридемана и Хаугена (1943), описанному Камышниковым В.С (2004). Суть метода состоит в том, что при взаимодействии ПВК с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) образуется гидразон, который в щелочной среде приобретает красно-коричневую окраску, соответственно его интенсивность прямо пропорциональна концентрации ПВК. Для воспроизведения данного метода в центрифужную пробирку отмеряли определенное количество гомогената или гемолизата, воды дистиллированной и 10 %-ный раствор ТХУ. Далее охлаждали ее 2 минуты при +4°C для осаждения белков и проводили центрифугирование в течение 10 минут при 3000 g. Затем в чистую пробирку отбирали полученную надосадочную жидкость и добавляли 1 %-ный раствор 2,4-ДНФГ, полученную смесь инкубировали без света 20 минут, по истечению времени реакцию останавливали добавлением 12 %-ного раствора NaOH и полученную пробу оставляли в покое на 5 минут для развития окраски. Затем на ФЭК измерение оптической плотности при  $\lambda=440$  нм опытной пробы против контроля (вместо гомогената или гемолизата использовали дистиллированную воду).

Используя калибровочную кривую, определяли содержание ПВК в пробах, а после концентрацию вычисляли по формуле:

$$C = E_{оп} \times 40,$$

где C – концентрация ПВК в опытной пробе;  $E_{оп}$  – экстинция опытной пробы. Результаты выражали в мкмоль на 1 мл плотного осадка эритроцитов или 1 мг белка ткани.

Концентрацию *лактата (молочной кислоты)* определяли по методике, предложенной Меньшиковым В.В (1987, 2009). Суть метода заключается в том, в центрифужную пробирку отмеряли определенное количество гомогената (или

гемолизата) и добавляли 5 %-ный раствор ТХУ, затем центрифугировали при 3000 g в течение 10 минут. Далее в чистую пробирку переносили, полученный центрифугат; к нему добавляли сульфат меди в ортофосфорной кислоте и концентрированную серную кислоту, после пробы кипятили на водяной бане при 100 °С в течение 3-х минут. Следом пипеткой вносили 1,5 %-ный раствор параоксидифенила и пробы помещали в термостат при 37 °С на 10 минут, а по истечению времени снова подвергали на 1,5 минуты кипячению (образовавшиеся продукты фенольной конденсации имеют фиолетовый цвет). Интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству лактата. После того, как пробы охлаждаются до комнатной температуры, проводили измерение на ФЭК оптической плотности при  $\lambda=540$  нм через зеленый фильтр против дистиллированной воды.

Используя калибровочную кривую, определяли содержание лактата в пробах, а после концентрацию вычисляли по формуле:

$$C = E_{on} \times 0,6,$$

где C – концентрация лактата в опытной пробе;  $E_{on}$  – экстинкция опытной пробы. Результаты выражали в мкмоль на 1 мл плотного осадка эритроцитов или 1 мг белка ткани.

Содержание *гемоглобина (Hb)* определяли в гемолизате спектрофотометрическим методом, описанным Лугановой И.С. и Блиновым М.Н. (1975). Измерение проводили в присутствии аммиачного раствора на СФ U-2900 при длине волны  $\lambda=540$  нм. Концентрацию гемоглобина выражали в г/мл гемолизата.

Концентрацию *восстановленного глутатиона (GSH)* определяли по методу Ellman G.L. (1959), который основывается на способности образовывать окрашенное соединение при GSH и 5,5-дितिобис-(2-нитробензойной кислотой) (ДТНБ или реактив Элмана) (Микашинович З.И., Летуновский А.В., Волжин О.О. [и др.], 2004; Попов К.А., Быков М.И., Басов А.А. [и др.], 2017; Быков И.М., Попов К.А., Егорова И.А. [и др.], 2018). Для воспроизведения данного метода готовили опытные пробы и контрольную. В опытных пробах к исследуемым гомогенатам (или гемолизатам) прибавляли определенное

количество 30 %-ного раствора ТХУ и проводили центрифугирование в течение 10 минут при 3000 g. Далее к полученным супернатантам добавляли 0,3 М буфер Tris-HCl и 10 мМ раствор ДТНБ, для развития окраски пробы в течение 10 минут оставляли при комнатной температуре. В контрольной пробе буфером восполняли буфером отсутствие анализируемого биосубстрата. Затем выполняли спектрофотометрию на СФ U-2900 при  $\lambda=412$  нм и проводили расчет по формуле:

$$GSH = \frac{\Delta E \times V_1 \times V_2 \times 10^6}{\varepsilon_0 \times V_{cy61} \times V_{cy62} \times l \times C}$$

где  $\Delta E$  – разница экстинкций опытной и контрольной пробы;  $V_1$  и  $V_2$  – объемы проб до и после центрифугирования;  $\varepsilon_0$  – молярный коэффициент экстинкции,  $\varepsilon_0 = 11400 \text{ M}^{-1}/\text{л}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ ;  $V_{cy61}$  и  $V_{cy62}$  – объемы вносимого биосубстрата до центрифугирования и супернатанта после центрифугирования;  $l$  – длина оптического пути;  $C$  – концентрация гемоглобина. Концентрацию GSH выражали в мкмоль/г Нв или мг белка в тканях.

*Концентрацию общего белка* проводили по методу Lowry (1951). Данный метод основан на образовании окрашенных в синий цвет продуктов ароматических кислот с реактива Фолина-Чокальтеу и биуретовой реакцией на пептидные связи. Для проведения методики готовили 6 проб, из которых № 1-4 содержали разную заведомо известную концентрацию белка (их использовали для построения калибровочного графика), № 5 – контрольная (не содержала белок) и № 6 – опытная пробы.

В пробы № 1-4 и вносили индивидуально отмеренное количество стандартного объема белка. Затем во все пробирки добавляли 2 %-ный раствор  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  в 0,1 н. растворе NaOH и 0,5 %-ный раствор  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  в 1%-ном цитрате натрия, перемешивали и спустя 10 минут в каждую пробу добавляли реактив Фолина-Чокальтеу, полученные смеси перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 30 минут. По истечению времени интенсивность окраски растворов измеряли спектрофотометрически на СФ U-2900 при  $\lambda=500$  нм (или  $\lambda=750$  нм). Далее используя калибровочную кривую, определяли



концентрацию белка в опытных пробах, полученные результаты выражали в мг/мл (Заводник И.Б. [и др.], 2009).

#### 2.2.4. Методы определения активности ферментов

Определение активности *глутатионпероксидазы (ГПО)* проводили по методу Моин М.В. (1986), суть которого основывается на установлении скорости окисления GSH в присутствии гидроперекиси трет-бутила (Карпищенко А.И., 2002; Данилова Л.А., 2003; Быков И.М., Попов К.А., Егорова И.А. [и др.], 2018). Первоначально в опытные пробирки вносили отмеренное количество гомогената (или гемолизата), 4,8 мМ раствора GSH в 0,1 М Tris-HCl буфере (pH 8,5) и гидроксиперекись трет-бутила, после полученную смесь подвергали инкубированию на водяной бане при 37 °С в течение 5 минут. Затем в них вносили отмеренное количество 30 %-ной ТХУ, и в контрольную пробирку кроме ТХУ добавляли биосубстрат (так как ранее его в ней не было); все пробы отправляли в центрифугу на 10 минут при 3000 g. После полученный супернатант отбирали в чистые пробирки и добавляли к нему отмеренное количество 0,1 М Tris-HCl буфер (pH 8,5) и 10 мМ ДТНБК; для развития окраски пробы в течение 10 минут оставляли при комнатной температуре. Затем выполняли спектрофотометрию на СФ U-2900 при  $\lambda=412$  нм и проводили расчет по формуле:

$$\text{ГПО} = \frac{\Delta E \times V_1 \times V_2 \times 10^6}{\varepsilon_0 \times V_{\text{cyб1}} \times V_{\text{cyб2}} \times l \times t \times C'}$$

где  $\Delta E$  – разница экстинкций опытной и контрольной пробы;  $V_1$  и  $V_2$  – объемы проб до и после центрифугирования;  $\varepsilon_0$  – молярный коэффициент экстинкции,  $\varepsilon_0 = 11400 \text{ M}^{-1}/\text{л}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ ;  $V_{\text{cyб1}}$  и  $V_{\text{cyб2}}$  – объемы вносимого биосубстрата до центрифугирования и супернатанта после центрифугирования;  $l$  – длина оптического пути;  $t$  – время инкубации;  $C$  – концентрация гемоглобина или общего белка. Концентрацию ГПО выражали в мкмоль/г Нв или мг белка в тканях.

Для установления активность *глутатионредуктазы (ГР)* использовали предложенный Юсуповой Л.Б. (1989) метод, в котором активность фермента

измеряется по скорости окисления НАДФН+Н (Карпищенко А.И., 2002; Микашинович З.И., Летуновский А.В., Волжин О.О. [и др.], 2004). Для проведения методики в опытную пробирку с гомогената (или гемолизата) вводили отмеренное количество реакционной смеси, состоящей из 1 части 8 мМ ЭДТА, 6 частей 0,1 М раствора КСl и 2 частей 0,2 М Na,K-фосфатного буфера, а также добавляли 8 мМ GSSH и 2 мМ НАДФН+Н (в контрольную пробирку не добавляли биосубстрат и GSSH аменяли на дистиллированную воду). Полученные пробы инкубировали на водяной бане при 37 °С в течение 10 минут. Затем измеряли в пробах оптическую плотность на спектрофотометре U-2900 при  $\lambda=340$  нм и проводили расчет по формуле:

$$ГР = \frac{\Delta E \times V_{\text{пробы}} \times 10^6}{\varepsilon_0 \times V_{\text{суб}} \times l \times t \times C'}$$

где  $\Delta E$  – разница экстинкций опытной и контрольной пробы;  $V_{\text{пробы}}$  – объемы пробы;  $\varepsilon_0$  – молярный коэффициент экстинкции НАДФ+Н,  $\varepsilon_0 = 6220 \text{ М}^{-1}/\text{л}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ ;  $V_{\text{суб}}$  – объемы вносимого субстрата;  $l$  – длина оптического пути;  $t$  – время инкубации;  $C$  – концентрация гемоглобина или общего белка. Концентрацию ГР выражали в мкмоль/г Нв или мг белка в тканях.

### 2.3. Гистологические методы исследования

Гистологические методы исследования проводились в патологоанатомическом бюро ГБУ РО «ПАБ» г. Ростова-на-Дону на ткани поджелудочной железы, печени и сердца групп крыс, участвующих в эксперименте. Парафиновые срезы фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Для окрашивания использовали «Гистологический краситель ядер клеток для обзорной окраски срезов образцов "Гематоксилин регрессивный БЛИК"» (ТУ 9398-003-89243190-12) (ООО НПФ «БликМедиклПродакшн») и «Эозин водно-спиртовой концентрированный» (по ТУ 9398-001-89079081-2012) (ООО «ЭргоПродакшн»).

#### **2.4. Статистическая обработка экспериментальных данных**

Полученные данные результатов диссертационного исследования были статистически обработаны и проанализированы с помощью программного продукта Statistica 10.0. и пакета анализа MS Excel 2013.

Оценку статистической значимости различий между средними оценивали с помощью t-критерия Стьюдента (в случае нормального распределения признака) или с помощью U-критерия Манна-Уитни (при отличии распределения от нормального) (Герасимов А.Н., 2007).

Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности  $p \leq 0,05$ .

**ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЛАЗМЕ КРОВИ  
У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ  
ПАНКРЕАТИТОМ И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕЦИИ  
КОМПЛЕКСОМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ,  
ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СЕМЯН ТЫКВЫ**

Одной из основных причин токсического панкреатита является длительное употребление алкоголя. Как следует из вышеизложенного, необратимый воспалительный процесс, лежащий в основе этого заболевания, приводит к морфологическим изменениям в поджелудочной железе, характеризующимся в основном интерстициальным фиброзом и атрофией ацинарных клеток железы. Однако хронический воспалительный процесс способствует нарушению функционирования не только поджелудочной железы, но и других внутренних органов, что подтверждают полученные нами результаты.

Общепринятым стандартом оценки функции внутренних органов (печени, желчного пузыря, поджелудочной железы, почек) при токсическом панкреатите алкогольной этиологии является биохимическое исследование крови. Однако изменение какого-либо отдельного показателя обладает невысокой чувствительностью и специфичностью в отношении конкретного заболевания внутренних органов. Надо полагать, что одновременное изменение в органах и крови комплекса показателей позволят выявить определенные лабораторные синдромы, которые могут служить надежным критерием оценки корректирующих воздействий.

**3.1. Метаболические изменения в плазме крови у животных с гиперхолестеринемией**

Показано, что диета, обогащенная животными жирами, холестерином и легко усваиваемыми углеводами, приводила к системному провоспалительному состоянию, активации окислительных процессов в различных тканях организма,

прежде всего в печени, оказывая гепатотоксическое влияние (Otunola G.A., Oloyede O.B., Oladiji A.T. [et al.], 2010; AlSharari S.D., Al-Rejaie S.S., Abuohashish H.M. [et al.], 2016; Han Q., Yeung S.C. [et al.], 2018). В этой связи целесообразно проанализировать влияние гиперхолестеринемии на лабораторные показатели в плазме и клетках крови.

Результаты проведенного анализа плазмы крови животных с гиперхолестеринемией отражены в таблице 1.

**Таблица 1** – Биохимические показатели в плазме крови у животных с гиперхолестеринемией ( $M \pm m$ , p)

Показатель \ Группа	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
Амилаза, Е/л	628,21±18,67	584,62±19,4 p>0,05
Общий белок, г/л	102,55±3,29	97,45±7,66 p>0,05
АсАТ, Е/л	134,16±38,92	159,67±5,11 p>0,05
АлАТ, Е/л	123,38±8,59	65,1±2,76 p<0,001
ЩФ, Е/л	145,78±45,96	239,47±11,64 p>0,05
Мочевина, ммоль/л	8,6±0,94	12,4±0,46 p<0,001
Креатинин, мкмоль/л	86,14±10,88	96,18±8,78 p>0,05
Общий билирубин, мкмоль/л	1,5±0,19	8,4±0,78 p<0,001

Показатель \ Группа	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
Прямой билирубин, мкмоль/л	0,4±0,003	1,3±0,11 p<0,001
Непрямой билирубин, мкмоль/л	1,1±0,19	7,1±0,68 p<0,001
Глюкоза, ммоль/л	3,04±0,28	5,4±0,51 p<0,001
Общий холестерин, ммоль/л	2,2±0,2	3,83±0,31 p<0,001
ЛПВП, ммоль/л	1,47±0,13	1,13±0,1 p<0,05
ЛПНП, ммоль/л	0,84±0,07	2,6±0,21 p<0,001
Триглицериды, ммоль/л	0,9±0,09	1,19±0,12 p>0,05
Индекс атерогенности, ммоль/л	0,5±0,06	2,6±0,19 p<0,001

*Примечание.* Значимость различий: p – степень достоверности относительно контрольной группы; при p≤0,05 различия статистически значимы.

Изучение комплекса биохимических показателей в плазме крови крыс контрольной группы показало, что большинство из них находились в границах референсных значений (в пределах физиологической нормы), характерных для этого вида животных (таблица 2).

**Таблица 2** – Референсные интервалы биохимических показателей интактных беспородных крыс-самцов, n=196 (Войтенко Н.Г., Макарова М.Н., Зуева А.А., 2020)

Показатель	Ед. измерения	Референсный интервал
Аланинаминотрансфераза	Ед/л	34–81
Аспартатаминотрансфераза	Ед/л	81–224
Щелочная фосфатаза	Ед/л	79–287
Билирубин общий	мкмоль/л	1,14–3,7
Креатинин	мкмоль/л	45,0–75,1
Мочевина	ммоль/л	3,07–7,28
Общий белок	г/л	59–78
Холестерин общий	ммоль/л	1,03–2,69
Триглицериды	ммоль/л	0,28–1,24
Глюкоза	ммоль/л	3,69–12,94

Однако у нашей контрольной группы средние значения четырех показателей превышали верхнюю границу референсного интервала: содержание креатинина на 14,7 %, мочевины на 18,1 %, общего белка на 31,5 % и АлАТ на 52,3 %. Причем проведенный Войтенко Н.Г. и соавторами анализ результатов доклинических исследований показал, что в крови крыс наиболее часто наблюдаются выбросы АлАТ и АсАТ, а наибольшая вариабельность (более 30 %) характерна для активности ЩФ, уровня триглицеридов, глюкозы и общего билирубина (Войтенко Н.Г., Макарова М.Н., Зуева А.А., 2020).

В группе с гиперхолестеринемией (группа 2) в плазме крови крыс выявлены статистически значимые изменения ряда биохимических показателей по сравнению с их уровнем в контрольной группе. Отмечено более высокое содержание глюкозы на 77,63 % ( $p < 0,001$ ) и мочевины на 44,19 % ( $p < 0,001$ ),

соответственно. Наблюдалось увеличение на 460 % ( $p < 0,001$ ) уровня общего билирубина за счет повышения уровня обеих его фракций – прямого билирубина на 225 % и непрямого 545,45 %, соответственно ( $p < 0,001$ ). Активность АЛАТ в плазме крови была статистически значимо ниже на 47,24 % ( $p < 0,001$ ), а активность ЩФ – выше на 64,27 % ( $p > 0,05$ ), хотя уровня статистической значимости это изменение не достигло.

Известно, что гиперхолестеринемия, представляющая нарушение липидного обмена и системное воспаление становятся триггерными механизмами развития полиорганной патологии – гепатобилиарной (стеатоз печени, стеатогепатит, острый/хронический панкреатит), сердечно-сосудистой (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца), мочевыделительной систем (нефрокальциноз, нефросклероз) (Гонсалес Д.Э., 2008; Sharma I., Liao Y., Zheng X. [et al.], 2021). Можно отметить, что у крыс 2-й группы появились признаки нарушения функционирования почек и печени, что проявилось увеличением содержания в крови мочевины. Этот показатель, наряду с концентрацией креатинина, характеризует азотистый обмен, синтез мочевины осуществляется в печени из аммиака. Содержание мочевины в крови отражает баланс между скоростью ее синтеза гепатоцитами и скоростью ее выведения из крови почками (Levitt D.G., Levitt M.D., 2018). Поэтому увеличение в крови содержания мочевины у животных, получавших рацион с высоким содержанием животных жиров, с одной стороны, может свидетельствовать, прежде всего, об адаптационной реакции, направленной на усиление синтетической функции печени, и с другой о нарушении функционирования почечной системы фильтрации. Наши данные согласуются с результатами исследования зарубежных авторов, показавшими активацию воспалительной реакции в почках и некоторые структурные изменения почек (уменьшение плотности клубочков, их атрофию, деформацию канальцев) у крыс, находившихся на обогащенной жиром диете (Altunkaynak M.E., Ozbek E., Altunkaynak B.Z. [et al.], 2008; Sucedaram Y., Johns E.J., Husain R. [et al.], 2021). Помимо этого, на ухудшение функционирования почечного фильтра может указывать и повышенный уровень прямого билирубина, так как данная фракция



является водорастворимой и также может проходить через почечный фильтр в мочу (Levitt D.G., Levitt M.D., 2014).

Кроме уже указанных сдвигов, еще одним следствием патогенного действия несбалансированного рациона питания является выявленный нами рост уровня углеводов в сравнении с контролем, в результате чего в организме может развиваться состояние гипергликемии и инсулинорезистентности (Munshi R.P., Joshi S.G., Rane V.N., 2014). Значимый рост уровня глюкозы в крови крыс с гиперхолестеринемией (группа 2) может свидетельствовать о взаимосвязи регуляторных влияний на линию поджелудочная железа–печень, так как патология поджелудочной железы очень часто возникает на фоне патологии печени, желчевыводящих путей (Nakanuma Y., 2010; Ахмедов В.А., Гаус О.В., 2017).

Известно, что заболевания печени оказывают влияние на метаболизм липидов и холестерина, в котором она играет центральную роль. В физиологических условиях печень является основным местом биосинтеза и хранения холестерина, а также его выведения с желчью (Тюрюмин Я.Л., Шантуров В.А., Тюрюмина Е.Э., 2012; Luo J., Yang H., Song B.L., 2020). Общее содержание холестерина в организме определяется как активностью его эндогенного синтеза (в печени, кишечнике, коже), так и объемом его поступления с пищей. Биосинтез и поглощение холестерина жестко регулируются механизмом отрицательной обратной связи: если пища содержит небольшое его количество (0,05 %), то до 80 % холестерина, обнаруживаемого в печени, тонком кишечнике и надпочечниках – результат эндогенного синтеза. При увеличении поступления холестерина с пищей активность его эндогенного синтеза уменьшается. На содержание холестерина в крови влияет также объем потребляемых жиров – повышению концентрации холестерина в крови способствуют насыщенные жирные кислоты (Tremblay A.J., Lamarche B., Lemelin V. [et al.], 2011; Afonso M.S., Machado R.M., Lavrador M.S. [et al.], 2018).

У животных с гиперхолестеринемией выявлено статистически значимое изменение показателей липидного обмена – высокое содержание ОХС на

74,09 % ( $p < 0,001$ ), ЛПНП на 209,52 % ( $p < 0,001$ ) и снижение содержания ЛПВП на 23,13 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. В результате этого, ИА резко увеличился более на 420,0 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с уровнем в контрольной группе.

Изучение биохимических показателей крови у экспериментальных животных, в частности крыс, под влиянием патогенного рациона показало формирование алиментарной дислипидемии и гиперхолестеринемии, что проявлялось увеличением содержания ОХС, ТГ, ЛПНП и снижением уровня ЛПВП (Караман Ю.К., Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А. [и др.], 2012; Munshi R.P., Joshi S.G., Rane B.N., 2014; Madariaga Y., Cárdenas M., Irsula M. [et al.], 2015; AlSharari S.D., Al-Rejaie S.S., Abuhashish H.M. [et al.], 2016). На основании этих данных разработан «Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии» (Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Семенец И.А. [и др.], 2020), что подтверждается приведенными выше данными литературы.

Основной транспортной формой холестерина является ЛПНП, которые доставляют его к тканям (Кишкун А.А., 2013; Malhotra P., Gill R.K., Saksena S. [et al.], 2020). Обнаруженное нами увеличение фракции ЛПНП свидетельствует о дисбалансе холестерина в организме в результате повышения его содержания в пищевом рационе и очевидном снижении его выведения печенью в составе желчи. На это указывает также обнаруженное снижение фракции ЛПВП, которая связывает избыток холестерина в тканях и в плазме крови, и транспортирует его в печень, где происходит метаболизм этого соединения, трансформация в желчные кислоты и элиминация в составе желчи в кишечник (Luo J., Yang H., Song B.L., 2020; Bonizzi A., Piuri G., Corsi F. [et al.], 2021).

Как уже говорилось выше, обогащенная животными жирами, холестерином и легко усваиваемыми углеводами диета приводит к системному провоспалительному состоянию и активации окислительных процессов (Fernández-García J.C., Cardona F., Tinahones F.J., 2013; Lasker S., Rahman M.M., Parvez F. [et al.], 2019; Mamun M.A.A., Faruk M., Rahman M.M. [et al.], 2019). Являясь акцепторами холестерина, ЛПВП обладают антиоксидантным

эффектом – они препятствуют образованию токсичных перекисных соединений (Soran H., Schofield J.D., Durrington P.N., 2015; Brites F., Martin M., Guillas I. [et al.], 2017). Повышенный уровень ЛПНП и сниженный уровень ЛПВП в крови крыс 2 группы создают условия благоприятные для активации перекисного окисления липидов и окислительного повреждения внутренних органов.

Помимо изменений показателей липидного обмена, обращает на себя внимание изменение показателей пигментного обмена – значительное увеличение уровня общего билирубина (гипербилирубинемия), причем обеих его фракций. Содержание билирубина отражает баланс между его выработкой в результате разрушения гемоглобина и элиминацией его печенью, т.е. сохранность секреторной функции печени. Рост уровня фракции прямого билирубина является характерным признаком дискинезии желчевыводящих путей, внутрипеченочного холестаза, а также может свидетельствовать о повреждении гепатоцитов и гепатоцеллюлярных заболеваниях (гепатит, цирроз, токсическое воздействие лекарств) (Willard M.D., Twedt D.C., 2012; Вялов С.С., 2012; Кишкун А.А., 2013). На поражение печени указывает также рост концентрации непрямого билирубина, что может быть результатом нарушения его конъюгации с глюкуроновой кислотой, а затем включения в желчь, при поражениях печени – гепатитах, циррозе. При этом в 2 раза более выраженное увеличение концентрации непрямого билирубина позволяет предположить также активацию процесса разрушения эритроцитов и распада гемоглобина в органах ретикулоэндотелиальной системы, в результате чего и образуются большие количества свободного непрямого билирубина, являющегося очень токсичным соединением (Vítek L., Schwertner H.A., 2007; Stevenson D.K., Vreman H.J., Wong R.J., 2011; Sticova E., Jirsa M., 2013; Watchko J.F., Tiribelli C., 2013; Кишкун А.А., 2013).

Таким образом, у крыс с гиперхолестеринемией изменения показателей липидного и пигментного обмена носили признаки синдрома холестаза, который обуславливается нарушением желчевыделительной функции клеток печени с поражением желчных канальцев (внутрипеченочный холестаз), а также

нарушением оттока желчи в результате обтурации желчных протоков (внепеченочный холестаз). При этом гиперхолестеринемия является частым, хотя и непостоянным признаком холестаза. Надо отметить, что повышенный уровень общего холестерина при синдроме холестаза может свидетельствовать об адаптивно-приспособленческой реакции, направленной на активацию синтетической функции гепатоцитов, так как при выраженных паренхиматозных поражениях печени, а особенно при развитии цирроза печени содержание холестерина в крови падает (Макарова М.А., Баранова И.А., 2017). Одним из достоверных маркеров внутрипеченочного холестаза является повышение в крови активности щелочной фосфатазы (Вялов С.С., 2012; Кишкун А.А., 2013; Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С. [и др.], 2015; Roupon R., 2015). Однако в нашем исследовании выявленное увеличение активности этого фермента не достигало уровня статистической значимости.

Подводя промежуточный итог, необходимо отметить, что у крыс, длительно находящихся на патогенной высококалорийной диете (обогащенной легко усваиваемыми углеводами и животными жирами), происходит нарушение липидного обмена (с формированием состояния гиперхолестеринемии и дислипидемии), а также пигментного обмена (в виде гипербилирубинемии), что может указывать на нарушения секреторной функции печени. При этом признаков цитолиза гепатоцитов в виде роста активности внутриклеточных ферментов (АлАТ, АсАТ) не наблюдается, а изменение ряда биохимических показателей крови позволяет также предположить сохранность синтетической функции печени. Однако увеличение уровня холестерина и ослабление механизмов его выведения может привести к накоплению свободного холестерина в печени. Токсичность значительного клеточного уровня холестерина в гепатоцитах является одним из основных факторов воспаления и фиброза, ведущих к повреждению печени.

Высокое содержание холестерина в диете, способствуя развитию окислительного стресса, опосредует различные клеточные реакции, в частности апоптоз. Апоптоз гепатоцитов является основой многих заболеваний печени и

может запускать процессы воспаления, регенерации, фиброза, приводя к гепатитам, циррозу, гепатоцеллюлярной карциноме (Otunola G.A., Oloyede O.B., Oladiji A.T. [et al.], 2010; AlSharari S.D., Al-Rejaie S.S., Abuohashish H.M. [et al.], 2016; Han Q., Yeung S.C. [et al.], 2018).

### 3.2. Метаболические изменения в плазме крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом

В литературе нет единого мнения о критериях оценки адекватности моделей панкреатита на животных. Повреждение поджелудочной железы можно оценить путем измерения активности ее ферментов, таких как амилаза и липаза, уровень которых в крови обычно низок, но может значительно увеличиваться во время воспалительных эпизодов в связи с выделением их из поврежденных ацинарных клеток. Помимо этого используемые для оценки тяжести патологии параметры могут включать массу поджелудочной железы, уровни инсулина/глюкозы в сыворотке крови, макрофагальную и лимфоцитарную инфильтрацию, экспрессию  $\alpha$ -SMA (маркера ранней активации звездчатых клеток), оценку жирового/фиброзного замещения (Zhan X., Wang F., Bi Y. [et al.], 2016).

Результаты проведенного анализа плазмы крови групп животных, вошедших в наше исследование, отражены в таблице 3.

**Таблица 3** – Биохимические показатели в плазме крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом ( $M \pm m$ , p)

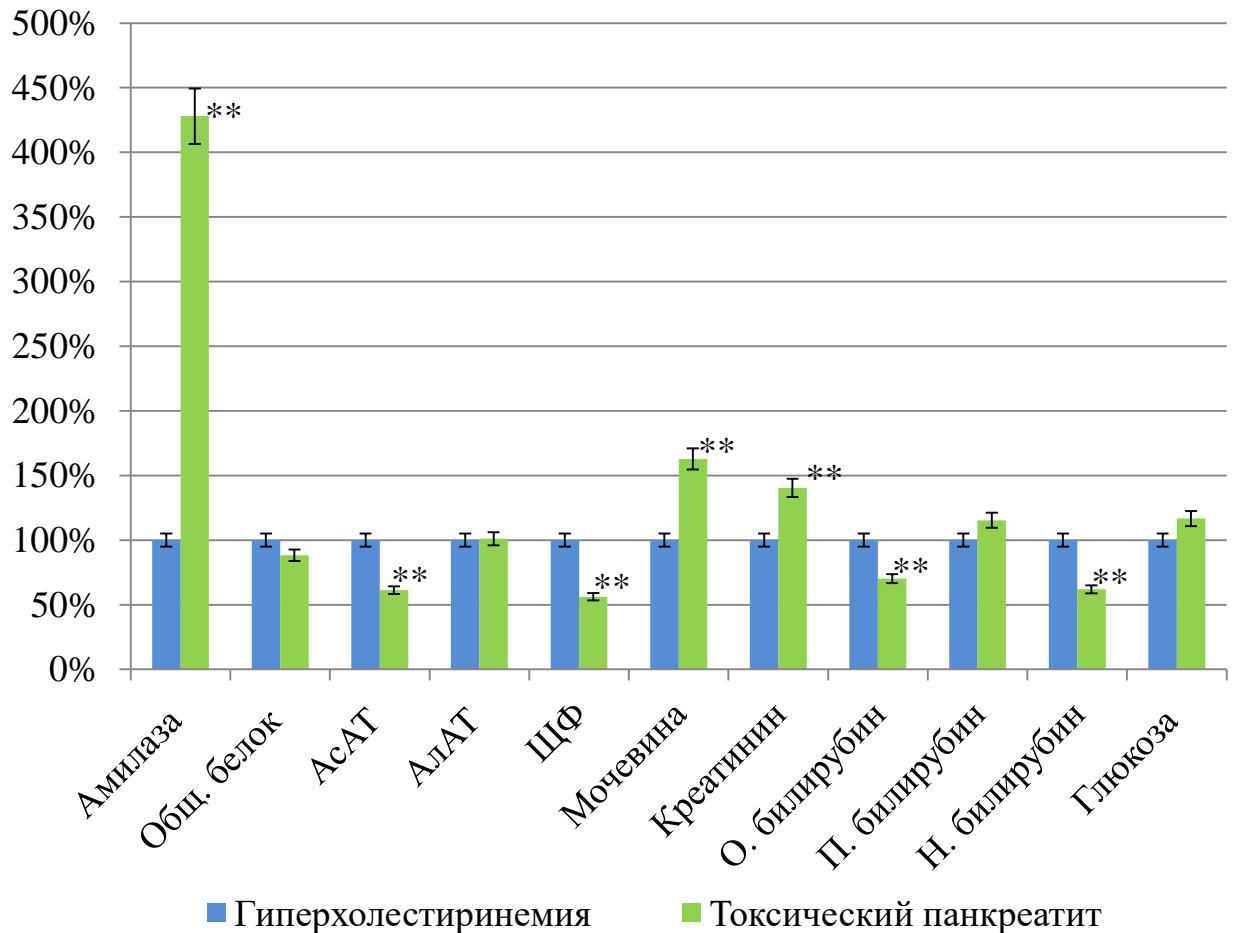
Показатель \ Группа	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)
Амилаза, Е/л	628,21 $\pm$ 18,67	584,62 $\pm$ 19,4 p>0,05	2502,33 $\pm$ 130,77 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
Общий белок, г/л	102,55 $\pm$ 3,29	97,45 $\pm$ 7,66 p>0,05	86,1 $\pm$ 3,79 p<0,05, p <sub>1</sub> >0,05

Показатель \ Группа	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)
АсАТ, Е/л	134,16±38,92	159,67±5,11 p>0,05	97,86±4,69 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,001
АлАТ, Е/л	123,38±8,59	65,1±2,76 p<0,001	65,81±3,12 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
ЩФ, Е/л	145,78±45,96	239,47±11,64 p>0,05	134,51±8,46 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,001
Мочевина, ммоль/л	8,6±0,94	12,4±0,46 p<0,001	20,2±2,96 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05
Креатинин, мкмоль/л	86,14±10,88	96,18±8,78 p>0,05	135,02±14,49 p<0,05, p <sub>1</sub> <0,05
Общий билирубин, мкмоль/л	1,5±0,19	8,4±0,78 p<0,001	5,9±0,61 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05
Прямой билирубин, мкмоль/л	0,4±0,003	1,3±0,11 p<0,001	1,5±0,1 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
Непрямой билирубин, мкмоль/л	1,1±0,19	7,1±0,68 p<0,001	4,4±0,49 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05
Глюкоза, ммоль/л	3,04±0,28	5,4±0,51 p<0,001	6,3±0,48 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
Общий холестерин, ммоль/л	2,2±0,2	3,83±0,31 p<0,001	4,07±0,6 p<0,05, p <sub>1</sub> >0,05
ЛПВП, ммоль/л	1,47±0,13	1,13±0,1 p<0,05	0,8±0,07 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05
ЛПНП, ммоль/л	0,84±0,07	2,6±0,21 p<0,001	0,88±0,08 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,001

Показатель \ Группа	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)
Триглицериды, ммоль/л	0,9±0,09	1,19±0,12 p>0,05	2,0±0,19 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
Индекс атерогенности, ммоль/л	0,5±0,06	2,6±0,19 p<0,001	4,09±0,39 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001

*Примечание:* значимость различий: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p<sub>1</sub> – степень достоверности относительно группы с гиперхолестеринемией; при p≤0,05 различия статистически значимы.

У группы 3 (животные с экспериментальным токсическим панкреатитом) в плазме крови выявлены еще более существенные изменения биохимических показателей по сравнению с их уровнем у крыс с гиперхолестеринемией (рисунок 2). Прежде всего, относительно животных с гиперхолестеринемией у группы с экспериментальным токсическим панкреатитом следует отметить статистически значимое снижение показателей пигментного обмена – уровня общего билирубина на 29,76 % (p<sub>1</sub><0,05) за счет снижения фракции непрямого билирубина на 38,03 % (p<sub>1</sub><0,05). Также при анализе показателей этих групп выявлено снижение активности ферментов: АсАТ на 38,71 % (p<sub>1</sub><0,001) и ЩФ на 43,83 % (p<sub>1</sub><0,001), а активность АлАТ не изменилась (p<sub>1</sub>>0,05). Концентрация общего белка не только не изменилась (p<sub>1</sub>>0,05), но и осталась по-прежнему выше верхней границы референсного интервала.



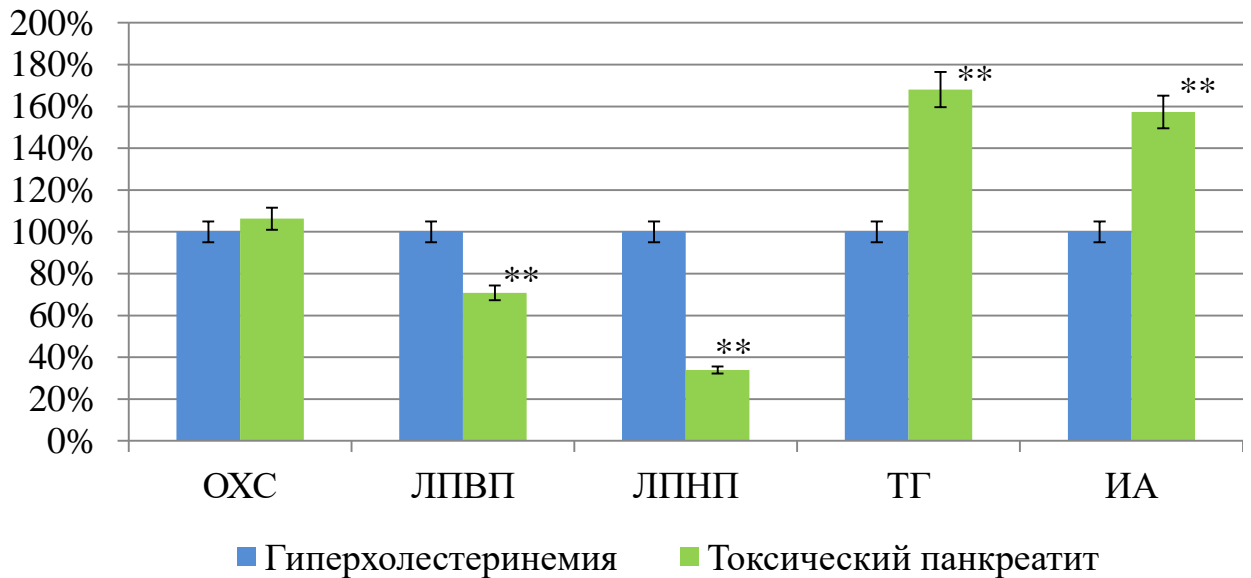
**Рисунок 2** – Динамика биохимических показателей плазмы крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно группы с гиперхолестеринемией

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией (в процентах)

Кроме этого, у животных с токсическим панкреатитом установлено увеличение содержания мочевины на 62,90 % ( $p_1 < 0,05$ ) и креатинина на 40,38 % ( $p_1 < 0,05$ ), а также активности амилазы на 328,03 % ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с показателями в группе с гиперхолестеринемией.

В системе показателей липидного обмена у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом (рисунок 3) уровень общего холестерина не изменился ( $p_1 > 0,05$ ), но отмечено статистически значимое снижение уровня ЛПНП на 59,26 % ( $p_1 < 0,001$ ) и уровня ЛПВП на 29,20 % ( $p_1 < 0,05$ ), при этом вырос уровень ТГ на 68,07 % ( $p_1 < 0,001$ ) и ИА на 57,31 % ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с группой 2.





**Рисунок 3** – Динамика показателей липидограммы животных с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно группы с гиперхолестеринемией

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией (в процентах)

У группы с экспериментальным токсическим панкреатитом на фоне гиперхолестеринемии отмечалось значительное увеличение уровня общего билирубина на 293,33 % ( $p < 0,001$ ), прямого билирубин на 275 % и непрямой на 300 %, соответственно ( $p < 0,001$ ), чем у животных контрольной группы.

Отмечено снижение показателя активности АлАТ на 46,66 % ( $p < 0,001$ ) у группы 3, однако не отмечалось изменения активности АсАТ ( $p > 0,05$ ) от контрольной группы. Концентрация общего белка ( $p > 0,05$ ) статистически достоверно не изменялась и не отличалась от уровня группы контроля, оставаясь по-прежнему выше верхней границы референсного интервала.

Кроме этого, у группы с экспериментальным токсическим панкреатитом на установлено увеличение содержания мочевины на 134,88 % ( $p < 0,001$ ) и креатинина на 56,74 % ( $p < 0,05$ ), при этом активность амилазы в крови выросла на 298,33 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями в группы контроля.

Следует также отметить статистически значимое увеличение содержания глюкозы в крови на 107,24 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с уровнем показателя у контрольных животных. Однако значение этого важнейшего показателя гомеостаза оставалось в пределах референсного интервала.

По сравнению с контрольной группой у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом отмечено повышение уровня общего холестерина на 85 % ( $p < 0,05$ ) на фоне снижения уровня ЛПВП на 45,58 % ( $p < 0,001$ ), а также зафиксирован рост уровня ТГ на 122,22 % ( $p < 0,001$ ) и ИА на 718 % ( $p < 0,001$ ).

Известно, что воздействие этанола способствует активации печеночных транспортеров жирных кислот, усилению поглощения печенью экзогенных жирных кислот, последующее включение их в триглицериды или накоплению липидов в печени и развитию стеатоза (Ronis M.J., Hennings L., Stewart B. [et al.], 2011; Clugston R.D., Yuen J.J., Hu Y. [et al.], 2014). Помимо этих механизмов этанол оказывает стимулирующее влияние на липогенез *de novo*, а также на синтез холестерина, изменяя упаковку триглицеридов в липопротеины (You M., Arteel G.E., 2019). Приведенные выше данные литературы объясняют обнаруженное в нашем исследовании увеличение общего холестерина и триглицеридов в крови, являющееся признаком гиперлипидемии, что свидетельствует о том, что двойное патологическое воздействие (патогенная диета и алкоголизация) у животных 3 группы усугубляет поражение печени.

Обнаруженное в нашем эксперименте более чем 4-кратное увеличение активности амилазы в сыворотке крови крыс из группы 3, длительно получавших этанол в сочетании с обогащенной животными жирами и легкоусваиваемыми углеводами диетой, подтверждает формирование у них токсического панкреатита, а дальнейший рост содержания глюкозы в крови животных позволяет предположить ранний этап эндокринной дисфункции поджелудочной железы.

Необходимо отметить, что у животных 3 группы появляются признаки существенного нарушения функционирования почек: нарастание содержания в крови уже не только мочевины, но и креатинина свидетельствует о снижении скорости клубочковой фильтрации в результате нарушения функционирования

нефрона, что является основой для развития почечной недостаточности. Причем увеличение содержания креатинина характерно для поражения значительного количества нефронов и является поздним признаком ренальной патологии. Это подтверждается данными литературы о токсическом влиянии хронического употребления этанола на функционирование выделительной системы. Почки – еще один орган, в котором метаболизируется этанол по окислительному пути с наработкой свободнорадикальных продуктов, так как в почках обнаружены некоторые ферменты метаболизма этанола. Помимо этого установлено, что около 10 % попавшего в организм этанола выводится почками в исходной форме. Поэтому длительное употребление этанола может создавать повышенную нагрузку на метаболические процессы в почках и вызывать их повреждение (Ozbek E., 2012; Adewale A., Ifudu O., 2014; Bulle S., Reddy V.D., Hebbani A.V. [et al.], 2016; Fan Z., Yun J., Yu S. [et al.], 2019; Bandiera S., Pulcinelli R.R., Huf F. [et al.], 2020).

### **3.3. Метаболические изменения в плазме крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы**

Результаты анализа плазмы крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, отражены в таблице 4.

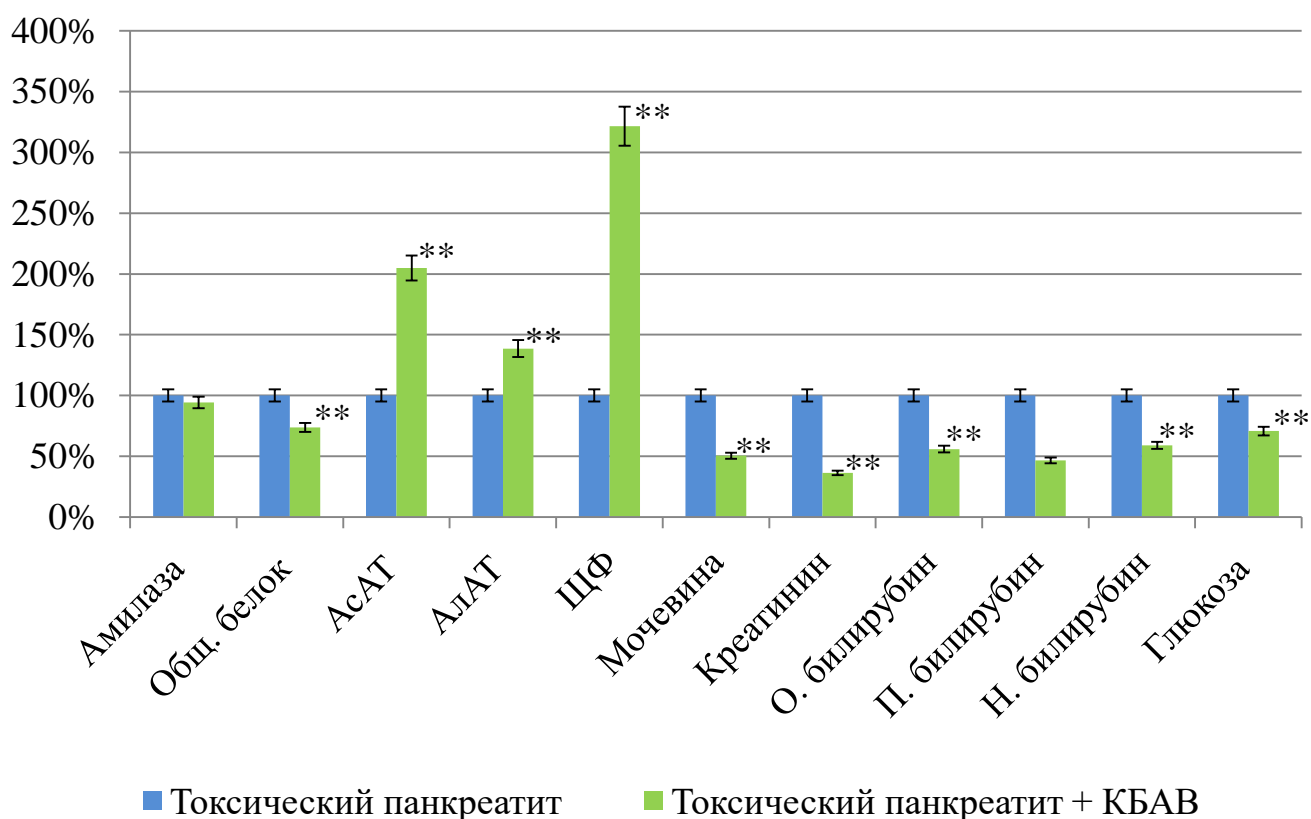
**Таблица 4** – Биохимические показатели в плазме крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом до и после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы ( $M \pm m$ , p)

Группа Показатель	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)	Группа 4 n=35 (токсический панкреатит + КБАВ)
Амилаза, Е/л	628,21±18,67	2502,33±130,77 p<0,001	2359,17±81,5 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
Общий белок, г/л	102,55±3,29	86,1±3,79 p<0,05	63,51±5,02 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
АсАТ, Е/л	134,16±38,92	97,86±4,69 p>0,05	200,5±5,61 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,001
АлАТ, Е/л	123,38±8,59	65,81±3,12 p<0,001	91,25±6,31 p<0,05, p <sub>1</sub> <0,001
ЩФ, Е/л	145,78±45,96	134,51±8,46 p>0,05	432,46±16,71 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
Мочевина, ммоль/л	8,6±0,94	20,2±2,96 p<0,001	10,2±0,48 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,05
Креатинин, мкмоль/л	86,14±10,88	135,02±14,49 p<0,05	49,17±4,64 p<0,05, p <sub>1</sub> <0,001
Общий билирубин, мкмоль/л	1,5±0,19	5,9±0,61 p<0,001	3,3±0,4 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
Прямой билирубин, мкмоль/л	0,4±0,003	1,5±0,1 p<0,001	0,7±0,59 p>0,05, p <sub>1</sub> >0,05
Непрямой билирубин, мкмоль/л	1,1±0,19	4,4±0,49 p<0,001	2,6±0,26 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05

Группа Показатель	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)	Группа 4 n=35 (токсический панкреатит + КБАВ)
Глюкоза, ммоль/л	3,04±0,28	6,3±0,48 p<0,001	4,46±0,34 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05
Общий холестерин, ммоль/л	2,2±0,2	4,07±0,6 p<0,05	1,03±0,18 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05
ЛПВП, ммоль/л	1,47±0,13	0,8±0,07 p<0,001	0,9±0,09 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
ЛПНП, ммоль/л	0,84±0,07	0,88±0,08 p>0,05	0,64±0,05 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,05
Триглицериды, ммоль/л	0,9±0,09	2,0±0,19 p<0,001	0,6±0,05 p<0,05, p <sub>1</sub> <0,001
Индекс атерогенности, ммоль/л	0,5±0,06	4,09±0,39 p<0,001	0,14±0,01 p<0,05, p <sub>1</sub> <0,001

*Примечание:* значимость различий: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p<sub>1</sub> – степень достоверности относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом, при p≤0,05 различия статистически значимы. КБАВ – комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

В группе с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы (группа 4, экспериментальная) у животных изменялись практически все изученные биохимические показатели по сравнению с их уровнем в группе, не получавшей КБАВ (группа 3, сравнения) (рисунок 4).



**Рисунок 4** – Динамика биохимических показателей плазмы крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом (в процентах)

Введение в рацион КБАВ, полученных из семян тыквы, значительно сказывалось на показателях пигментного обмена: установлено статистически значимое снижение содержания общего билирубина на 44,07 % ( $p_1 < 0,001$ ) преимущественно за счет соответствующего уменьшения уровня фракции непрямого билирубина на 40,91 % ( $p_1 < 0,05$ ). При этом следует отметить, что в данной экспериментальной группе значения этих двух показателей попадали в границы референсного интервала. Содержание общего белка у экспериментальных животных уменьшилось на 26,24 % ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с группой сравнения, а так же выявлено статистически значимое увеличение

активности ферментов АлАТ на 38,66 %, АсАТ на 104,88 % и ЩФ на 221,51 %, соответственно ( $p_1 < 0,001$ ).

Кроме того, у животных после введения КБАВ, полученных из семян тыквы, наблюдали статистически значимое снижение содержания глюкозы на 29,21 % ( $p_1 < 0,05$ ) по сравнению с группой, не получавшей терапию. Активность амилазы ( $p_1 > 0,05$ ) в крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения КБАВ, полученных из семян тыквы, статистически значимо не отличалась от показателя в группы сравнения. При этом введение лекарственного препарата приводило к статистически значимому снижению в плазме крови содержания мочевины на 49,5 % ( $p_1 < 0,05$ ) и креатинина на 63,58 % ( $p_1 < 0,001$ ).

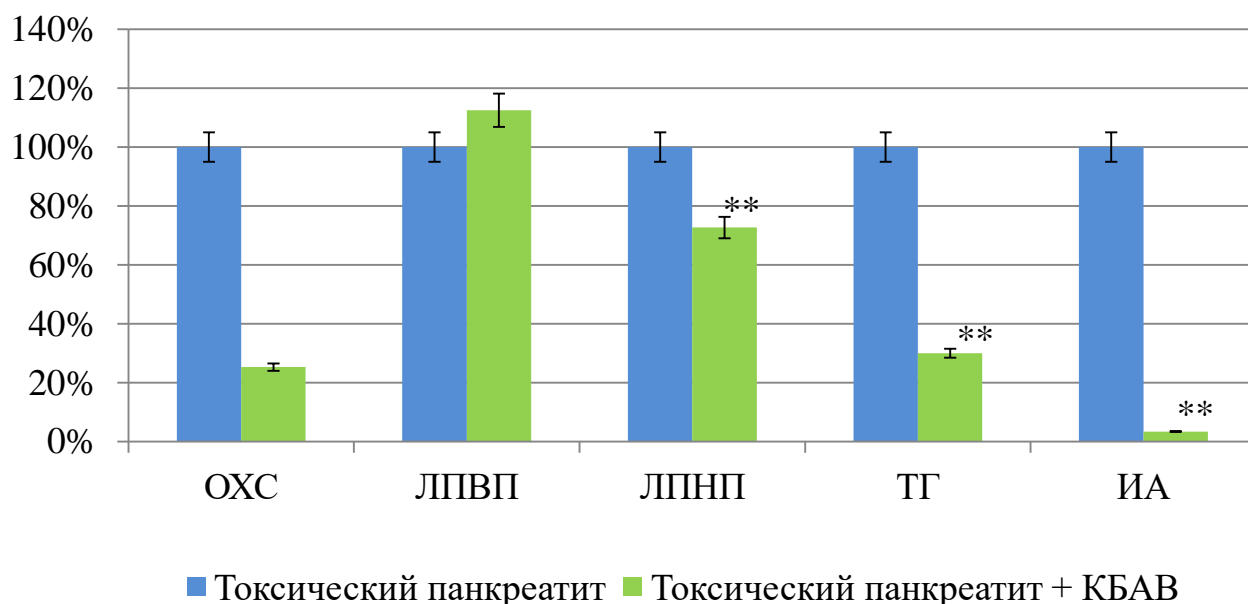
При анализе показателей экспериментальной группы относительно данных животных контроля, выявлен повышенный уровень общего билирубина на 120 % ( $p < 0,001$ ) и непрямого на 136,36 % ( $p < 0,001$ ). Снижалось содержание уровня общего белка на 38,07 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой контроля. Отмечали, что уровень АлАТ был снижен на 26,04 % ( $p < 0,05$ ), а показатель АсАТ ( $p > 0,05$ ) не отличался от данных контрольной группы. Активность ЩФ на 196,65 % ( $p < 0,001$ ) превышала показатель контроля.

Установлено увеличение активности амилазы в плазме крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, на 275,54 % ( $p < 0,001$ ), и уровня глюкозы на 46,71 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой.

В группе 4 уровень мочевины достигал значений контроля ( $p > 0,05$ ), а уровень креатинина был ниже на 42,92 % ( $p < 0,05$ ).

В системе показателей липидного обмена (рисунок 5) у животных, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, обнаружено статистически значимое снижение общего холестерина на 74,69 % ( $p_1 < 0,001$ ), ЛПНП на 27,27 % ( $p_1 < 0,05$ ), ТГ на 70 % ( $p_1 < 0,001$ ) и ИА на

96,58 % ( $p_1 < 0,001$ ), соответственно, по сравнению с показателями у животных, без введения КБАВ (группа 3).



**Рисунок 5** – Динамика показателей липидограммы животных с

экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом

Примечание: \*\* – достоверно относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом (в процентах)

При этом анализируя результаты липидограммы, животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен КБАВ, полученных из семян тыквы, нами отмечено снижение активности всех показателей: ОХС на 53,18 % ( $p < 0,001$ ), ЛПВП – 38,78 % ( $p < 0,001$ ), ЛПНП – 23,81 % ( $p > 0,05$ ), ТГ – 33,33 % ( $p < 0,05$ ) и ИА на 72 % ( $p < 0,001$ ) относительно данных контрольной группы.

Применение комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, в течение двух месяцев в патогенный рацион экспериментальных животных оказывает положительный эффект на функционирование органов гепатобилиарной системы, поджелудочной железы и почек. Это выразалось,



прежде всего, в нормализации содержания в крови мочевины и креатинина, что свидетельствует о восстановлении почечной фильтрации и функционирования нефрона, нарушенных патогенной высокожировой диетой и длительным воздействием алкоголя. Об этом же может свидетельствовать и нормализация уровня водорастворимой фракции прямого билирубина и триглицеридов. Также наблюдалась нормализация содержания в крови глюкозы, что, по-нашему мнению, можно расценивать как признак восстановления эндокринной функции поджелудочной железы. Обращает на себя внимание и изменение некоторых показателей функционирования печени – уровня общего холестерина и ЛПНП, а также триглицеридов и фракции прямого билирубина. Нормализация их содержания позволяет предположить ослабление токсического повреждения печени и поджелудочной железы, уменьшение цитолиза и улучшение функционирования этих органов. Однако пониженное содержание ЛПВП не позволяет говорить о полном восстановлении метаболизма холестерина и синтетической функции гепатоцитов. К позитивному эффекту применения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, можно отнести снижение уровней общего билирубина и фракции непрямого билирубина, однако полной нормализации данных показателей не происходило – они оставались все еще выше значений в контрольной группе. Это может свидетельствовать обо все еще повышенном уровне гемолиза и распада гемоглобина, а также сохранении некоторой степени дисфункции гепатоцитов. Несмотря на множество позитивных изменений биохимической картины крови под влиянием КБАВ, полученных из семян тыквы, необходимо отметить и ряд негативных моментов, связанных с высокой активностью в крови ферментов амилазы и щелочной фосфатазы, которая значительно превышала соответствующий уровень в контрольной группе. Это может свидетельствовать о сохранении повреждения ацинарных клеток поджелудочной железы, а также о сохранении токсического воздействия на печень высокожировой диеты и этанола.

Таким образом, анализ полученных в нашем исследовании результатов выявил значительные изменения показателей, характеризующих все стороны обмена

веществ в организме – белкового, углеводного, липидного, пигментного на фоне состояния гиперхолестеринемии и алкоголизации, что свидетельствует о нарушении функционирования, прежде всего, органов гепатобилиарной системы, поджелудочной железы, почек.

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВИ И ТКАНЯХ ОРГАНОВ У  
ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ  
ПАНКРЕАТИТОМ И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕЦИИ  
КОМПЛЕКСОМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ,  
ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СЕМЯН ТЫКВЫ**

#### **4.1. Поджелудочная железа**

Несмотря на свой малый вес, поджелудочная железа в желудочно-кишечном тракте является значимым органом, выполняющим две важные функции: эндокринную, образуя инсулин, и экзокринную, вырабатывая ряд ферментов необходимых для работы пищеварения (Петренко В.М., 2012). Ведение нездорового образа жизни: употребление большого количества жирной пищи и алкогольных напитков, приводит к нарушению работы поджелудочной железы и ее воспалению, вследствие этого развивается панкреатит.

Анализ литературных источников показал, что на сегодняшний день патогенез токсического панкреатита алкогольной этиологии до конца не изучен, и активно ведутся исследования поджелудочной железы (Маев И.В., Кучерявый Ю.А., 2005; Ахмедов В.А., Гаус О.В., 2021).

Существует мнение о том, что недостаточно оценено влияние дефицита питательных веществ и трофологической недостаточности на механизм патогенеза токсического панкреатита (Кучерявый Ю.А., 2008, 2011).

Кроме этого известно, что частое употребление алкоголя приводит к повреждению ацинарных и протокоовых клеток поджелудочной железы. В Калифорнийском университете группой исследователей (Gukovsky I., Pandol S.J., Gukovskaya A.S., 2011) на экспериментальных моделях *in vivo* и *ex vivo* были выявлены нарушения ключевых клеточных органелл, а именно митохондрий, аутофагосом и лизосом, при панкреатите. Результаты их исследования указывают на то, что аутофагия (основной путь клеточной деградации, управляемый

лизосомами) нарушается при панкреатите из-за неэффективной лизосомной функции.

Необходимо отметить то, что метаболиты этанола нарушают процесс выработки секрета панкреатоцитов. Во-первых, отмечается повышение инозитолтрифосфатных рецепторов и перемещение  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо в цитозоль, дестабилизация лизосом и зимогенных гранул, нарушение аутофагии, активация транскрипционных ядерных факторов, ответственных за регуляцию ряда провоспалительных механизмов, которые могут привести к преждевременной активации трипсина (Brock O., Nielsen L.M. [et all.], 2013; Можейко Л.А., 2020). Во-вторых, наблюдается деполяризация митохондрий, нарушение продукции АТФ и дезэнергизация ацинарных клеток, что в заключительной стадии приводит к их некрозу (Gukovsky I., Pandol S.J., Gukovskaya A.S., 2011; Можейко Л.А., 2020).

На сегодняшний день, выявлены звездчатые клетки вокруг ацинарных клеток. Известно, что при влиянии алкоголя они активируются, усиливая его токсическое воздействие на ацинарные клетки, что способствует формированию некроза и воспаления в поджелудочной железе. Также рядом авторов отмечается то, что при хроническом панкреатите синтез звездчатыми клетками фибриллярного коллагена в повышенном количестве может привести к замещению паренхимы органа фиброзной тканью (Можейко Л.А., 2019, 2020).

В литературных источниках все исследования, связанные с анализом метаболических процессов, происходящих при токсическом панкреатите алкогольной этиологии в поджелудочной железе, проводятся с помощью интерпретации показателей плазмы крови, а изменения структуры на клеточном уровне – морфологическими методами. В связи с этим, до сих пор до конца неизвестны биохимические процессы, протекающие в клетках поджелудочной железы при данном патологическом заболевании.

Для выявления метаболических изменений, происходящих в поджелудочной железе у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, развитым на фоне гиперхолестеринемии и алкогольной интоксикации, до и после введения

комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, анализу были подвержены четыре группы.

#### 4.1.1. Метаболические изменения в ткани поджелудочной железы у животных с гиперхолестеринемией

У животных с гиперхолестеринемией в гомогенате поджелудочной железы зарегистрированы следующие изменения показателей углеводного обмена и компонентов антиоксидантной защиты, отражены в таблице 5.

**Таблица 5** – Биохимические изменения в гомогенате ткани поджелудочной железы у животных с гиперхолестеринемией ( $M \pm m$ ,  $p$ )

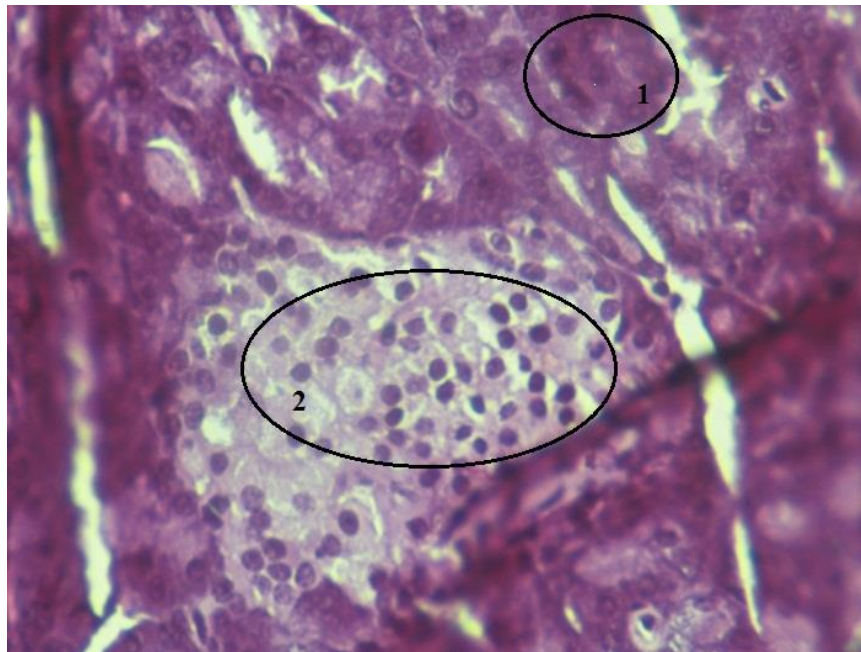
Показатели \ Группы	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,39±0,04	0,4±0,03 p>0,05
Лактат, мкмоль/мг белка	3,15±0,29	6,15±0,57 p<0,001
GSH, мкмоль/мг белка	49,94±5,1	17,62±1,8 p<0,001
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	16,2±1,5	20,02±1,9 p>0,05
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	1,28±0,13	0,52±0,05 p<0,001

*Примечание:*  $p$  – степень достоверности относительно показателей контрольной группы, при  $p \leq 0,05$  изменения достоверны.

У животных с гиперхолестеринемией наблюдали существенное увеличение уровня лактата на 95,24 % ( $p < 0,001$ ), тогда как уровень ПВК ( $p > 0,05$ ) достоверно не изменился относительно группы контроля.

При анализе активности ферментов глутатионового звена антиоксидантной защиты в гомогенате поджелудочной железы выявлены разнонаправленные изменения у группы с гиперхолестеринемией. Активность глутатионпероксидазы достоверно увеличилась на 23,58 % ( $p > 0,05$ ) на фоне снижения активности глутатионредуктазы – на 59,38 % ( $p < 0,001$ ) и концентрации восстановленного глутатиона – на 64,72 % ( $p < 0,001$ ) относительно группы контроля.

При проведении гистологического исследования ткани поджелудочной железы животного, находящегося на «гиперхолестериневой диете», выявлен незначительный отек и фиброз стромы (1), атрофия паренхимы (2) (рисунок 6).



**Рисунок 6** – Ткань поджелудочной железы крысы с гиперхолестеринемией.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ , иммерсия

Таким образом, содержание животных на гиперлипидемическом рационе, способствует нарушению в клеточных структурах поджелудочной железы, как углеводного обмена, так и антиоксидантной защиты. Значимое увеличение уровня лактата свидетельствует о накоплении недоокисленных продуктов, способствующих развитию метаболического лактат-ацидоза, а разбалансировка показателей антиоксидантной системы обмена глутатиона может указывать на

формирование адаптивных реакций, направленных на уменьшение образования радикальных соединений, лежащих в основе окислительного стресса.

#### 4.1.2. Метаболические изменения в ткани поджелудочной железы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом

Результаты исследования гомогената поджелудочной железы после моделирования экспериментального токсического панкреатита путем развития гиперхолестеринемии и алкоголизации, отражены в таблице 6.

**Таблица 6** – Биохимические изменения в гомогенате ткани поджелудочной железы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом ( $M \pm m$ ,  $p$ )

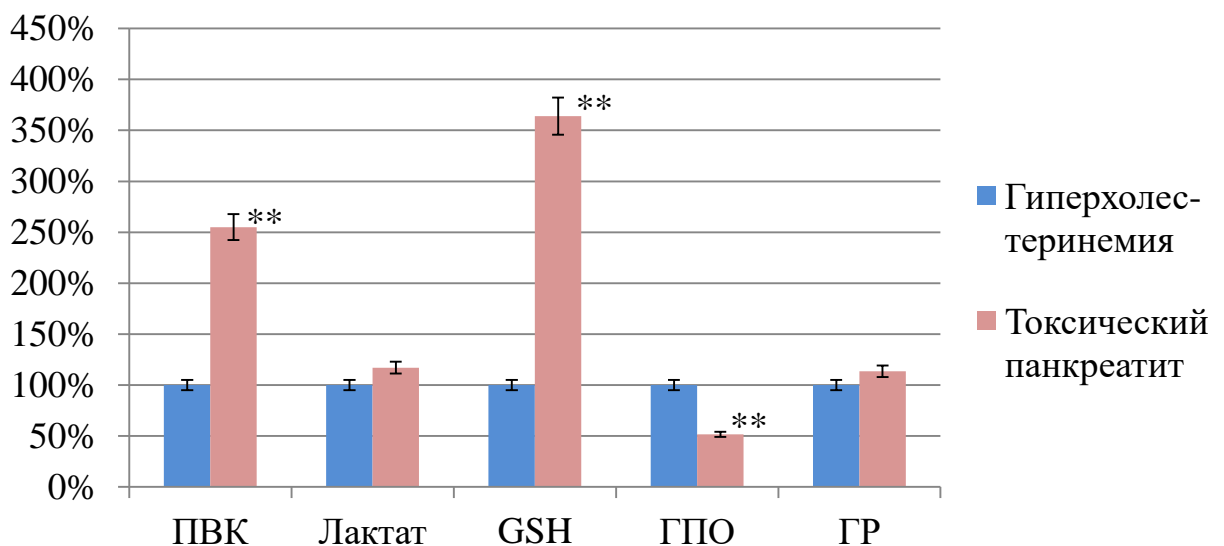
Показатели \ Группы	Группа 1 n= 30 (контрольная группа)	Группа 2 n= 35 (гиперхолестеринемия)	Группа 3 n= 35 (токсический панкреатит)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,39±0,04	0,4±0,03 $p > 0,05$	1,02±0,09 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
Лактат, мкмоль/мг белка	3,15±0,29	6,15±0,57 $p < 0,001$	7,2±0,69 $p < 0,001$ , $p_1 > 0,05$
GSH, мкмоль/мг белка	49,94±5,1	17,62±1,8 $p < 0,001$	64,15±6,6 $p > 0,05$ , $p_1 < 0,001$
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	16,2±1,5	20,02±1,9 $p > 0,05$	10,34±1,1 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	1,28±0,13	0,52±0,05 $p < 0,001$	0,59±0,06 $p < 0,001$ , $p_1 > 0,05$

*Примечание:*  $p$  – степень достоверности относительно контрольной группы;  $p_1$  – степень достоверности относительно группы с гиперхолестеринемией, при  $p \leq 0,05$  различия статистически значимы.

Анализируя показатели углеводного обмена в гомогенате поджелудочной железы, у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом (группа 3) относительно группы контроля зафиксировано изменение метаболической ситуации: значительное увеличение уровня лактата на 128,57 % ( $p < 0,001$ ) и ПВК на 161,54 % ( $p < 0,001$ ).

Показатели антиоксидантной защиты в группе 3 характеризовались снижением активности ГПО на 36,17 % ( $p < 0,001$ ) и активности ГР на 53,91 % ( $p < 0,001$ ), на фоне незначительного увеличения концентрации GSH на 28,45 % ( $p > 0,05$ ) относительно показателей контрольной группы.

У животных с экспериментальным токсическим панкреатитом при анализе углеводного обмена относительно группы с гиперхолестеринемией установлено существенное увеличение уровня ПВК на 155,00 % ( $p_1 < 0,001$ ) и недостоверное – уровня лактата на 17,07 % ( $p_1 > 0,05$ ) (рисунок 7). Полученные результаты свидетельствуют о накоплении недоокисленных продуктов гликолиза и снижении использования пирувата в заключительных реакциях гликолиза.



**Рисунок 7** – Динамика биохимических показателей в гомогенате ткани поджелудочной железы животных с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно группы с гиперхолестеринемией

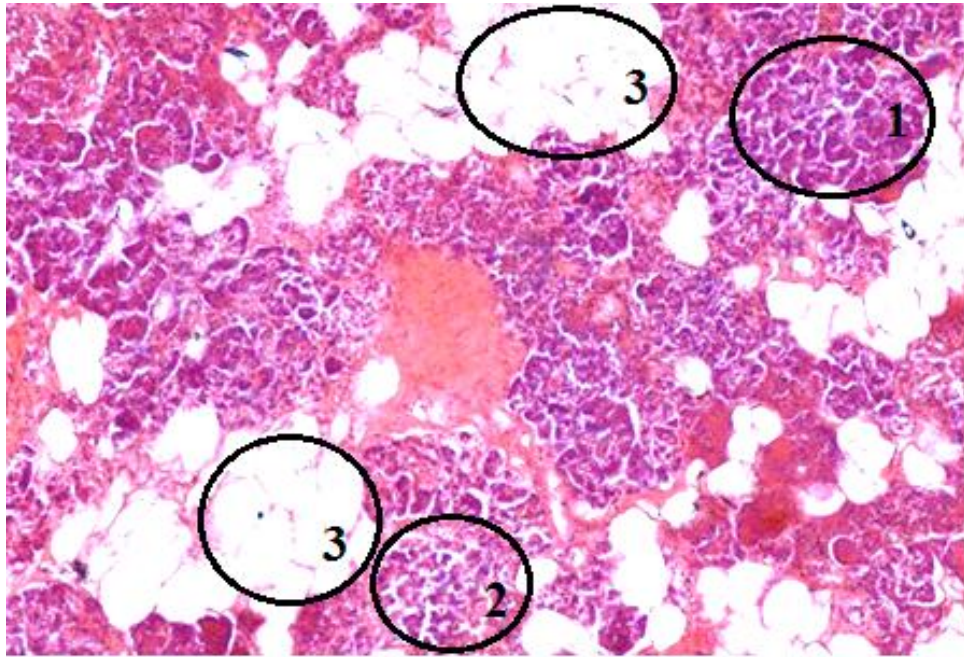
*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией (в процентах)



При анализе ферментов глутатионового звена у группы с экспериментальным токсическим панкреатитом в гомогенате поджелудочной железы отмечали значительное увеличение концентрации GSH на 264,07 % ( $p_1 < 0,001$ ) и ГР на 13,46 % ( $p_1 > 0,05$ ), а активность ГПО снизилась на 48,35 % ( $p_1 < 0,001$ ) относительно животных с гиперхолестеринемией. По мнению Мериновой Н.И. и соавторов, такое увеличение концентрации восстановленного глутатиона отражает интенсивность воспалительного процесса, протекающего в клетках поджелудочной железы, а так же развитие апоптоза панкреатитов и нарушение проницаемости сосудов (Меринова Н.И., Козлова Н.М., Колесниченко Л.С. [и др.], 2013).

Полученные результаты у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом указывают на нарушение баланса ключевых показателей углеводного обмена и антиоксидантной защиты, что согласуется с данными ряда авторов о формировании воспаления в поджелудочной железе и нарушении антиоксидантной защиты независимо от этиологической особенности патологического процесса.

При гистологическом исследовании ткани поджелудочной железы у крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом были отмечены следующие изменения: атрофия железистой паренхимы (1) и островков Лангерганса (2), выраженный перидуктальный меж- и внутридольковый липоматоз (3) (рисунок 8). Необходимо отметить, что полученные нами результаты исследования согласуются с данными литературных источников, посвященных изучению экспериментальных моделей алкогольиндуцированного панкреатита различной этиологии (Maki T., Kakizaki G., Sato T. [et al.], 1967; Tsukamoto H., Towner S.J., Yu G.S. [et al.], 1988; Kono H., Nakagami M., Rusyn I. [et al.], 2001; Grauvogel J., Daemrich T.D., Ryschich E. [et al.], 2010; Foster J.R., 2014; Criddle D.N., 2015; Apte M.V., Pirola R.C., Wilson J.S., 2016; Clinkinbeard T., Kline R.H., Zhang L.P. [et al.], 2017).



**Рисунок 8** – Ткань поджелудочной железы крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом. Окраска гематоксилином и эозином, x200, иммерсия

**4.1.3. Метаболические изменения в ткани поджелудочной железы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы**

Результаты исследования биохимических изменений гомогената ткани поджелудочной железы до и после применения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом отражены в таблице 7.

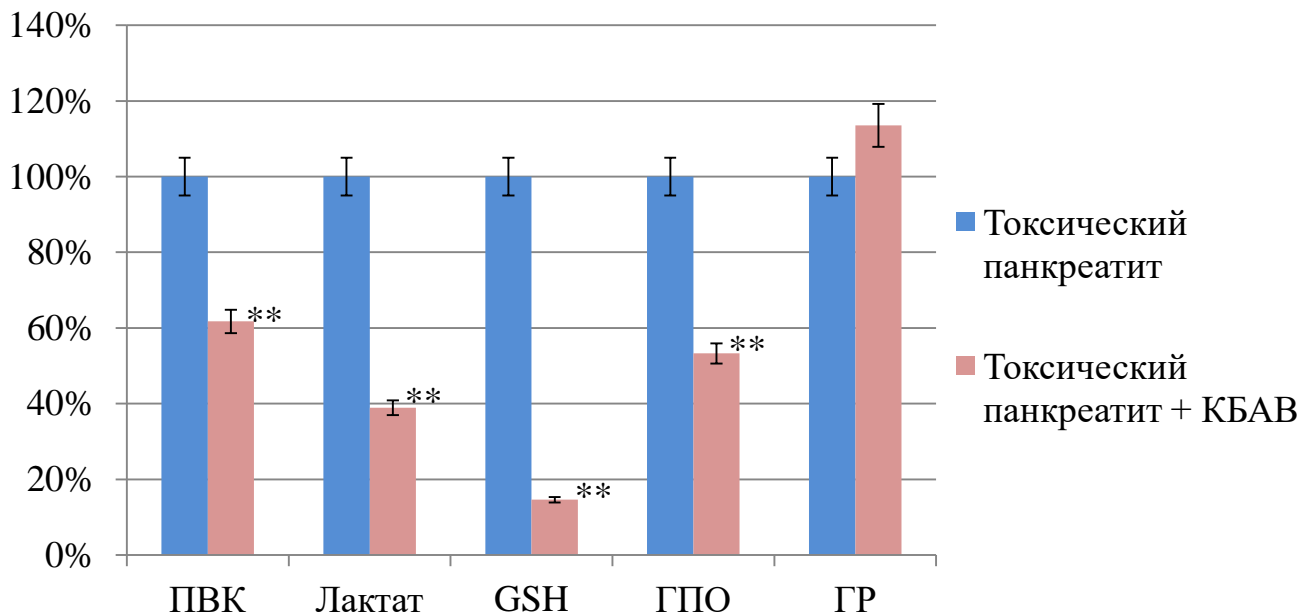
**Таблица 7** – Биохимические изменения в гомогенате ткани поджелудочной железы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом до и после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы ( $M \pm m$ ,  $p$ )

Показатели \ Группы	Группа 1 n= 30 (контрольная группа)	Группа 3 n= 35 (токсический панкреатит)	Группа 4 n= 35 (токсический панкреатит + КБАВ)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,39±0,04	1,02±0,09 $p < 0,001$	0,63 ±0,05 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
Лактат, мкмоль/мг белка	3,15±0,29	7,2±0,69 $p < 0,001$	2,8±0,3 $p > 0,05$ , $p_1 < 0,001$
GSH, мкмоль/мг белка	49,94±5,1	64,15±6,6 $p > 0,05$	9,37±0,88 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	16,2±1,5	10,34±1,1 $p < 0,001$	5,51±0,57 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	1,28±0,13	0,59±0,06 $p < 0,001$	0,67±0,07 $p < 0,001$ , $p_1 > 0,05$

*Примечание:*  $p$  – степень достоверности относительно контрольной группы;  $p_1$  – степень достоверности относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом, при  $p \leq 0,05$  различия статистически значимы. КБАВ – комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

После коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, у животных в гомогенате поджелудочной железы (рисунок 9) зафиксировано снижение показателей углеводного обмена: уровня лактата на 61,11 % ( $p_1 < 0,001$ ) и уровня ПВК на 38,24 % ( $p_1 < 0,001$ ) относительно группы сравнения.

При анализе активности глутатионзависимых ферментов у экспериментальной группы отмечено существенное снижение концентрации GSH на 85,39 % ( $p_1 < 0,001$ ) и активности ГПО на 46,71 % ( $p_1 < 0,001$ ) на фоне недостоверного изменения активности ГР ( $p_1 > 0,05$ ) относительно группы, не получавшей КБАВ, полученных из семян тыквы. Полученные результаты можно расценивать как уменьшение воспалительного процесса в ткани поджелудочной железы.



**Рисунок 9** – Динамика биохимических показателей в гомогенате ткани поджелудочной железы животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом (в процентах)

Однако при сравнении показателей экспериментальной группы с данными контроля мы наблюдали повышенный уровень ПВК на 61,54 % ( $p < 0,001$ ), что касается изменений содержания лактата, то его уровень достоверно не изменился, хотя можно отметить тенденцию к снижению – на 11,11 % ( $p > 0,05$ ), что

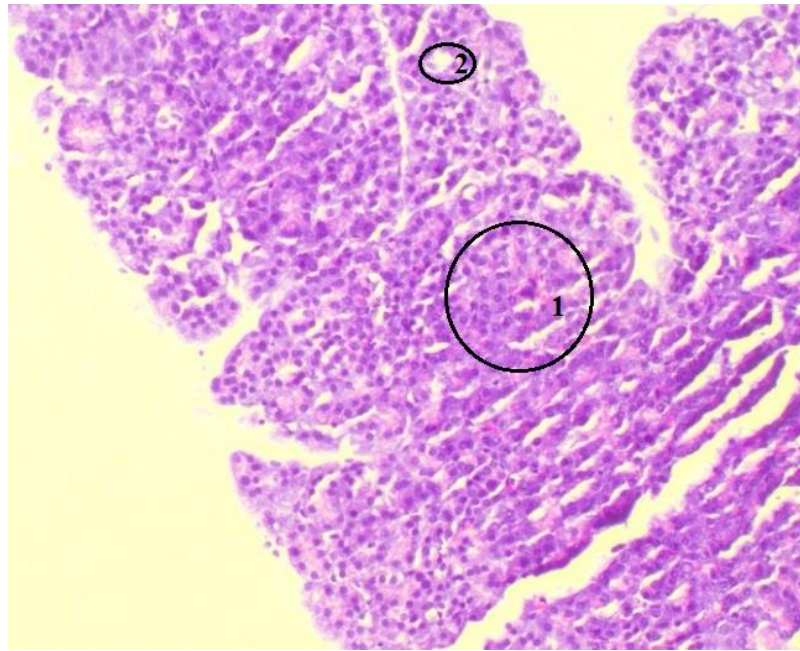
статистически подтверждает сохранение воспалительного процесса на фоне недоокисленных продуктов гидролиза, в проведенном исследовании.

При анализе антиоксидантной защиты у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был введен КБАВ, полученных из семян тыквы, отмечено снижение ключевых показателей антиоксидантной защиты: концентрации GSH на 81,24 % ( $p < 0,001$ ), активности ГПО на 65,99 % ( $p < 0,001$ ) и ГР на 47,66 % ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы. Полученные результаты отражают угнетение работы антиоксидантной защиты.

Известно, что поджелудочная железа является наиболее уязвимым звеном, при патологических состояниях, сопровождающихся метаболическим ацидозом. Полученные нами данные согласуются с результатами Альфонсовой Е.В. и ее соавторов о том, что формирование ацидоза способно вызывать структурно-функциональные сдвиги не только в поджелудочной железе, но и в других органах (Альфонсова Е.В., Бочкарникова Н.В., Стасюк О.Н., 2005).

Следует признать, что после введения КБАВ, полученных из семян тыквы, снижается уровень лактата, то есть понижается тяжесть лактоацидоза, но при этом также уменьшается активность ферментов обмена и содержание глутатиона.

При гистологическом анализе у животного с экспериментальным токсическим панкреатитом, получавшего комплекс биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы, были отмечены такие же изменения в ткани поджелудочной железы (рисунок 10), как и у животного из предыдущей группы (без введения лекарственного препарата): выраженная атрофия железистой паренхимы и островков Лангерганса (1), выраженный перидуктальный, меж- и внутридольковый липоматоз (2). Таким образом, можно отметить, что после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, сохраняются выявленные ранее морфологические сдвиги.



**Рисунок 10** – Ткань поджелудочной железы крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которой был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

Окраска гематоксилином и эозином, x100, иммерсия

## 4.2. Печень

Одну из ключевых ролей в процессах белкового, липидного и углеводного процессов занимает печень. В ней происходит детоксикация путем окисления, конъюгирования и декарбоксилирования многих веществ, попадающих в организм не только извне, но и из кишечника. Влияние алиментарных факторов, таких как алкоголь, может привести к снижению детоксикационной функции печени, а также нарушению биосинтеза фосфолипидов клеточных мембран и их функционального состояния (Северина Е.С., 2015).

Алкоголь является представителем группы гепатотоксикантов. Известно, что при воздействии на печень гепатотоксины, нарушая обменные и ферментативные процессы в ткани, повреждают ее паренхиму, вызывая различные патологические состояния: начиная от жировой и белковой дистрофии до токсического гепатита, цирроза и карциномы.

Как показывают ранее полученные результаты в нашей лаборатории (Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2011) и данные литературы, в условиях эксперимента длительное воздействие этанола приводит не только к поражению поджелудочной железы, но также усугубляет вызванное патогенной диетой поражение печени, что неудивительно, так как большая часть поступившего в организм этанола метаболизируется в печени (Lieber C.S., Spritz N., DeCarli L.M., 1966; Brandon-Warner E., Schrum L.W., Schmidt C.M. [et al.], 2012; Hyun J., Han J., Lee C. [et al.], 2021).

Результаты эпидемиологических исследований также подтверждают наличие взаимосвязи между связанными с алкоголем заболеваниями поджелудочной железы и печени: среди больных алкогольным хроническим панкреатитом общая распространенность связанных с алкоголем заболеваний печени составляет 33-39 % (Singhvi A., Abromitis R., Althouse A.D. [et al.], 2020; Arteel G.E., Singhvi A., Feldman R. [et al.], 2021).

#### **4.2.1. Метаболические изменения в ткани печени у животных с гиперхолестеринемией**

Результаты проведенного исследования в гомогената ткани печени у группы с гиперхолестеринемией приведены в таблице 8.

**Таблица 8** – Биохимические изменения в гомогенате ткани печени у животных с гиперхолестеринемией (M±m, p)

Группы	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
Показатели		
ПВК, мкмоль/мг белка	0,39±0,04	0,25±0,02 p<0,05
Лактат, мкмоль/мг белка	1,1±0,1	6,73±0,6 p<0,001

Группы	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
Показатели		
GSH, мкмоль/мг белка	496,6±49,83	642,2±63,8 p>0,05
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	46,85±4,7	45,49±4,6 p>0,05
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	0,158±0,01	0,297±0,03 p<0,001

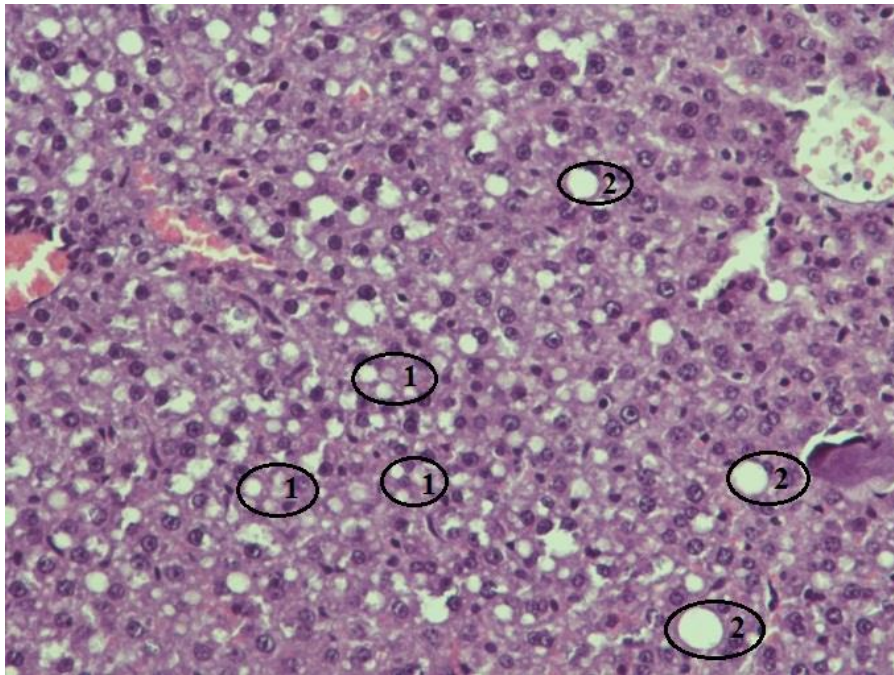
*Примечание:* p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы, при  $p \leq 0,05$  изменения достоверны.

Анализируя показатели энергетического обмена в печени у группы, содержащейся на «гиперхолестериновой диете», относительно данных контроля выявлено уменьшение уровня ПВК на 35,9 % ( $p < 0,05$ ) и значительное увеличение уровня лактата на 511,82 % ( $p < 0,001$ ). Полученные результаты свидетельствуют о превалировании анаэробного пути гликолиза, повидимому, за счет нарушения глюконеогенеза из-за лактата, возможно, происходит накопление в печени гликогена и недоокисленных продуктов, что приводит к сдвигам углеводного обмена и развитию гипоксии в гепатоцитах.

У животных с гиперхолестеринемией при анализе показателей ферментов глутатионового звена установлено значительное увеличение активности ГР на 87,97 ( $p < 0,001$ ), тогда как уровень GSH и активность ГПО достоверно не изменились, соответственно ( $p > 0,05$ ), по сравнению с группой контроля. Такой рост активности глутатионредуктазы может быть связан с активацией компенсаторной работой системы, направленной на восстановление уровня восстановленного глутатиона.

Гистологическое исследование ткани печени у крысы с гиперхолестеринемией (рисунок 11) позволило выявить наличие диффузной мелкокапельной (1) и крупнокапельной (2) жировой дистрофии гепатоцитов.





**Рисунок 11** – Ткань печени крысы с гиперхолестеринемией.

Окраска гематоксилином и эозином, x200, иммерсия

Проанализировав полученные результаты групп, можно утверждать о нарушении метаболических процессов, происходящих в клетках печени животных, содержащихся на гиперхолестериновой диете. Главным органом, отвечающим за клиренс лактата в организме, является печень. Значительное увеличение уровня лактата приводит к снижению уровня активных форм кислорода в связи с окислительным стрессом, что в свою очередь влечет к гипоксии и апоптозу гепатоцитов. Дисбаланс показателей ферментов антиоксидантной защиты может указывать о нарушении клеточного редокс-статуса и свидетельствовать о развитии патологического процесса, протекающего в печени (Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р. [и др.], 2014), что подтверждает и данные морфологического исследования.

#### **4.2.2. Метаболические изменения в ткани печени у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом**

При моделировании экспериментального токсического панкреатита, путем содержания животных на гиперхолестериновой диете и алкоголизации 20%-ным

этиловым спиртом, нами были зарегистрированы результаты, отраженные в таблице 9.

**Таблица 9** – Биохимические изменения в гомогенате ткани печени у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом ( $M \pm m$ ,  $p$ )

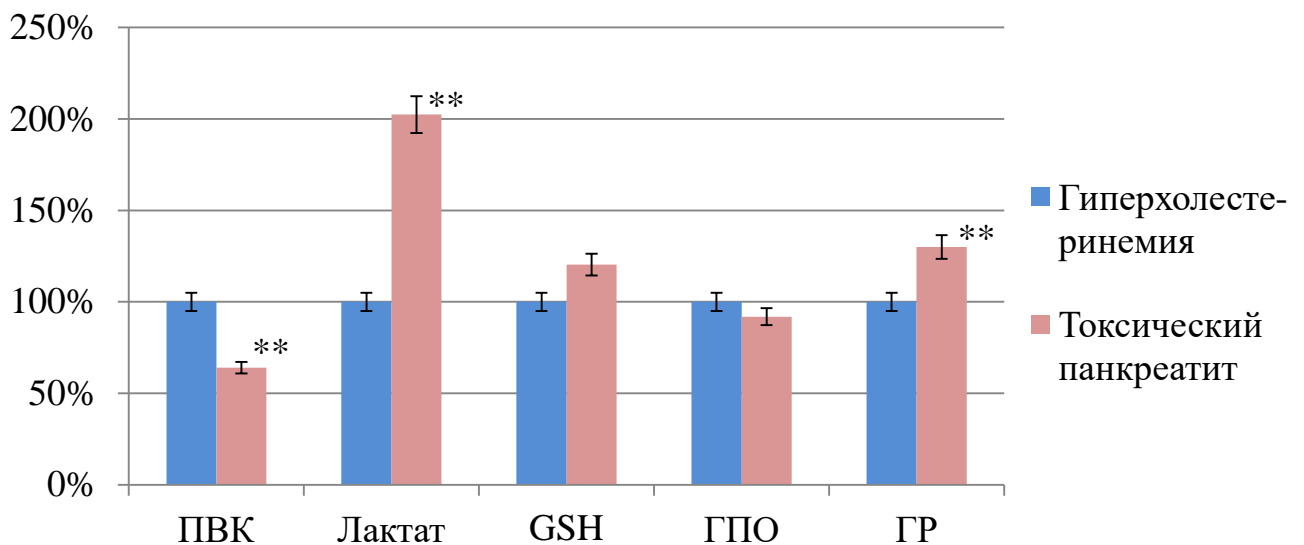
Показатели \ Группы	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)	Группа 3 n= 35 (токсический панкреатит)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,39±0,04	0,25±0,02 $p < 0,05$	0,16±0,01 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
Лактат, мкмоль/мг белка	1,1±0,1	6,73±0,6 $p < 0,001$	13,62±1,4 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
GSH, мкмоль/мг белка	496,6±49,83	642,2±63,8 $p > 0,05$	772,9±76,9 $p < 0,05$ , $p_1 > 0,05$
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	46,85±4,7	45,49±4,6 $p > 0,05$	41,81±4,2 $p > 0,05$ , $p_1 > 0,05$
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	0,158±0,01	0,297±0,03 $p < 0,001$	0,386±0,03 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,05$

*Примечание:*  $p$  – степень достоверности относительно группы контроля;  $p_1$  – степень достоверности относительно группы с гиперхолестеринемией, при  $p \leq 0,05$  изменения достоверны.

Анализ биохимических показателей углеводно-энергетического обмена группы с экспериментальным токсическим панкреатитом (группа 3) показал снижение уровня ПВК на 58,97 % ( $p < 0,001$ ) и значительное увеличение уровня лактата более чем в 12 раз ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы. Полученные данные свидетельствуют о резкой активации анаэробного гликолиза и накоплении недоокисленных продуктов, что приводит к развитию окислительных процессов в ткани печени.

При анализе антиоксидантной защиты у животных из группы 3 отмечено существенное повышение активности ГР на 144,30 % ( $p < 0,001$ ) и уровня GSH на 55,64 % ( $p < 0,05$ ), тогда как активность ГПО достоверно не изменилась ( $p > 0,05$ ) относительно группы контроля. Такие изменения активности ферментов глутатионового звена могут отражать нарушение баланса GSSG/GSH, и накопление глутатиона, что свидетельствует о недостаточном его использовании в защитных реакциях.

Сравнивая результаты показателей углеводно-энергетического обмена (рисунок 12) группы с экспериментальным токсическим панкреатитом с данными «гиперхолестеринемичных» животных обнаружено значительное увеличение уровня лактата на 102,3 % ( $p_1 < 0,001$ ) на фоне снижения уровня ПВК на 36 % ( $p_1 < 0,001$ ).



**Рисунок 12** – Динамика биохимических показателей в гомогенате ткани печени животных с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно группы с гиперхолестеринемией

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией (в процентах)

Рассматривая показатели глутатионового звена, у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом установлено увеличение

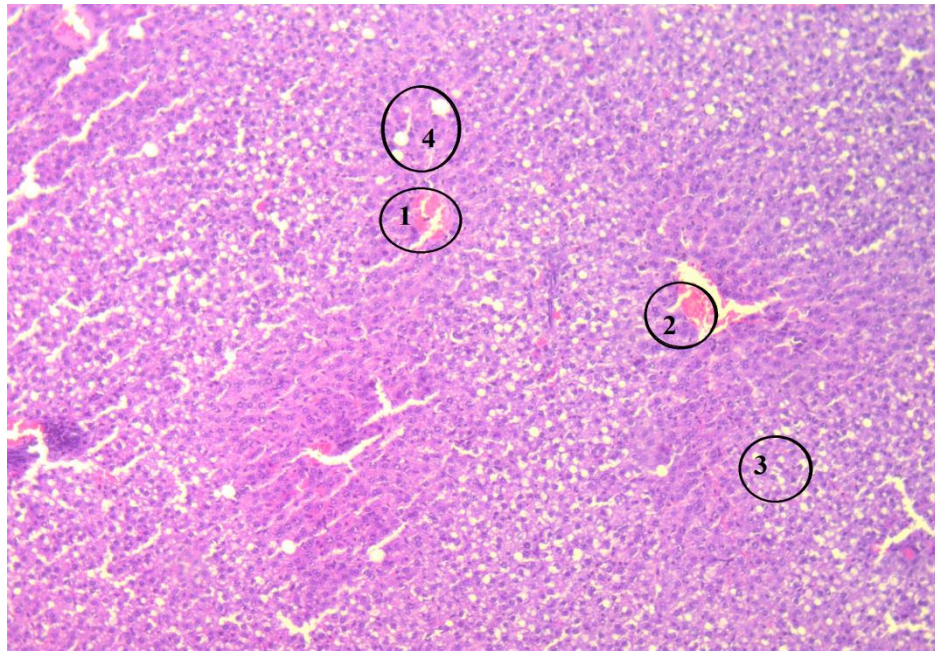
активности ГР на 29,97 % ( $p_1 < 0,05$ ), тогда как уровень GSH и активность ГПО достоверно не изменились, соответственно ( $p_1 > 0,05$ ), относительно группы, находящейся на «гиперхолестериновой диете».

Полученные данные проведенного анализа показали, что моделирование у животных экспериментального токсического панкреатита приводит к нарушению в ткани печени, как энергетического обмена в гепатоцитах, так и сбоем работы антиоксидантной защиты.

Как известно, чрезмерное и регулярное употребление алкоголя замедляет глюконеогенез в клетках печени (Рубцова А.С., Машонина Л.О., 2021). В проведенном нами исследовании введение этилового спирта продолжило тенденцию, наблюдающуюся у «гиперхолестеринемичных» животных, увеличения уровня молочной кислоты и снижения продукции пировиноградной кислоты. Такая тенденция может быть связана с нарушением процесса окислительного распада глюкозы, что приводит к снижению продукции пировиноградной кислоты и развитию лактоацидоза в гепатоцитах.

Как у животных с гиперхолестеринемией, так и при моделировании экспериментального токсического панкреатита наблюдается дисбаланс показателей антиоксидантной защиты, возможно, это связано с механизмом окисления SH-групп глутатиона, направленного на сохранение внутриклеточной антиокислительной активности (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 2009).

Проведенное гистологическое исследование ткани печени (рисунок 13) животного с экспериментальным токсическим панкреатитом указывало на то, что дольковое строение сохранено, портальные тракты (1) незначительно расширены за счет отека и очаговой лимфо-макрофагальной инфильтрацией, центральные вены (2) полнокровные с очаговыми кровоизлияниями центров долек, гепатоциты с диффузной мелкокапельной (3) и крупнокапельной (4) жировой дистрофией.



**Рисунок 13** – Ткань печени крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом. Окраска гематоксилином и эозином, x40, иммерсия

#### **4.2.3. Метаболические изменения в ткани печени у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы**

Известно, что комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, оказывает на печень как антиоксидантное действие, угнетающее процессы перекисного окисления липидов в биологических мембранах, так и гепатопротекторное действие, способствующее восстановлению клеточной мембраны гепатоцитов, ее структуры и функции (Справочник Видаль 2022).

Ранее в работе Микашинович З.И. и соавторов была проведена в печени коррекция метаболических нарушений, вызванных хронической алкоголизацией, препаратом «Тыквеол» (Микашинович З.И., Летуновский А.В., Воронкин Д.А. [и др.], 2008). Исследование показало, что в условиях хронической алкоголизации включение в терапию лекарственного препарата способствует антигипоксическому действию и позволяет защитить антиоксидантную систему.

В исследовании Летуновского А.В. при хронической алкоголизации и при экспериментальном алкогольном панкреатите в ткани печени была обнаружена прогрессирующая тканевая гипоксия, а после коррекции тыквеолом

подтверждены протективный и гепатопротекторный эффекты в отношении функционирования, как энергетического обмена, так и антиоксидантной защиты (Летуновский А.В., 2011).

В таблице 10 отражены полученные результаты у группы с экспериментальным токсическим панкреатитом после применения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

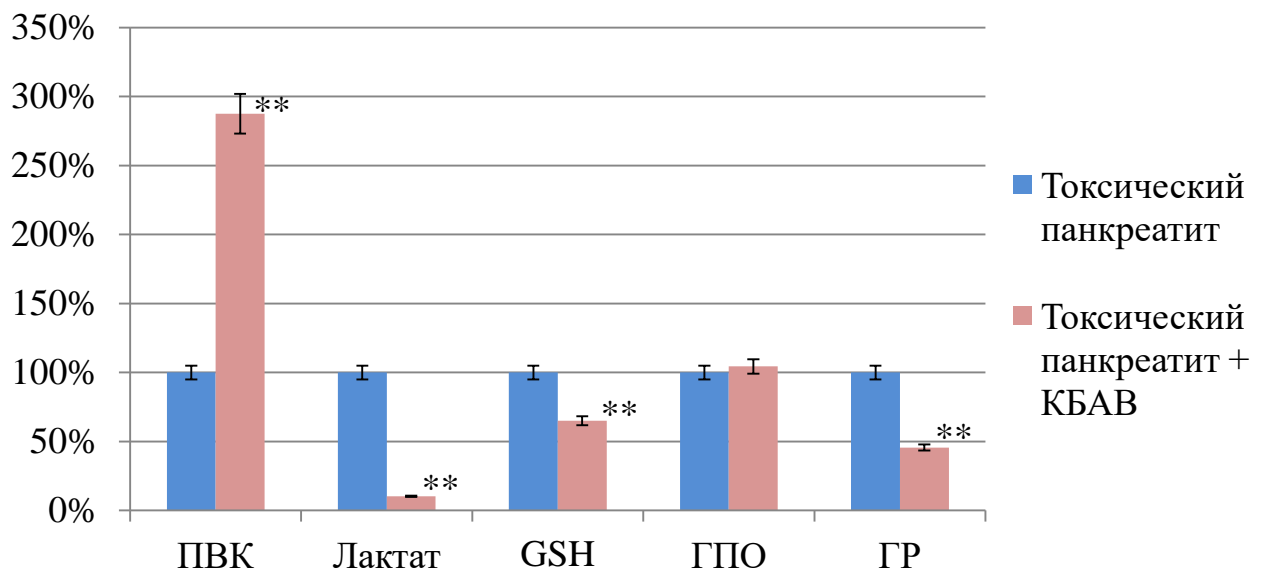
**Таблица 10** – Биохимические изменения в гомогенате ткани печени у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом до и после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы ( $M \pm m$ , p)

Показатели \ Группы	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 3 n= 35 (токсический панкреатит)	Группа 4 n= 35 (токсический панкреатит + КБАВ)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,39±0,04	0,16±0,01 p<0,001	0,46 ±0,04 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,001
Лактат, мкмоль/мг белка	1,1±0,1	13,62±1,4 p<0,001	1,4±0,016 p<0,05, p <sub>1</sub> <0,001
GSH, мкмоль/мг белка	496,6±49,83	772,9±76,9 p<0,05	503,13±50,71 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,05
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	46,85±4,7	41,81±4,2 p>0,05	43,63±4,4 p>0,05, p <sub>1</sub> >0,05
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	0,158±0,01	0,386±0,03 p<0,001	0,176±0,01 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,05

*Примечание:* p – степень достоверности относительно контрольной группы; p<sub>1</sub> – степень достоверности относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом, при p≤0,05 изменения достоверны. КБАВ – комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.



При анализе показателей ткани печени животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, относительно группы сравнения (группа 3) (рисунок 14) установлено значительное увеличение уровня ПВК на 187,5 % ( $p_1 < 0,001$ ) и снижение уровня лактата на 89,72 % ( $p_1 < 0,001$ ). Полученные результаты указывают на активацию аэробного пути в гепатоцитах и существенное уменьшение степени лактоацидоза.



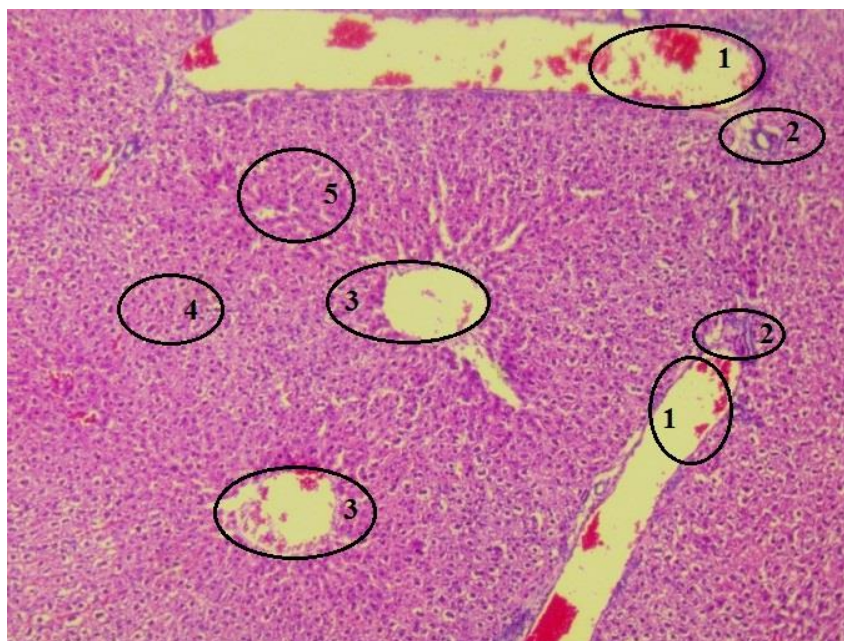
**Рисунок 14** – Динамика биохимических показателей в гомогенате ткани печени животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом (в процентах)

Рассматривая показатели ферментов глутатионового звена у экспериментальных животных (группа 4) относительно группы сравнения отмечено снижение уровня GSH на 34,9 % ( $p_1 < 0,05$ ) и активности ГР на 54,4 % ( $p_1 < 0,05$ ), а активность ГПО достоверно не изменилась ( $p_1 > 0,05$ ). Полученные результаты можно рассматривать как тенденцию к восстановлению *redox*-потенциала гепатоцитов.

При сравнении показателей энергетического обмена в гепатоцитах животных экспериментальной группы относительно контроля отмечено увеличение уровня лактата на 27,27 % ( $p < 0,05$ ) и статистически незначительное повышение уровня ПВК на 17,95 % ( $p > 0,05$ ), что указывает на наличие недоокисленных продуктов гликолиза, но в меньшей степени выраженное, чем до лечения.

При анализе показателей ферментов антиоксидантной защиты у группы с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно данных контроля статистически значимых изменений не обнаружено, соответственно ( $p > 0,05$ ), что указывает на высокий компенсаторный потенциал этого звена клеточной защиты, поддерживаемый введением препарата.



**Рисунок 15** – Ткань печени крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которой был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ , иммерсия

Гистологическое исследование ткани печени крысы группы с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рационе которой был введен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, выявило (рисунок 15), что дольковое строение печени сохранено, портальные тракты (1)



незначительно расширены за счет отека и очаговой лимфо-макрофагальной инфильтрацией (2), триады сохранены, центральные вены (3) полнокровные с очаговыми кровоизлияниями центров долек, гепатоциты с диффузной мелко- (4) и крупнокапельной (5) жировой дистрофией.

Таким образом, несмотря на сохранение жировой дистрофии, метаболическая картина свидетельствует о наличии позитивных сдвигов, как в глутатионовом звене, так и углеводно-энергетическом обмене, указывающем на улучшения кислородного обеспечения гепатоцитов.

### 4.3. Сердце

На сегодняшний день в литературе приведено большое количество исследований, посвященных анализу патогенеза сердечной деятельности при острых панкреатитах различной этиологии и при панкреонекрозах (Долгих В.Т., Ершов А.В., Шикунова Л.Г., 2009; Воронкин Д.А., 2011; Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2012; Ершов А.В., Долгих В.Т., 2015; Геворкян А.Г., Барсегян В.О., Айрапетян Р.Л. [и др.], 2015).

Известно, что хронический панкреатит вносит изменения не только в метаболизм поджелудочной железы и печени, но и влияет на обменные процессы в сердечной мышце. В связи с этим, длительное нарушение гастроэнтерологических функций печени и поджелудочной железы, а именно разобщенность работы электролитного, энзимного и углеводного балансов, приводит к развитию дистрофии миокарда и нарушениям сердечно-сосудистой системы (Оганезова И.А., Егорова С.В., Скворцова Т.Э. [и др.], 2018).

Обобщая данные литературы и собственные наблюдения, можно заключить, что токсическое воздействие алкоголя и его альдегидов приводит к структурному нарушению клеток сердечной мышцы и значимой метаболической перестройке в них (рисунок 16). Регулярное употребление алкоголя усиливает выработку ацетальдегида, способствующего высвобождению в избытке катехоламинов, приводящих к гипердинамии миокарда, который в свою очередь повышает потребность клеток в активном кислороде, тем самым обеспечивая

благоприятные условия для формирования гипоксии. За счет нарушения работы митохондриального аппарата и под воздействием этанола и его альдегидов в коронарных сосудах и капиллярах запускается механизм пролиферации эндотелиальных клеток, усугубляющий гипоксию, под воздействием которой разобщается транспорт ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ , нарушая биоэлектрическую активность миоцитов, активируется фосфолипаза, изменяющая проницаемость биологических мембран, вследствие чего происходит перерождение саркоплазматического ретикулума и сбой сердечно-сосудистой деятельности (Моисеев В.С. 1990; Шабанов П.Д., 2003; Воронкин Д.А., 2011; Ершов А.В., Долгих В.Т., Корпачева О.В. [и др.], 2016).



**Рисунок 16** – Влияние алкоголя и ацетальдегидов на метаболизм миоцитов (блок-схема построена на основе анализа литературных данных)

В источниках литературы приведены исследования по изучению феномена характерного для острого панкреатита – «фактора депрессии миокарда», так как поджелудочная железа может являться его активатором. Однако механизм

возникновения данного феномена до конца не изучен в связи с тем, что собрана недостаточная база доказательств (Antonucci E., Fiaccadori E., Donadello K. [et all.], 2014; Vuğdacı M.S., Tuzun A., Koca H. [et all.], 2014; Ершов А.В., Долгих В.Т., 2015; Ершов А.В., Андреенков В.С., Манасова З.Ш., 2020).

В современной литературе практически отсутствуют данные о наличии кардиодепрессии при панкреатите алкогольной этиологии. В связи с этим, экспериментальное исследование позволит выявить особенности метаболических нарушений в сердечной мышце на уровне углеводно-энергетического обмена и антиоксидантной защиты при токсическом панкреатите, развитым на фоне высокоэнергетического пищевого режима и алкогольной интоксикации, в эксперименте.

#### **4.3.1. Метаболические изменения в ткани сердечной мышцы у животных с гиперхолестеринемией**

При развитии эссенциальной гиперхолестеринемии у животных в гомогенате ткани сердечной мышцы были получены следующие результаты, отраженные в таблице 11.

**Таблица 11** – Биохимические изменения в гомогенате ткани сердечной мышцы у животных с гиперхолестеринемией ( $M \pm m$ ,  $p$ )

Показатели	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,4±0,038	0,298±0,03 p<0,05
Лактат, мкмоль/мг белка	2,66±0,24	4,58±0,47 p<0,001
GSH, мкмоль/мг белка	295,17±30,6	378,74±38,1 p>0,05

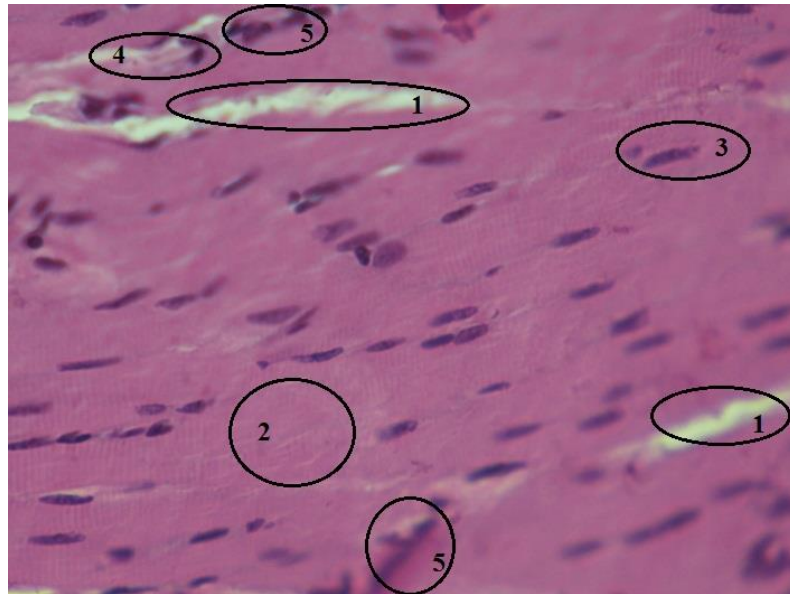
Группы	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
Показатели		
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	21,55±2,2	29,05±3,1 p>0,05
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	8,94±0,91	13,58±1,4 p<0,05

*Примечание:* p – степень достоверности относительно показателей группы контроля, при  $p \leq 0,05$  изменения достоверны.

У гиперхолестеринемичных животных при анализе углеводно-энергетического обмена в гомогенате сердечной мышцы отмечено снижение уровня ПВК на 25,5 % ( $p < 0,05$ ) и увеличение уровня лактата на 72,18 % ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы. Полученные результаты отражают преобладание анаэробного пути и накопление недоокисленных продуктов гликолиза.

Анализируя антиоксидантную активность у животных с гиперхолестеринемией, нами было выявлено увеличение активности ГР на 51,9 % ( $p < 0,05$ ) и недостоверное повышение активности ГПО на 34,8 % ( $p > 0,05$ ) и GSH на 28,31 % ( $p > 0,05$ ) относительно показателей группы контроля.

Таким образом, при эссенциальной гиперхолестеринемии в сердечной мышце животных выявлено снижение уровня ПВК на фоне значительного увеличения лактата свидетельствующие о нарушении анаэробного обмена и формированию гипоксии. Такие сдвиги могут явиться стимулом к компенсаторной перестройке антиоксидантной системы, что документируется тенденцией к активации ГПО и GSH на фоне достоверных изменений ГР.



**Рисунок 17** – Ткань миокарда крысы с гиперхолестеринемией.

Окраска гематоксилином и эозином, х400, иммерсия

Гистологическое исследование ткани сердечной мышцы (рисунок 17) у крысы с гиперхолестеринемией указывало на серозный отек (1), набухание кардиомиоцитов с утратой поперечной исчерчености (2), концевую дистрофию миоцитов (3), венозное полнокровие (4), периваскулярную гистиоцитарно-фибробластическую реакцию (5). Необходимо отметить, что при макрогистологической оценке специалистом было отмечено набухание стенок артериол, жировая инфильтрация и гиалиноз стенок отдельных сосудов.

#### **4.3.2. Метаболические изменения в ткани сердечной мышцы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом**

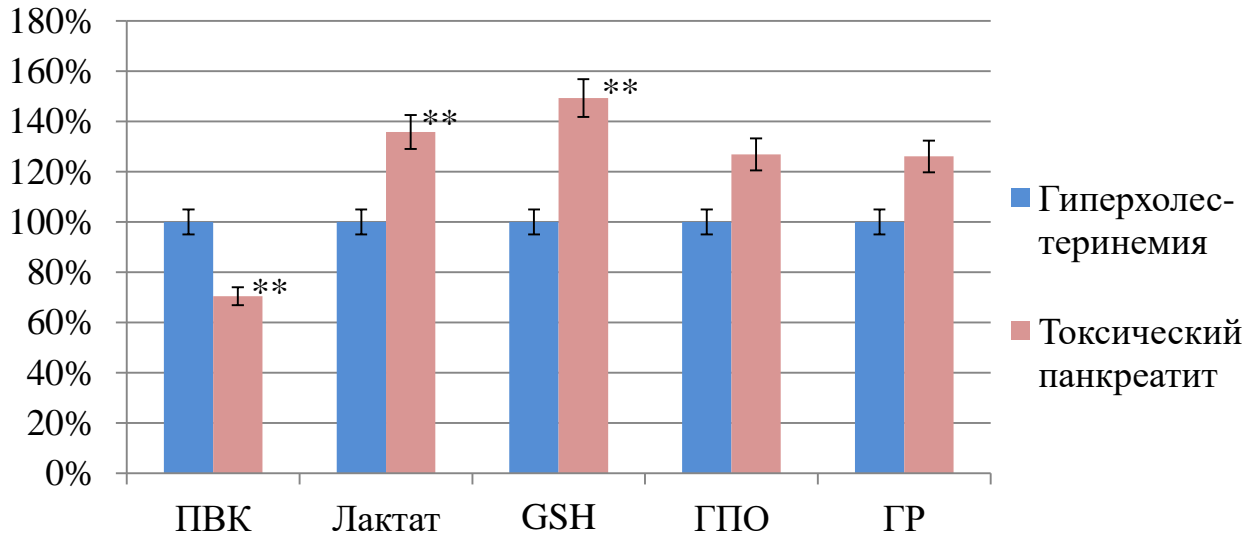
При моделировании экспериментального токсического панкреатита у животных в гомогенате ткани сердечной мышцы зарегистрированы результаты, приведенные в таблице 12.

**Таблица 12** – Биохимические изменения в гомогенате ткани сердечной мышцы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом ( $M \pm m$ ,  $p$ )

Показатели \ Группы	Группа 1 n= 30 (контрольная группа)	Группа 2 n= 35 (гиперхолестеринемия)	Группа 3 n= 35 (токсический панкреатит)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,4±0,038	0,298±0,03 $p < 0,05$	0,21±0,02 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,05$
Лактат, мкмоль/мг белка	2,66±0,24	4,58±0,47 $p < 0,001$	6,22±0,64 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,05$
GSH, мкмоль/мг белка	295,17±30,6	378,74±38,1 $p > 0,05$	565,49±55,9 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,05$
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	21,55±2,2	29,05±3,1 $p > 0,05$	36,87±3,5 $p < 0,001$ , $p_1 > 0,05$
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	8,94±0,91	13,58±1,4 $p < 0,05$	17,12±1,6 $p < 0,001$ , $p_1 > 0,05$

*Примечание:*  $p$  – степень достоверности относительно группы контроля;  $p_1$  – степень достоверности относительно группы с гиперхолестеринемией, при  $p \leq 0,05$  изменения достоверны.

У группы с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно показателей «гиперхолестеринемичных» животных отмечается еще большее снижение уровня ПВК на 29,53 % ( $p_1 < 0,05$ ) и достоверный рост уровня лактата на 35,81 % ( $p_1 < 0,05$ ) (рисунок 18).



**Рисунок 18** – Динамика биохимических показателей в гомогенате ткани сердечной мышцы животных с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно группы с гиперхолестеринемией

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией (в процентах)

При анализе ферментов глутатионового звена при развитии экспериментального токсического панкреатита в сердечной мышечной ткани наблюдали увеличение уровня GSH на 49,31 % ( $p_1 < 0,05$ ) и недостоверное повышение активности ГПО на 26,92 % и ГР на 26,07 %, соответственно ( $p_1 > 0,05$ ) относительно группы с гиперхолестеринемией.

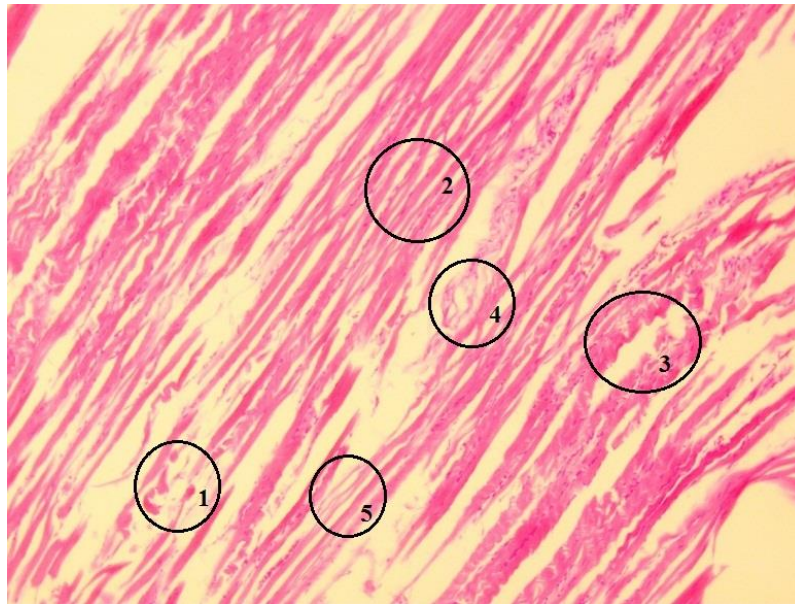
У животных группы 3 (с экспериментальным токсическим панкреатитом) нами отмечено снижение уровня ПВК на 47,5 % ( $p < 0,001$ ) и значительный рост уровня лактата на 133,83 % ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы, что говорит об усилении гипоксии в клетках сердечной мышцы.

Результаты исследования антиоксидантной защиты у группы с экспериментальным токсическим панкреатитом показали увеличение содержания глутатионной активности всех ферментов: GSH на 91,58 % ( $p < 0,001$ ), ГР на 91,50 % ( $p < 0,001$ ) и ГПО на 71,09 % ( $p < 0,001$ ), что указывает на напряженную работу данной системы. Особенно обращает внимание достоверное резкое увеличение содержания GSH, что может привести к повреждению клеток.

Таким образом, содержание животных на гиперхолестериновой диете с принудительной алкоголизацией 20%-ным спиртовым раствором способствует нарушению в клетках сердечной мышечной ткани кислородного режима. Несмотря на то, что в миоглобинах имеются запасы кислорода за счет диффузии его из капилляров органа, при созданных нами условиях, выявлено существенное увеличение уровня лактата и снижение уровня ПВК, что подтверждает накопление недоокисленных продуктов и изменение соотношения НАД/НАДН<sub>2</sub> (Нельсон Д., Кокс М., 2017). Большое содержание НАДН+Н<sub>2</sub> приводит к закислению среды, что сопровождается изменением окислительно-восстановительного потенциала и нарушению структурно-функционального состояния миоцитов. В свою очередь такие сдвиги влекут за собой накопление активных форм кислорода. Выявленная активация глутатионзависимого звена антиоксидантной системы, по-видимому, направлена на стимуляцию адаптационных механизмов клеток, что подтверждается мнением ряда авторов (Гольдберг А.А., Поберезкина Н.Б., 1987; Ефременко Е.С., Жукова О.Ю., Титов Д.С. [и др.], 2019).

Важно отметить, что результаты метаболических изменений в сердечной мышце у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом согласуются по направленности изменений с ранее полученными в наших лабораториях данными исследований (Воронкин Д.А., 2011). Однако необходимо отметить, что в этих пилотных экспериментах проведено моделирование у крыс алкогольного панкреатита с помощью однократного введения в ткань поджелудочной железы 0,1 мл 1%-ного раствора тритона X-100 и принудительной алкоголизации раствором этанола в течение трех месяцев. Понимая, что такая модель не достаточно адекватна для развития заболевания у человека, нами была модифицирована модель с акцентом на максимальное приближение к естественным условиям (замена введения тритона X-100 на моделирование гиперхолестеринемии).





**Рисунок 19** – Ткань миокарда крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом. Окраска гематоксилином и эозином, x100, иммерсия

При гистологическом исследовании в миокарде (рисунок 19) наблюдали дистрофические изменения мышечных волокон в виде очагового накопления гранул липофусцина (1), сохранность поперечной исчерченности (2), межмышечно и периваскулярно присутствие липоматоза (3) и выраженный мелкоочаговый фиброз (4). Необходимо отметить, что мышечные волокна местами истончены и атрофичны (5).

#### **4.3.3. Метаболические изменения в ткани сердечной мышцы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы**

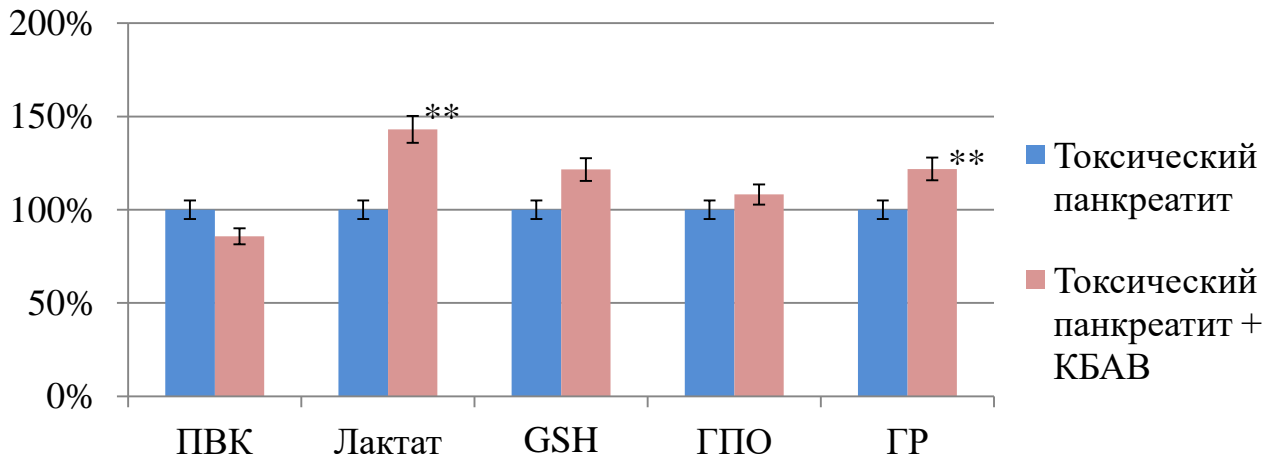
Результаты гомогената ткани сердечной мышцы, полученные в эксперименте у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после включения в рацион комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, представлены в таблице 13.

**Таблица 13** – Биохимические изменения в гомогенате ткани сердечной мышцы у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом до и после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы ( $M \pm m$ ,  $p$ )

Показатели \ Группы	Группа 1 n= 30 (контрольная группа)	Группа 3 n= 35 (токсический панкреатит)	Группа 4 n= 35 (токсический панкреатит + КБАВ)
ПВК, мкмоль/мг белка	0,4±0,038	0,21±0,02 p<0,001	0,18 ±0,02 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
Лактат, мкмоль/мг белка	2,66±0,24	6,22±0,64 p<0,001	8,9±0,91 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05
GSH, мкмоль/мг белка	295,17±30,6	565,49±55,9 p<0,001	687,66±69,1 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
ГПО, мкмоль/мг белка в мин.	21,55±2,2	36,87±3,5 p<0,001	39,9±4,1 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
ГР, мкмоль/мг белка в мин.	8,94±0,91	17,12±1,6 p<0,001	20,86±0,22 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,05

*Примечание:*  $p$  – степень достоверности относительно группы контроля;  $p_1$  – степень достоверности относительно группы с токсическим панкреатитом, при  $p \leq 0,05$  изменения достоверны. КБАВ – комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

У животных, в рационе которых был введен КБАВ, полученный из семян тыквы, (экспериментальная группа) при анализе ключевых метаболитов энергетического обмена выявлено достоверное повышение уровня лактата на 43,09 % ( $p_1 < 0,05$ ) и небольшое уменьшение уровня ПВК на 14,29 % ( $p_1 > 0,05$ ) относительно группы сравнения, не получавшей препарат (рисунок 20).



**Рисунок 20** – Динамика биохимических показателей в гомогенате ткани сердечной мышцы животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом (в процентах)

При анализе антиоксидантной защиты у экспериментальной группы установлено повышение активности ГР на 21,85 % ( $p_1 < 0,05$ ), ГПО на 8,22 % ( $p_1 > 0,05$ ) и уровня GSH на 21,6 % ( $p_1 > 0,05$ ) относительно группы сравнения.

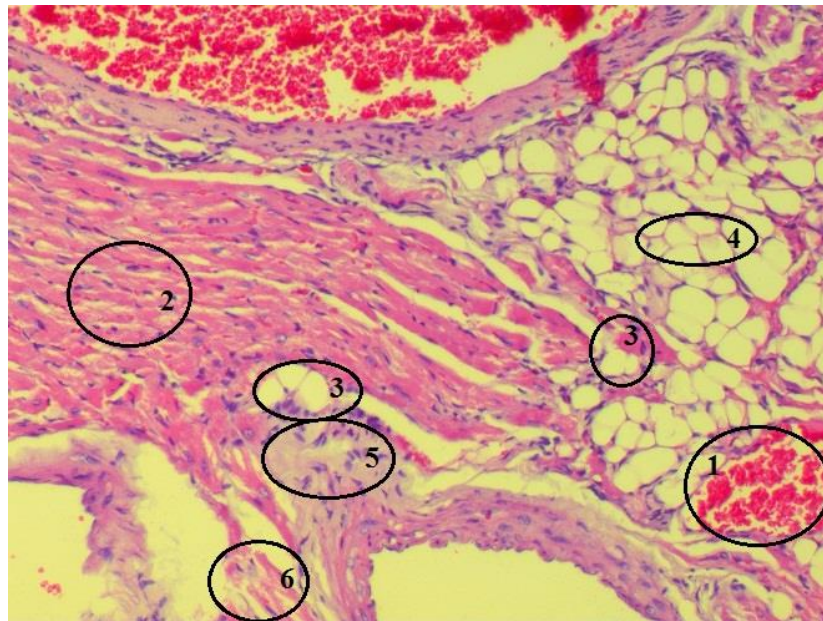
При сопоставлении показателей экспериментальной группы с данными контрольной отмечена аналогичная динамика: уровень лактата вырос на 234,59 % ( $p < 0,001$ ) и уровень ПБК снизился на 55 % ( $p < 0,001$ ). Сравнивая показатели экспериментальной группы с данными контроля, также отмечалось значимое увеличение активности ГР на 133,33 % ( $p < 0,001$ ), ГПО на 85,15 % ( $p < 0,001$ ) и уровня GSH на 132,97 % ( $p < 0,001$ ).

Полученные результаты отражают сохранение нарушений метаболических процессов в клетках сердечной мышцы, характерных для тканевой гипоксии, тогда как содержание GSH и активность ферментов глутатионового звена – отражают их активацию после лечения. Следует подчеркнуть, что синхронная

активация компонентов антиоксидантной защиты, может свидетельствовать о стимуляции приспособительных реакций и переход на аварийный уровень функционирования в условиях сохраняющегося лактоацидоза.

Необходимо отметить, что динамика показателей антиоксидантной защиты может быть связана непосредственно с составом препарата, в котором содержатся  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\sigma$ -токоферолы и каротиноиды, направленные на снижение прооксидантных процессов в клетках и выведению этанола и его альдегидов за счет активации цитохрома- $P_{450}$ -зависимых ферментов и соответственно усиления антиоксидантного звена (Osterreicher С.Н., Schultheiss J., Wehler М.Н. [et all.], 2007; Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2012).

В наших исследованиях это документируется усилением работы глутатионовой системы.



**Рисунок 21** – Ткань миокарда крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которой был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

Окраска гематоксилином и эозином, x200, иммерсия

Гистологический анализ миокарда крысы с экспериментальным токсическим панкреатитом (рисунок 21) показал следующее: полнокровие сосудов (1),

поперечная исчерченность сохранена (2), межмышечно (3) и периваскулярно (4) крупноочаговый липоматоз и выраженный мелкоочаговый фиброз (5), эпикард богат жировой клетчаткой, представленной унилокулярными липоцитами, мышечные волокна местами истончены и атрофичны (6).

Таким образом, в сердечной мышце у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения в рацион комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, сохраняются признаки гипоксического повреждения метаболических процессов, что может быть одной из причин развития до и после лечения «кардиодипрессии» (Ершов А.В., Андреев В.С., Манасова З.Ш., 2020). Надо полагать, что содержание животных на гиперхолестериновой диете изменяет метаболический ответ на введение КБАВ, полученных из семян тыквы, зарегистрированные ранее (Воронкин Д.А., 2011; Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2012). В тоже время полученные нами результаты отражают включение такого важного звена, как глутатионовое звено антиоксидантной защиты, способствует усилению адаптивных реакций после приема комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

#### **4.4. Эритроциты крови**

Эритроциты не имеют в своей структуре митохондрий, именно поэтому в качестве энергетического материала используют только глюкозу, катаболизм которой обеспечивает сохранение структуры и функции гемоглобина, а также целостность мембран и образование энергии для работы ионных насосов. Известно, что примерно 90 % глюкозы поступающей извне используется эритроцитами в анаэробном гликолизе, конечным продуктом которого является лактат, который в плазме крови используется в других клетках органов, а главное в гепатоцитах (Нельсон Д., Кокс М., 2017).

Кроме этого, глюкоза в эритроцитах задействована в пентозофосфатном пути, в окислительном этапе которого происходит образование кофермента НАДФН, необходимого для восстановления глутатиона.

Эритроциты содержат ферментативную систему, предотвращающую токсическое действие активных форм кислорода и разрушение мембран эритроцитов.

Поэтому для объективности результатов проводимого нами эксперимента, были проанализированы биохимические изменения, происходящие в эритроцитах и характеризующие состояние кислородзависимых процессов и антиоксидантной защиты.

#### 4.4.1. Метаболические изменения в эритроцитах крови у животных с гиперхолестеринемией

В таблице 14 приведены полученные показатели гликолиза и антиоксидантной системы эритроцитов крови животных с гиперхолестеринемией.

**Таблица 14** – Показатели гликолиза и глутатионзависимой антиоксидантной системы эритроцитов крови животных с гиперхолестеринемией

Показатель	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
ПВК, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	3,22±0,31	1,4±0,15 p<0,001
Лактат, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	5,0±0,53	6,64±0,69 p>0,05
GSH, мкмоль/г Hb	6,49±0,66	8,5±0,86 p>0,05
ГПО, мкмоль/ г Hb в мин.	12,27±1,3	2,82±0,29 p<0,001
ГР, мкмоль/ г Hb в мин.	0,49±0,05	0,55±0,06 p>0,05

Показатель	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)
Коэффициент лактат/ПВК, у.е.	1,6	4,7

*Примечание:* значимость различий:  $p$  – степень достоверности относительно контрольной группы, при  $p \leq 0,05$  различия статистически значимы.

После содержания животных на диете, приводящей к развитию гиперхолестеринемии (группа 2), в эритроцитах зафиксировано снижение уровня ПВК на 56,52 % ( $p < 0,001$ ), тогда как уровень лактата достоверно не изменился ( $p > 0,05$ ) по сравнению с группой контроля.

Рассматривая показатели глутатионового звена отмечено, что у крыс из группы с гиперхолестеринемией в эритроцитах снижена активность ГПО на 77,02 % ( $p < 0,001$ ), а активность ГР и уровень GSH по отношению к данным контроля не значительно повысились, соответственно ( $p > 0,05$ ). Обращает внимание, что накопление GSH на фоне падения ГПО может быть ответным неблагоприятным признаком.

#### **4.4.2. Метаболические изменения в эритроцитах крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом**

При изучении показателей гликолиза и антиоксидантной системы эритроцитов крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом в ходе эксперимента были получены следующие результаты, отображенные в таблице 15.

**Таблица 15** – Показатели гликолиза и глутатионзависимой антиоксидантной системы эритроцитов крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом ( $M \pm m$ , p)

Показатель \ Группа	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 2 n=35 (гиперхолестеринемия)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)
ПВК, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	3,22±0,31	1,4±0,15 p<0,001	1,55±0,17 p<0,001, p <sub>1</sub> >0,05
Лактат, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	5,0±0,53	6,64±0,69 p>0,05	12,27±1,4 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
GSH, мкмоль/г Hb	6,49±0,66	8,5±0,86 p>0,05	45,02±4,7 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
ГПО, мкмоль/ г Hb в мин.	12,27±1,3	2,82±0,29 p<0,001	10,98±1,3 p>0,05, p <sub>1</sub> <0,001
ГР, мкмоль/ г Hb в мин.	0,49±0,05	0,55±0,06 p>0,05	0,26±0,03 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
Коэффициент лактат/ПВК, у.е.	1,6	4,7	7,9

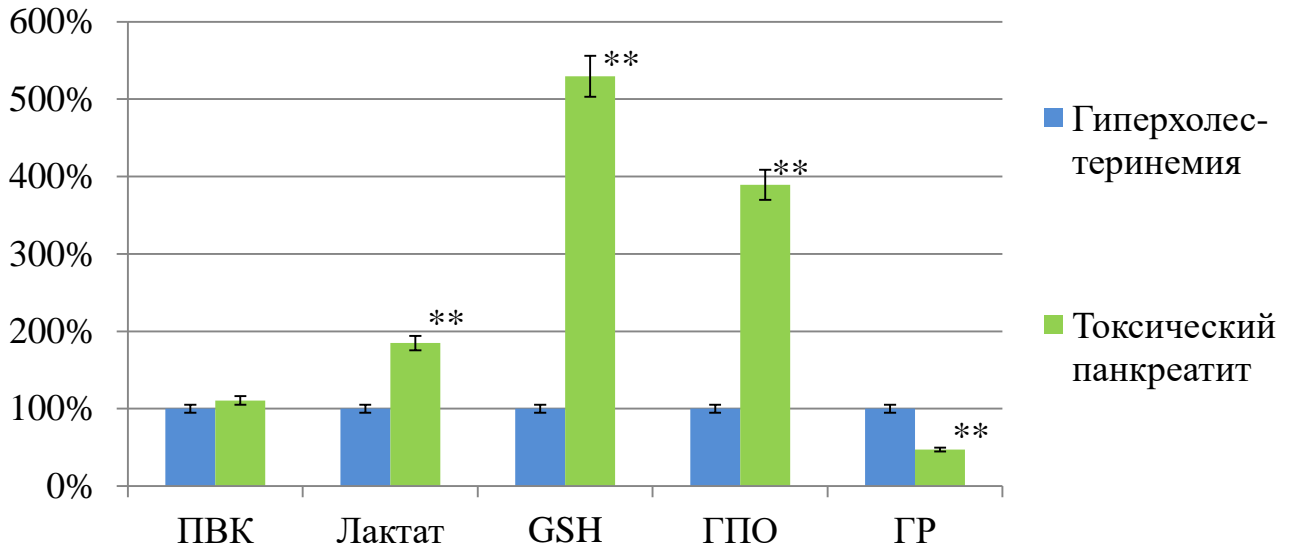
*Примечание.* Значимость различий: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p<sub>1</sub> – степень достоверности относительно группы с гиперхолестеринемией, при p≤0,05 различия статистически значимы.

При анализе эритроцитов у группы 3 установлено (рисунок 22), что концентрация ПВК не отличалась (p<sub>1</sub>>0,05) от животных с гиперхолестеринемией, а концентрация лактата выросла на 84,79 % (p<sub>1</sub><0,001).

Кроме того, в группе с экспериментальным токсическим панкреатитом зафиксировано значительное увеличение концентрации GSH на



429,65 % ( $p_1 < 0,001$ ) и активности ГПО на 289,36 % ( $p_1 < 0,001$ ), а активность ГР — ниже на 52,73 % ( $p_1 < 0,001$ ), чем в группе с гиперхолестеринемией.



**Рисунок 22** – Динамика показателей в гемолизате эритроцитов крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно группы с гиперхолестеринемией

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с гиперхолестеринемией (в процентах)

При анализе полученных результатов у группы 3 сравнительно данным контроля в эритроцитах уровень ПВК был ниже на 51,86 % ( $p < 0,001$ ), а уровень лактата — выше на 145,4 % ( $p < 0,001$ ).

У крыс с экспериментальным токсическим панкреатитом значительно увеличилась концентрация GSH на 593,68 % ( $p < 0,001$ ) и активность ГР стала ниже 52,73 % ( $p_1 < 0,001$ ), а активность ГПО достоверно не изменилась, соответственно ( $p > 0,05$ ), а по сравнению с показателями группы контроля.

Изучение особенностей метаболического состояния эритроцитов и их антиоксидантной системы показало существенные изменения у крыс, находящихся на патогенной высокожировой диете, а также у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом. Наблюдавшиеся изменения

содержания лактата и ПВК и, соответственно, увеличение соотношения лактат/ПВК, свидетельствуют о нарастании активности гликолиза. Этот процесс обеспечивает поддержание структурно-функционального состояния гемоглобина, являясь единственным источником синтеза АТФ в эритроцитах, обеспечивает энергией ионные насосы, а также участвует в поддержании целостности мембраны, препятствуя гемолизу (Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., 2015; Turpin C., Catan A., Meilhac O. [et al.], 2021).

#### 4.4.3. Метаболические изменения в эритроцитах крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы

При исследовании показателей гликолиза и антиоксидантной системы эритроцитов крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, зафиксированы следующие результаты, отраженные в таблице 16.

**Таблица 16** – Показатели гликолиза и глутатионзависимой антиоксидантной системы эритроцитов крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом до и после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы ( $M \pm m$ ,  $p$ )

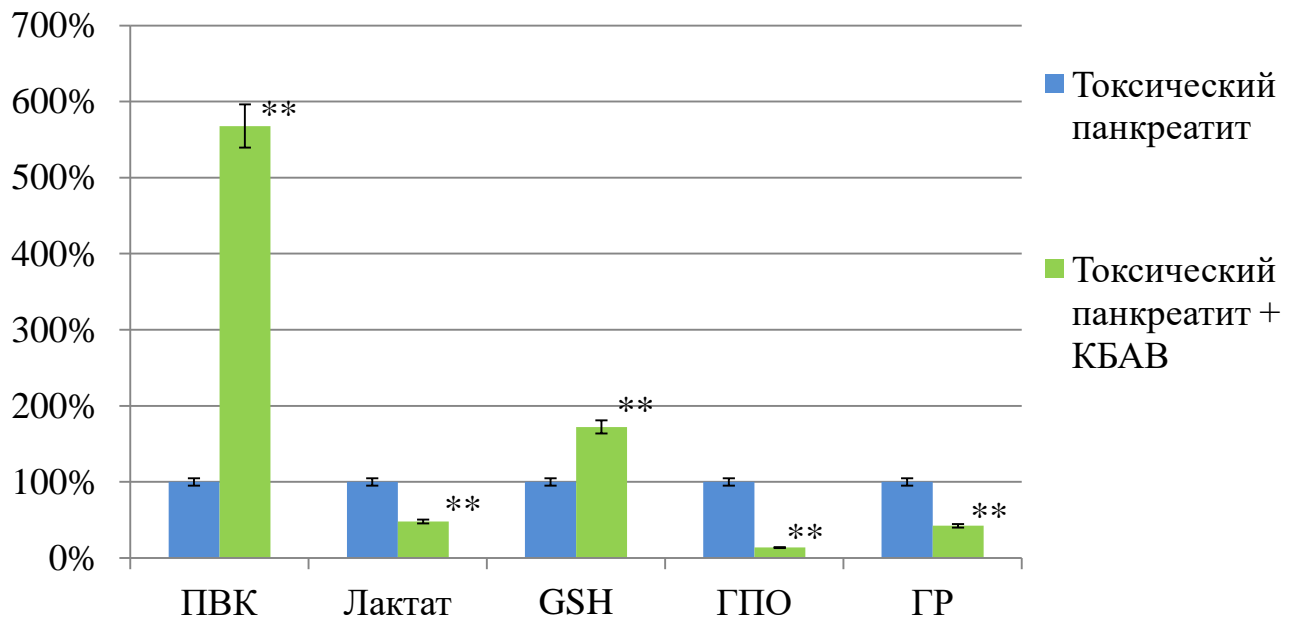
Показатель \ Группа	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)	Группа 4 n=35 (токсический панкреатит + КБАВ)
ПВК, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	3,22±0,31	1,55±0,17 $p < 0,001$	8,8±0,9 $p < 0,001$ , $p_1 < 0,001$
Лактат, мкмоль/мл пл. осадка эритроцитов	5,0±0,53	12,27±1,4 $p < 0,001$	5,88±0,6 $p > 0,05$ , $p_1 < 0,001$

Группа Показатель	Группа 1 n=30 (контрольная группа)	Группа 3 n=35 (токсический панкреатит)	Группа 4 n=35 (токсический панкреатит + КБАВ)
GSH, мкмоль/г Нв	6,49±0,66	45,02±4,7 p<0,001	77,5±7,9 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
ГПО, мкмоль/ г Нв в мин.	12,27±1,3	10,98±1,3 p>0,05	1,52±0,15 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
ГР, мкмоль/ г Нв в мин.	0,49±0,05	0,26±0,03 p<0,001	0,11±0,01 p<0,001, p <sub>1</sub> <0,001
Коэффициент лактат/ПВК, у.е.	1,6	7,9	0,7

*Примечание.* Значимость различий: p – степень достоверности относительно контрольной группы; p<sub>1</sub> – степень достоверности относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом, при p≤0,05 различия статистически значимы. КБАВ – комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы.

Включение в рацион КБАВ, полученных из семян тыквы, крысам с экспериментальным токсическим панкреатитом значительно влияло в эритроцитах на все показатели (рисунок 23): статистически значимо увеличивался уровень ПВК 467,74 % (p<sub>1</sub><0,001) и снижался уровень лактата на 52,08 % (p<sub>1</sub><0,001) по сравнению с их уровнем в группе, не получавшей лекарственный препарат.

Также при анализе ферментов глутатионового звена выявлен рост концентрации GSH на 72,15 % (p<sub>1</sub><0,001), в то время как были ниже активность ГПО на 86,16 % (p<sub>1</sub><0,001) и ГР на 57,69 % (p<sub>1</sub><0,001), соответственно, чем в эритроцитах крыс с экспериментальным токсическим панкреатитом.



**Рисунок 23** – Динамика показателей эритроцитов крови животных с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом

*Примечание:* \*\* – достоверно относительно группы с экспериментальным токсическим панкреатитом (в процентах)

Сравнивая полученные результаты экспериментальной группы (группа 4) с контролем, нами установлено, что в эритроцитах уровень ПВК вырос на 173,29 % ( $p < 0,001$ ), а уровень лактата достоверно не отличался ( $p > 0,05$ ). При анализе показателей антиоксидантной системы у группы с экспериментальным токсическим панкреатитом, в рацион которых был включен комплекс биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, были максимально выражены по сравнению с контрольной группой: концентрация GSH увеличилась на 1094,14 %, а активность ГПО и ГР снизились на 87,61 % и 77,55 %, соответственно ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, зафиксированные нами результаты эксперимента свидетельствуют о нарастании активности гликолиза за счет такого изменения уровня лактат/пируват, что обеспечивает поддержание структурно-

функционального состояния гемоглобина, являясь единственным источником синтеза АТФ в эритроцитах, препятствуя, таким образом, гемолизу (Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., 2015; Turpin С., Catan А., Meilhac О. [et al.], 2021).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день панкреатология является динамично развивающейся современной наукой в связи, с чем существует несколько вариантов классификаций панкреатита, в основу которых положены результаты как клинических, так и экспериментальных исследований и наблюдений (Ивашкин В.Т., Маев И.В., Охлобыстин А.В. [и др.], 2014; Клинические рекомендации Минздрава России «Хронический панкреатит», 2020). Существующие «классические» схемы лечения панкреатита не позволяют полноценно вести врачу пациента с данным заболеванием от момента скрининга до назначения терапии (Можейко Л.А., 2020). По причине этого разработка новых методов моделирования панкреатита, в том числе алкогольной этиологии, и коррекция, происходящих метаболических процессов при этой патологии, является в настоящее время актуальной.

Проведенный анализ доступной нам отечественной и зарубежной литературы показал, что существующие модели панкреатита, в том числе и алкогольной этиологии, воспроизводимые хирургическими методами, в основном направлены на лигирование панкреатического протока и криохирургические манипуляции поджелудочной железы (Page B.J., Toit D.F., Muller C.J.F. [et al.], 2000; Дорошкевич С.В., Дорошкевич Е.Ю., 2009; Макарчук В.А., Ушакова Г.А., 2014; Ошмянская Н.Ю., Галинский А.А., Гайдар Ю.А., 2014), а токсико-инфекционные – на введение в протоки и/или паренхиму ПЖ желчи, ферментов, бактериальных, масляных и токсичных веществ, а также спирта (Воронкин Д.А. [и др.], 2010; Летуновский А.В., Микашинович З.И., Панькина Н.С., 2010; Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2011; Горский В.А., Агапов М.А., Леоненко И.В. [и др.], 2014; Микашинович З.И., Летуновский А.В., Clinkinbeard T., Kline R.H., Zhang L.P. [и др.], 2017). Несомненно, все эти методы подходят для моделирования панкреатита, в том числе и алкогольной этиологии, у небольших лабораторных животных, так как вызывают необратимые структурно-функциональные изменения в ПЖ, но использование полученных

результатов данными методиками для разработки схем коррекции данного заболевания весьма спорны, так как искусственно созданные условия не естественны для человека (Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Москалева А.Б., 2010; Комаров Ф. И., Осадчук М. А., Осадчук А. М., 2010; Кучерявый Ю., Тибилова З., Андреев Д. [и др.], 2013; Можейко Л.А., 2019).

Одной из основных причин развития панкреатита является длительное употребление алкоголя (Stevens T., Parsi M.A., 2010; Кучерявый Ю.А., 2011; Ивашкин В.Т., Маеев И.В., Охлобыстин А.В. [и др.], 2014; Скворцов В.В., Устинова М.Н., Халилова У.А., 2017). Однако механизмы развития токсического панкреатита алкогольной этиологии в настоящее время изучены не до конца (Żorniak M., Sirtl S., Mayerle J. [et al.], 2020).

Известно, что алкоголь и его эфиры оказывают токсическое действие на ткань ПЖ, характеризующееся снижением антиоксидантной защиты за счет накопления свободных радикалов, вследствие чего происходит нарушение микроциркуляции, развитие воспалительных процессов, жировой дистрофии и некроз ткани (Detlefsen S., Spos B., Feyerabend B. [et al.], 2006; Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Москалева А.Б., 2008; Тропина И.В., Морозов С.В., Долгих В.Т. [и др.], 2010; Çöl S., Dinler K., Hasdemir O. [et al.], 2010; Скворцов В.В., Устинова М.Н., Халилова У.А., 2017; Rasineni K., Srinivasan M.P., Balamurugan A.N. [et al.], 2020).

Необратимый воспалительный процесс, лежащий в основе исследуемого нами заболевания, приводит к морфологическим изменениям в поджелудочной железе, характеризующимся в основном интерстициальным фиброзом и атрофией ацинарных клеток железы (Макарчук В.А., Ушакова Г.А., 2014).

Необходимо отметить, что на сегодняшний день существуют различные методы лечения токсического панкреатита алкогольной этиологии, суть одних заключается в применении терапевтических многокомпонентных лекарственных препаратов (Клинические рекомендации Минздрава России «Хронический панкреатит», 2020), а других в использовании хирургических вмешательств (Ивашкин В.Т., Маев И.В., Охлобыстин А.В. [и др.], 2014; Можейко Л.А., 2020). Однако сейчас возрос интерес к физико-химическим, пищевым, физиологическим

свойствам масла семян плодов семейства *Cucurbitaceae* (Salehi B., Capanoglu E., Adrar N. [et al.], 2019; Men X., Choi S.I., Han X. [et al.], 2020; Özbek Z.A., Ergönül P.G., 2020; Rolnik A, Olas B., 2020; Mokhtar M., Bouamar S., Di Lorenzo A. [et al.], 2021; Salehi B, Quispe C., Sharifi-Rad J. [et al.], 2021). На фармакологическом рынке есть комплексы биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы, которые способны оказывать гепатопротекторное, противовоспалительное, антиатеросклеротическое действие (Спасов А.А., Иёжица И.Н., Гурова Н.А. [и др.], 2002; Справочник Видаль 2022).

Проведя анализ доступной отечественной и зарубежной литературы, нами были найдено небольшое количество работ, в которых в терапевтических целях применяли комплексы биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы. Так стало известно, что применение данного препарата при бронхиальной астме способствовало снижению индекса интоксикации, увеличению диуреза и выведению хлоридов, уменьшению проявлений гипоксии, улучшению билиарного пассажа (Басиев З.Г., Басиева О.З., 2003). Применение этого же препарата при острых вирусных гепатитах А и В характеризовалось уменьшением продолжительности синдрома интоксикации, желтушного периода, более быстрым восстановлением размеров печени, а также быстрым восстановлением содержания билирубина в крови (Черенова Л.П., Галимзянов Х.М., Михалева М.А., 2009).

Применение препарата «Тыквеол» в сочетании с «Эссенциале» у пожилых людей с хроническим некалькулезным холециститом для профилактики развития желчекаменной болезни улучшело биохимический состав желчи и кратковременное улучшили показатели липидного обмена (Вахрушев Я.М., Бейлина Т.А., 2012).

В ряде исследований отмечаются существенные антиоксидантные и противовоспалительные свойства масла семян тыквы, за счет богатого химического состава (Bouamar S., Mokhtar M., Bouziane N. [et al.], 2017; Dong X.J., Chen J.Y., Chen S.F. [et al.], 2021; Mokhtar M., Bouamar S., Di Lorenzo A. [et al.], 2021; Salehi B., Quispe C., Sharifi-Rad J. [et al.], 2021).



В проведенных в нашей лаборатории исследованиях метаболических изменений в тканях органов и крови беспородных крыс с экспериментальным хроническим алкогольным панкреатитом, вызванным повреждением поджелудочной железы химическим веществом «Тритоном X-100» и 15 %-ным этиловым спиртом, при терапии фитопрепаратом «Тыквеол», в печени и сердечной мышце выявлена нормализация показателей антиоксидантной защиты, снижение гипоксии, за счет усиления аэробного метаболизма (Летуновский А.В., Микашинович З.И., 2012).

Кроме этого, имеются сведения о том, что употребление масла семян тыквы ослабляет гиперхолестеринемию, возможно, посредством ингибирования абсорбции холестерина в тонком кишечнике за счет снижения соотношения гидрофобных/гидрофильных кислот и снижения мицеллярной растворимости холестерина (Nissinen M., Gylling H., Vuoristo M. [et al.], 2002; Phillips K.M., Ruggio D.M., Ashraf-Khorassani M., 2005; Demonty I., Ras R.T. [et al.], 2009; Dumolt H., Radhakrishna S.K., Moghadasian M.H. [et al.], 2018; Cedó L., Farràs M., Lee-Rueckert M. [et al.], 2019).

Опираясь на данные литературы и опыт коллег нашей лаборатории, был разработан метод более адекватный естественному ходу воспроизведения процесса в поджелудочной железе, чем вышеизложенный, моделирования экспериментального токсического панкреатита путем развития гиперхолестеринемии и алкогольной интоксикации у беспородных крыс-самцов. Для этого у животных первоначально развивали гиперхолестеринемию в течение трех месяцев (Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Семенец И.А. [и др.], 2020), а после достижения целевого уровня холестерина равного  $3,83 \pm 0,31$  ммоль/л (контроль  $2,2 \pm 0,2$  ммоль/л), сохраняя рацион питания, в качестве единственного источника питья в течении двух месяцев давали 15%-ный раствор этанола.

На втором этапе для выявления особенностей метаболических процессов происходящих в тканях (поджелудочной железы, печени, сердца) и крови у групп животных участвующих в экспериментальном исследовании, а также возможность их коррекции комплексом биологически активных веществ,

выделенных из семян тыквы, проводили анализ ключевых интегральных показателей состояния углеводно-энергетического обмена и системы обмена глутатиона. Кроме этого, для оценки органоспецифических метаболических нарушений и функционального состояния различных систем органов с использованием развернутого лабораторного скрининга плазмы крови.

### **Метаболические изменения в крови и тканях органов у животных с гиперхолестеринемией**

В группе с гиперхолестеринемией в плазме крови крыс выявлены статистически значимые изменения ряда биохимических показателей по сравнению с их уровнем в контрольной группе. Увеличение в крови содержания мочевины в 1,4 раза ( $p < 0,001$ ) у животных, получавших рацион с высоким содержанием животных жиров, может свидетельствовать, прежде всего, об адаптационной реакции, направленной на усиление синтетической функции печени, с одной стороны, и с другой о нарушении функционирования почечной системы фильтрации.

Помимо этого, на ухудшение функционирования почечного фильтра может указывать и повышенный уровень прямого билирубина в 3,25 раз ( $p < 0,001$ ), так как данная фракция является водорастворимой и также может проходить через почечный фильтр в мочу, что согласуется с мнением ряда авторов (Levitt D.G., Levitt M.D., 2014).

Значимый рост уровня глюкозы в 1,7 раз ( $p < 0,001$ ) в крови у крыс с гиперхолестеринемией может свидетельствовать о взаимосвязи регуляторных влияний на линию поджелудочная железа–печень, так как патология поджелудочной железы очень часто возникает на фоне патологии печени, желчевыводящих путей (Nakanuma Y., 2010; Ахмедов В.А., Гаус О.В., 2017).

Изучение биохимических показателей крови у животных, находящихся под влиянием патогенного рациона, показало формирование алиментарной дислипидемии и гиперхолестеринемии, что проявлялось увеличением уровня общего холестерина в 1,7 раз ( $p < 0,001$ ), ЛПНП в 3 раза ( $p < 0,001$ ), снижением

уровня ЛПВП ( $p < 0,05$ ), в результате этого резко увеличился ИА более чем в 5 раз ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными контроля.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что у крыс, длительно находящихся на патогенной высококалорийной диете (обогащенной легко усваиваемыми углеводами и животными жирами), происходит нарушение липидного обмена (с формированием состояния гиперхолестеринемии и дислипидемии), а также пигментного обмена (в виде гипербилирубинемии), что может указывать на нарушения секреторной функции печени. При этом признаков цитолиза гепатоцитов в виде роста активности внутриклеточных ферментов (АлАТ, АсАТ) не наблюдается, а изменение ряда биохимических показателей крови позволяет также предположить сохранность синтетической функции печени. Однако увеличение уровня холестерина и ослабление механизмов его выведения может привести к накоплению свободного холестерина в печени. Токсичность значительного клеточного уровня холестерина в гепатоцитах является одним из основных факторов воспаления и фиброза, ведущих к повреждению печени.

Высокое содержание холестерина в диете, способствуя развитию окислительного стресса, опосредует различные клеточные реакции, в частности апоптоз. Апоптоз гепатоцитов является основой многих заболеваний печени и может запускать процессы воспаления, регенерации, фиброза, приводя к гепатитам, циррозу, гепатоцеллюлярной карциноме (Otunola G.A., Oloyede O.B., Oladiji A.T. [et al.], 2010; AlSharari S.D., Al-Rejaie S.S., Abuohashish H.M. [et al.], 2016; Han Q., Yeung S.C. [et al.], 2018).

О направленности энергетического обмена и выраженности тканевой гипоксии у животных с гиперхолестеринемией судили по уровню лактата и пирувата в исследуемых органах относительно группы контроля. Как видно из графика, что во всех исследуемых тканях достоверно увеличивается уровень лактата ( $p < 0,001$ ), это может указывать на нарушение углеводно-энергетических процессов и формирование тканевой гипоксии, наиболее ярко это выражено в печени.

В проведенном нами исследовании показателей глутатионового звена антиоксидантной системы в ткани поджелудочной железы у «гиперхолестеринемичных» животных выявлено снижения уровня GSH и активности ГР, соответственно ( $p < 0,001$ ), на фоне недостоверного изменения активности ГПО ( $p > 0,05$ ). Тогда как в тканях печени и сердечной мышцы на фоне незначительных изменений уровня GSH и активности ГПО, соответственно ( $p > 0,05$ ), выявлен рост активности ГР ( $p < 0,001$ ), направленной на восстановление уровня восстановленного глутатиона.

Таким образом, индуцированная высокоэнергетическим рационом гиперхолестеринемия во всех исследуемых органах характеризуется общей закономерностью – формированием тканевой гипоксии. До настоящего времени не сформировалось единое представление о влиянии гиперхолестеринемии на поджелудочную железу (Csonka C., Baranyai T., Tiszlavicz L. [et al.], 2017). Нами выявлены органоспецифические особенности метаболической реакции поджелудочной железы, которая характеризуется истощением запасов восстановленного глутатиона, тогда как в печени и сердечной мышце гиперхолестеринемия не вызывает существенных изменений содержания субстрата, а повышение активности глутатионредуктазы указывает на активацию компенсаторных процессов, направленных на повышение уровня глутатиона.

### **Метаболические изменения в крови и тканях органов у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом**

Проведенный анализ доступной нам отечественной и зарубежной литературы показал, что разработка новых методов моделирования панкреатита, в том числе алкогольной этиологии, и поиски путей их коррекции является в настоящее время актуальной.

При моделировании у животных экспериментального токсического панкреатита нами выявлено увеличение уровня общего билирубина, прямого и непрямого примерно в 3 раза, соответственно ( $p < 0,001$ ), снижение активности

АЛАТ ( $p < 0,001$ ) от контрольной группы. Концентрация общего белка ( $p > 0,05$ ) статистически достоверно не изменялась от уровня группы контроля.

Кроме этого, в группе с токсическим панкреатитом установлено увеличение содержания креатинина ( $p < 0,05$ ) и мочевины в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ), при этом активность амилазы в крови выросла в 3 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями группы контроля. Следует также отметить статистически значимое увеличение содержания глюкозы в крови ( $p < 0,001$ ) по сравнению с уровнем показателя у контрольных животных.

По сравнению с контрольной группой у животных с токсическим панкреатитом отмечено повышение уровня общего холестерина ( $p < 0,05$ ) на фоне снижения уровня ЛПВП ( $p < 0,001$ ), а также зафиксирован рост уровня ТГ в 1,2 раза ( $p < 0,001$ ) и ИА более чем в 8 раз ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, обнаруженное в нашем исследовании увеличение общего холестерина и триглицеридов в крови, являющееся признаком гиперлипидемии, свидетельствует о том, что двойное патологическое воздействие (патогенная диета и алкоголизация) у экспериментальных животных усугубляет поражение печени, что подтверждает мнение ряда авторов (Ronis M.J., Hennings L., Stewart B. [et al.], 2011; Clugston R.D., Yuen J.J., Hu Y. [et al.], 2014; You M., Arteel G.E., 2019).

Выявленное более чем 4-кратное увеличение активности амилазы в сыворотке крови крыс из группы, длительно получавших этанол на фоне гиперхолестеринемии, подтверждает формирование у них токсического панкреатита, а дальнейший рост содержания глюкозы в крови животных позволяет предположить наличие эндокринной дисфункции поджелудочной железы.

Необходимо отметить, что у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом появляются признаки существенного нарушения функционирования почек: нарастание содержания в крови не только мочевины, но и креатинина свидетельствует о снижении скорости клубочковой фильтрации в результате нарушения функционирования нефрона, что является основой для

развития почечной недостаточности. Причем увеличение содержания креатинина характерно для поражения значительного количества нефронов и является признаком ренальной патологии. Это подтверждается данными литературы о токсическом влиянии хронического употребления этанола на функционирование выделительной системы (Ozbek E., 2012; Adewale A., Ifudu O., 2014; Bulle S., Reddy V.D., Hebbani A.V. [et al.], 2016; Fan Z., Yun J., Yu S. [et al.], 2019; Bandiera S., Pulcinelli R.R., Huf F. [et al.], 2020).

В гомогенате поджелудочной железы, у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом относительно группы контроля зафиксировано увеличение уровня лактата, и ПВК примерно в 1,5 раза, соответственно ( $p < 0,001$ ), что может указывать на нарушение углеводно-энергетических процессов и формирования тканевой гипоксии. При анализе показателей глутатионового звена этих же групп выявлено снижение активности ГПО и активности ГР, соответственно ( $p < 0,001$ ), на фоне недостоверного увеличения концентрации GSH ( $p > 0,05$ ), что свидетельствует о снижении антиоксидантной защиты.

Полученные данные проведенного анализа показали, что моделирование у животных токсического панкреатита приводит к нарушению в ткани поджелудочной железы ключевых звеньев метаболических процессов.

В печени группы с экспериментальным токсическим панкреатитом обнаружено снижение уровня ПВК ( $p < 0,001$ ) на фоне значительного увеличения уровня лактата, более чем в 12 раз ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы, свидетельствующее о резкой активации анаэробного гликолиза и накоплении недоокисленных продуктов, что доказывает наличие гипоксических процессов.

Изменения активности ферментов глутатионового звена могут отражать нарушение баланса GSSG/GSH, что приводит к накоплению глутатиона из-за недостаточного его использования в защитных реакциях.

В сердечной мышце у животных с токсическим панкреатитом относительно группы контроля регистрируется усиление анаэробных процессов, выраженное практически так же, как и в панкреоцитах, но в меньшей степени.

Органоспецифической особенностью метаболического ответа сердечной мышцы является активация всех показателей глутатионового обмена. Накопление уровня GSH является показателем напряжения окислительно-восстановительного гомеостаза кардиомиоцитов, необходимого для обеспечения сердечной деятельности.

Таким образом, выявленная метаболическая картина у животных при моделировании экспериментального токсического панкреатита обосновывает антигипоксическое и антиоксидантное направление коррекционных воздействий с использованием комплекса биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы.

### **Метаболические изменения в плазме крови у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы**

Введение комплекса биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы, значительно сказывалось на показателях пигментного обмена: установлено статистически значимое снижение содержания общего билирубина в 1,8 раза ( $p_1 < 0,001$ ) преимущественно за счет соответствующего уменьшения уровня фракции непрямого билирубина в 1,7 раз ( $p_1 < 0,05$ ).

При этом по сравнению с уровнем у контрольных животных показатели общего и непрямого билирубина оставались в среднем 2,3 раза ( $p < 0,001$ ) выше. Помимо этого в крови снижалось содержание общего белка в 1,4 раза ( $p_1 < 0,001$ ) и достигало уровня в 1,6 раза ( $p < 0,001$ ) ниже, чем у контрольных животных. В экспериментальной группе выявлено статистически значимое увеличение активности ферментов АлАТ, АсАТ и ЩФ в 1,4, в 2,0 и в 3,2 раза, соответственно ( $p_1 < 0,001$ ). При этом показатель АсАТ достоверно не отличался от показателя в контрольной группе ( $p > 0,05$ ), а уровень АлАТ оставался в 1,4 раза ниже ( $p < 0,05$ ). Тогда как активность ЩФ превышала показатель в контрольной группе в 3 раза ( $p < 0,001$ ).

Кроме того, у животных после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, наблюдали статистически значимое снижение содержания глюкозы в 1,4 раза ( $p_1 < 0,05$ ) по сравнению с уровнем в группе с экспериментальным токсическим панкреатитом, однако ее уровень все еще был выше показателя в контрольной группе в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ). Активность амилазы в крови экспериментальной группы статистически значимо не отличалась ( $p_1 > 0,05$ ) от показателя в группы сравнения и сохранялась на таком же высоком уровне – в 3,8 раза ( $p < 0,001$ ) выше, чем контроль. При этом введение комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, приводило к статистически значимому снижению в крови содержания мочевины и креатинина в 2 и в 2,7 раза, соответственно ( $p_1 < 0,05$  и  $p_1 < 0,001$ ). В результате этого уровень мочевины достигал значений контрольной группы ( $p > 0,05$ ), а уровень креатинина стал ниже значений в контроле в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ).

При анализе плазмы крови в группе с экспериментальным токсическим панкреатитом после коррекции выявлено статистически значимое снижение общего холестерина в 4 раза ( $p_1 < 0,001$ ), ЛПНП в 1,4 раза ( $p_1 < 0,05$ ), ТГ в 3,3 раза ( $p_1 < 0,001$ ) и ИА более чем в 29 раз ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с показателями у животных без введения коррекционного препарата, что согласуется с ранее полученными данными авторов (Kris-Etherton P.M., Pearson T.A., Wan Y. [et al.], 1999; Makni M., Fetoui H., Gargouri N.K. [et al.], 2008; Gossell-Williams M., Hyde C., Hunter T. [et al.], 2011; Ras R., Geleijnse J., Trautwein E., 2014; Majid A.K., Ahmed Z., Khan R., 2020). При этом у экспериментальной группы после лечения относительно данных контроля снизилась концентрация общего холестерина более чем в 2 раза ( $p < 0,001$ ), ЛПВП в 1,6 раз ( $p < 0,001$ ), ТГ в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) и ИА в 3,6 раз ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, проведенные исследования в крови показали, что применение комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, при экспериментальном токсическом панкреатите оказывает положительный эффект на функционирование органов гепатобилиарной системы, поджелудочной железы. Это выражалось, прежде всего, в нормализации содержания в плазме



мочевины, креатинина, уровня водорастворимой фракции прямого билирубина и триглицеридов.

Следует отметить, что нормализацию уровня глюкозы у животных после лечения, можно расценивать как признак восстановления эндокринной функции поджелудочной железы.

Обращает на себя внимание и изменение некоторых показателей функционирования печени – уровня общего холестерина и ЛПНП, а также триглицеридов и фракции прямого билирубина. Нормализация их содержания позволяет предположить ослабление токсического повреждения печени и поджелудочной железы, уменьшение цитолиза и улучшение функционирования этих органов. Однако пониженное содержание ЛПВП не позволяет говорить о полном восстановлении метаболизма холестерина и синтетической функции гепатоцитов.

К позитивному эффекту комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, можно отнести снижение уровня общего билирубина и фракции непрямого билирубина, однако полной нормализации данных показателей не происходило – они оставались все еще выше значений в контрольной группе. Это может свидетельствовать о повышенном уровне гемолиза и распада гемоглобина, а также сохранении дисфункции гепатоцитов на данном отрезке наблюдения.

Несмотря на множество позитивных изменений крови под влиянием комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, необходимо отметить ряд моментов, связанных с высокой активностью в крови ферментов амилазы и щелочной фосфатазы. Нарастание гиперферментемии под влиянием препарата могут отражать особенности аварийной адаптационной перестройки на молекулярно-генетическом уровне.

Высокоэнергетическая диета вместе с комплексом биологически активных веществ, несомненно, вызывают изменения ферментных констелляций, связанных с появлением новых копий ферментов. Известно, что максимальное число копий фермента  $\alpha$ -амилаза коррелирует с избыточным углеводным питанием

(Покровский В.С., 2022). Щелочная фосфатаза – гетерогенный фермент, в состав которого входят ионы  $Mg^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ , представлен изоферментами с разной локализацией и молекулярной массой. Фермент присутствует в каждом органе и высокую активность в крови после коррекции, возможно, связана с усилением синтеза изоферментов (Меньшиков В.В., 2019).

### **Метаболические изменения в тканях органов и эритроцитах у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после введения комплекса биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы**

После проведения коррекции у животных в гомогенате поджелудочной железы выявлено снижение показателей углеводного обмена: уровня лактата в 2,5 раза ( $p_1 < 0,001$ ) и уровня ПВК в 1,5 раза ( $p_1 < 0,001$ ) не получавшей терапию (группа сравнения). При сравнении показателей экспериментальной группы с данными контроля выявлен повышенный уровень ПВК более чем в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ), а что касается изменений содержания лактата, то его также уровень оставался повышенным, хотя можно отметить тенденцию к снижению ( $p > 0,05$ ).

При анализе активности глутатионзависимых ферментов в ткани поджелудочной железы у экспериментальной группы отмечено уменьшение концентрации GSH примерно в 7 раз ( $p_1 < 0,001$ ) и активности ГПО в 2 раза ( $p_1 < 0,001$ ) на фоне незначительного увеличения активности ГР ( $p_1 > 0,05$ ) по сравнению с животными не получавшими комплекс биологически активных веществ. Относительно группы контроля сохранялась тенденция к снижению ключевых показателей антиоксидантной защиты: концентрации GSH более чем в 5 раз ( $p < 0,001$ ), активности ГПО в 3 раза ( $p < 0,001$ ) и ГР в 2 раза ( $p < 0,001$ ). Полученные результаты можно расценивать, как угнетение работы антиоксидантной защиты.

Показатели энергетического обмена в ткани печени животных с токсическим панкреатитом, получавших комплекс биологически активных веществ относительно группы сравнения указывали на увеличение уровня ПВК примерно

в 3 раза ( $p_1 < 0,001$ ) и снижение уровня лактата в 10 раз ( $p_1 < 0,001$ ), что свидетельствует об активации аэробного пути в гепатоцитах и существенном уменьшении степени лактоацидоза.

В ткани печени наряду с этим нами отмечено снижение уровня GSH в 1,5 раза ( $p_1 < 0,05$ ) и активности ГР примерно в 2 раза ( $p_1 < 0,05$ ), тогда как активность ГПО достоверно не изменилась ( $p_1 > 0,05$ ). Такая динамика показателей может быть связана с тенденцией, направленной на восстановление редокс-потенциала гепатоцитов. Необходимо отметить, что при сравнении относительно данных контроля статистически значимых изменений не обнаружено ( $p > 0,05$ ), что указывает на высокий компенсаторный потенциал этого звена клеточной защиты после применения комплекса биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы.

При изучении результатов ключевых метаболитов энергетического обмена в миокарде животных, получавших комплекс биологически активных веществ, выделенных из семян тыквы (экспериментальная группа) относительно группы сравнения выявлено повышение уровня лактата в 1,4 раза ( $p_1 < 0,05$ ), выраженное в меньшей степени, чем до лечения, и недостоверное уменьшение уровня ПВК ( $p_1 > 0,05$ ).

При анализе антиоксидантной защиты у экспериментальных животных относительно группы сравнения в миокарде наблюдали тенденцию к повышению активности ферментов: ГР ( $p_1 < 0,05$ ), ГПО ( $p_1 > 0,05$ ) и уровня GSH ( $p_1 > 0,05$ ), тогда как относительно контрольных данных выявлено значимое увеличение активности ГР в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), ГПО практически в 2 раза ( $p < 0,001$ ) и уровня GSH в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), что указывает на активацию этого звена антиоксидантной защиты.

Кроме этого, в эритроцитах у экспериментальной группы выявлено, что введение комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, значительно влияло на все показатели: статистически значимо увеличивался уровень ПВК — в 5,7 раза ( $p_1 < 0,001$ ) и снижалась концентрация лактата в 2 раза ( $p_1 < 0,001$ ), по сравнению с их уровнем у животных с токсическим

панкреатитом. При сравнении с данными контроля установлено, что в эритроцитах уровень ПВК был выше в 2,8 раза ( $p < 0,001$ ), чем в контрольной группе, а уровень лактата достоверно не отличался ( $p > 0,05$ ).

Анализ показателей ферментов глутатионового звена в эритроцитах у животных с экспериментальным токсическим панкреатитом после коррекции комплексом биологически активных веществ демонстрировал увеличение концентрации GSH – в 1,7 раза ( $p_1 < 0,001$ ), в то время как уровень ГПО и ГР были ниже в 7,2 и в 2,4 раза ( $p_1 < 0,001$ ), соответственно, чем у крыс группы сравнения. Необходимо отметить, что в экспериментальной группе изменения показателей антиоксидантной защиты были максимально выражены по сравнению с их уровнем в контрольной группе: концентрация GSH была выше в 11,9 раз, а активность ГПО и ГР ниже в 8,1 и 4,4 раза, соответственно ( $p < 0,001$ ), на фоне снижения уровня лактата рост содержания GSH свидетельствует о повышении потенциала защитных реакций эритроцитов.

Полученные нами данные показали, что включение в терапию комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, животным с экспериментальным токсическим панкреатитом в ткани поджелудочной железы оказывает позитивное воздействие, как на энергетический обмен, так и на все ключевые показатели глутатионового звена относительно групп сравнения. Данная динамика может быть связана с уменьшением воспалительного процесса ткани поджелудочной железы.

В ткани печени после введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, снижается тяжесть лактоацидоза, уменьшается активность ферментов обмена глутатиона и происходит нормализация его уровня. Несмотря на сохранение жировой дистрофии, у экспериментальных животных, складывающаяся метаболическая картина свидетельствует о наличии позитивных сдвигов, как в глутатионовом звене, так и углеводно-энергетическом обмене, указывающем на улучшения кислородного обеспечения гепатоцитов.

Исследование сердечной ткани в группе с экспериментальным токсическим панкреатитом, после включения в терапию комплекса биологически активных

веществ, показало, что в клетках происходит перестройка метаболических процессов характерных для тканевой гипоксии, формирующейся на фоне лактоацидоза и резкого снижения уровня ПВК, что может свидетельствовать в пользу «кардиодипрессии» (Ершов А.В., Андреев В.С., Манасова З.Ш., 2020). Наряду с этим, необходимо отметить, что синхронная активация компонентов антиоксидантной защиты, отражает позитивную тенденцию в организации приспособительных реакций, индуцируемых корригирующим воздействием при токсическом повреждении. Полученные факты подчеркивают неразрывную связь между производством энергии, про- и антиоксидантными процессами в миокарде. Защитная роль глутатиона в поддержании антиоксидантной мощности, выражающаяся в активации ферментов его обмена, направлена на поддержание динамического равновесия между наработкой активных форм кислорода и сохранением митохондриальных энергетических резервов. В связи с этим можно полагать, что именно нарушение кислородзависимых реакций является существенным фактором в патогенезе митохондриальной дисфункции и «кардиодепрессии».

## ВЫВОДЫ

1. Воспроизведение экспериментального токсического панкреатита в условиях высокоэнергетической диеты и алкогольной интоксикации характеризуется вовлечением в патологический процесс гепатобилиарной системы, гипергликемией, накоплением триглицеридов, увеличением индекса атерогенности на фоне резкого роста активности амилазы и угнетения белкового обмена. Действие комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, сопровождается тенденцией к снижению гипергликемии, статистически значимым уменьшением уровня общего билирубина, при этом уровень прямого билирубина, уровень мочевины и активность аланинаминотрансферазы не отличались от исходных величин.

2. После введения комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, в ткани поджелудочной железы регистрируется достоверное снижение содержания лактата, что свидетельствует об уменьшении лактоацидоза, тогда как уровень пирувата остается высоким, но в 2 раза достоверно ниже, чем до лечения. Уменьшение содержания восстановленного глутатиона, активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы может отражать спад напряжения адаптивных реакций.

3. Биохимические изменения в ткани печени после коррекции комплексом биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, также как и в ткани поджелудочной железы, отражают снижение выраженности тканевой гипоксии, что документируется нормализацией содержания уровня лактата и пирувата, при этом показатели, характеризующие антиоксидантную защиту, достоверно не отличаются от значений контроля, что свидетельствует об оптимизации функционального состояния гепатоцитов.

4. Метаболическая картина в ткани сердечной мышцы имеет свои органоспецифические отличия. Включение в рацион комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, практически не влияет на сдвиги обменных процессов, отмеченных до лечения: сохраняется лактоацидоз, на фоне

уменьшения содержания уровня пирувата, накапливается восстановленный глутатион, стимулируется активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы.

5. В эритроцитах действие комплекса биологически активных веществ, полученных из семян тыквы, направлено на нормализацию уровня лактата, при этом отмечается рост содержания пирувата ( $p < 0,001$ ), что может быть связано с изменением популяционного состава эритроцитов и их омоложением. Показатели, характеризующие обмен глутатиона, свидетельствуют об угнетении активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы (как и в поджелудочной железе), при резком накоплении восстановленного глутатиона, что отражает сохраняющиеся нарушения баланса глутатионового звена антиоксидантной защиты.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Предложенный метод моделирования токсического панкреатита на фоне провокации высокоэнергетической диетой у крыс может использоваться в экспериментальной гастроэнтерологии для проведения углубленных исследований, направленных на выявление особенностей метаболических изменений при развитии данной патологии. А также возможно его применение для составления сбалансированного рациона питания и схем коррекции, направленных на снижение патобиохимических изменений, происходящих в желудочно-кишечном тракте при токсическом панкреатите.

2. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы для разработки стандартов доклинических испытаний схем метаболической коррекции и профилактики патологических процессов, вызванных токсическим панкреатитом.

3. Способ диагностики хронического панкреатита алкогольной этиологии (патент № 2618401 от 03.05.2017 г.) рекомендуется использовать в клинико-лабораторной диагностике и гастроэнтерологии в качестве дополнительного высокоэффективного неинвазивного метода, позволяющего подтвердить данный диагноз в наиболее короткие сроки (в течение двух часов).



**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

2,4-ДНФГ – 2,4-динитрофенилгидразин

GSH – восстановленный глутатион

GSSG – окисленный глутатион

Hb - гемоглобин

NCAM – нейрональная молекула клеточной адгезии

АлАТ – аланинаминотрансфераза

АсАТ – аспартатаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АФК – активные формы кислорода

ГПО – глутатионпероксидаза

ГР – глутатионредуктаза

ИА – индекс атерогенности

КБАВ – комплекс биологически активных веществ

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности

МДА – малоновый диальдегид

ОХС – общий холестерин

ПВК – пировиноградная кислота

ПЖ – поджелудочная железа

ТГ – триглицериды

ТХУ – трихлоруксусная кислота

ФЭК – фотоэлектроколориметр

ХМ - хиломикроны

ХП – хронический панкреатит

ЩФ – щелочная фосфатаза

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альфонсова, Е.В. Ацидоз, гемостаз и морфология органов пищеварительной системы. / Е.В. Альфонсова, Н.В. Бочкарникова, О.Н. Стасюк. – Чита: ЗабГПУ, 2005. – 120 с.
2. Ахмедов, В.А. Воспалительные заболевания поджелудочной железы: что нового мы знаем о механизмах их развития в XXI веке? / В.А. Ахмедов, О.В. Гаус // Терапевтический архив. – 2021. – № 1. – С. 66-70.
3. Ахмедов, В.А. Поражение органов гепатобилиарной системы и поджелудочной железы при ожирении / В.А. Ахмедов, О.В. Гаус // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89, № 1. – С. 128-133.
4. Басиев, З.Г. Протекторное и лечебное применение тыквеола при патологии гепатобилиарной системы у больных тяжелой бронхиальной астмой / З.Г. Басиев, О.З. Басиева // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 8. – С. 39-39.
5. Белякова, С.В. Социально-демографическая и клиническая характеристика больных хроническим панкреатитом в Московской области: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.28 / Белякова Светлана Владимировна. – М., 2019. – 149 с.
6. Биохимия: учебник / под ред. Е.С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 768 с.
7. Быков, И.М. Оценка показателей тиолового метаболизма плазмы крови больных воспалительными заболеваниями органов малого таза при проведении антиоксидантной коррекции / И.М. Быков, К.А. Попов, И.А. Егорова, А.П. Сторожук // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т. 13. – № 2. – С. 402-406.
8. Вахрушев, Я.М. Профилактика желчного камнеобразования у лиц пожилого возраста в условиях поликлиники / Я.М. Вахрушев, Т.А. Бейлина // Пермский медицинский журнал. -2012. – Т. 29, № 5. – С. 77-83.
9. Войтенко, Н.Г. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях.

Сообщение 1: крысы / Н.Г. Войтенко, М.Н. Макарова, А.А. Зуева // Лабораторные животные для научных исследований. – 2020. - № 1. – С. 47-53.

10. Воронкин, Д.А. Метаболические изменения в органах и крови при экспериментальном хроническом алкогольном панкреатите: дис. ... канд. мед. наук: 03.01.04 / Воронкин Денис Алексеевич. – Ростов-на-Дону, 2011. – 127 с.

11. Вялов, С.С. Синдром холестаза: тактика диагностики и ведения пациентов / С.С. Вялов // Эффективная фармакотерапия. – 2012. – № 28. – С. 10-15.

12. Герасимов, А.Н. Медицинская статистика: учеб. пособие. – М.: Мед. информ. агентство, 2007. – 480 с.

13. Гольдберг, А.А. Роль антиоксидантных факторов в патогенезе острого панкреатита / А.А. Гольдберг, Н.Б. Поберезкина // Клиническая хирургия. – 1987. – № 11. – С. 23-24.

14. Гонсалес, Д.Э. Питание как фактор риска развития гипертонической болезни легких и ишемической болезни сердца / Д.Э. Гонсалес // Вопросы питания. – 2008. – Т. 77, № 3. – С.15-20.

15. Горский, В.А. Создание модели острого некротического панкреатита / В.А. Горский, М.А. Агапов, И.В. Леоненко, А.И. Баттаев // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2014. – Т. 7, № 3. – С. 196-200.

16. Долгих, В.Т. К патогенезу сердечной недостаточности при панкреонекрозе (экспериментальное исследование) / В.Т. Долгих, А.В. Ершов, Л.Г. Шикунова // Общая реаниматология. – 2009. – № 3. – С. 39-44.

17. Дорошкевич, С.В. Травматическая модель острого и хронического панкреатита / С.В. Дорошкевич, Е.Ю. Дорошкевич // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – Т. 19, № 1. – С. 113-117.

18. Досон, Р. Справочник биохимика: пер. с англ. / Р. Досон, Д. Эллиот, К. Джонс. – М.: Мир, 1991. – 544 с.

19. Ежова, Г.П. Биомедицинские исследования гомеостаза организма человека учебно-методическое пособие / Г.П. Ежова, А.А. Бабаев. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2010. – 80 с.

20. Ершов, А.В. Влияние панкреатогенных факторов на сократимость и метаболизм изолированного сердца крысы / А.В. Ершов, В.Т. Долгих // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2015. – № 6. – С. 62-68.

21. Ершов, А.В. Кардиодепрессия при тяжелом остром панкреатите: механизмы развития и возможные подходы к лечению. Обзор литературы / А.В. Ершов, В.С. Андреев, З.Ш. Манасова // Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. – 2020. – № 1. – С. 66-74.

22. Ершов, А.В. Патогенетические факторы кардиодепрессии при остром деструктивном панкреатите / А.В. Ершов, В.Т. Долгих, О.В. Корпачева, В.В. Русаков, Н.И. Таран, Н.С. Гриценко // Общая реаниматология. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 16-25.

23. Есауленко, Е.Е. Гепатопротекторные свойства и метаболические эффекты липофильных продуктов растительного происхождения в эксперименте: дис. ... д-ра. биол. наук: 03.01.04 / Есауленко Елена Евгеньевна. – Краснодар, 2014. – 277 с.

24. Ефременко, Е.С. Глутатион-зависимые механизмы антиоксидантной защиты при алкоголизме / Е.С. Ефременко, О.Ю. Жукова, Д.С. Титов, Д.А. Никонов, Г.Г. Сидоров, К.А. Андреев // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 4. – С. 105-108.

25. Ивашкин, В.Т. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению осложнений цирроза печени / В.Т. Ивашкин, М.В. Маевская, Ч.С. Павлов, Е.А. Федосына, Е.Н. Бессонова, И.Ю. Пирогова, Д.В. Гарбузенко // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – № 2015. – Т. 26, № 4. – С. 71-102.

26. Ивашкин, В.Т. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению экзокринной недостаточности поджелудочной железы / В.Т. Ивашкин, И.В. Маев, А.В. Охлобыстин, С.А. Алексеенко, Е.В. Белобородова, Ю.А. Кучерявый, Т.Л. Лапина, А.С. Трухманов, И.Б. Хлынов, М.В. Чикунова, А.А. Шептулин,

О.С. Шифрин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2017. – Т. 27, № 2. – С. 54-80.

27. Ивашкин, В.Т. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению хронического панкреатита / В.Т. Ивашкин, И.В. Маев, А.В. Охлобыстин, Ю.А. Кучерявый, А.С. Трухманов, А.А. Шептулин, О.С. Шифрин, Т.Л. Лапина, М.Ф. Осипенко, В.И. Симаненков, И.Б. Хлынов, С.А. Алексеенко, О.П. Алексеева, М.В. Чикунова // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. – 2014. - № 4. – С. 70-97.

28. Калинина Е.В. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, Р. Алеид, М.Д. Новичкова, А.Н. Саприн, Т.Т. Березов // Вестник Российской АМН. – 2010. – № 3. – С. 46-54.

29. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Справочник / В.С. Камышников. – 3-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.

30. Караман, Ю.К. Механизмы адаптации организма к алиментарной высокожировой нагрузке: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.03.01 / Караман Юлия Константиновна. – Владивосток, 2011. – 45 с.

31. Караман, Ю.К. Способ моделирования полиорганной патологии у крыс / Ю.К. Караман, Т.П. Новгородцева, Т.А. Гвозденко, Н.В. Бивалькевич, Е.Г. Лобанова // Пат. № 2453002 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28. – Заявл. 11.01.2011; опубл. 10.06.2012. – Бюл. № 16. – 15 с.

32. Карпищенко, А.И. Медицинские лабораторные технологии: справочник / А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 2002. – 600 с.

33. Кишкун, А.А. Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие / А.А. Кишкун. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 976 с.

34. Климов, А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. – СПб.: Питер Ком, 1999. – 512 с.

35. Клинические рекомендации Минздрава России от 01.01.2020 г. "Хронический панкреатит" (утв. Минздравом России) [Электронный ресурс]. –

2020. – Режим доступа: <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-khronicheskii-pankreatit-utv-minzdravom-rossii/>.

36. Комаров, Ф.И. Практическая гастроэнтерология / Ф.И. Комаров, М.А. Осадчук, А.М. Осадчук. – М.: «МИА», 2010. – 480 с.

37. Корочанская, С.П. Учебно-методическое пособие по биологической химии / С.П. Корочанская, П.Г. Сторожук, И.М. Быков, – Краснодар, 2015. – 81 с.

38. Косюра, С.Д. Хронический алкогольный панкреатит: вопросы диагностики и лечения / С.Д. Косюра, Л.Ю. Ильченко, Г.И. Сторожаков, И.Г. Федоров, Н.С. Шустова, Г.А. Седова, М.А. Чичкина // Гастроэнтерология. – 2012. – № 2. – С. 31-35.

39. Красовский, В.С. Социальные аспекты и качество жизни пациентов с неврологическими осложнениями при хроническом алкоголизме [Электронный ресурс] / В.С. Красовский, С.М. Масютина // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 5. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28164>.

40. Кулинский, В.И. Система глутатиона. I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 255-277.

41. Кучерявый, Ю. Значение мутации N34S в гене SPINK1 в модификации клинического течения хронического панкреатита / Ю. Кучерявый, З. Тибилова, Д. Андреев, А. Смирнов // Врач. – 2013. – № 10. С 28-32.

42. Кучерявый, Ю.А. Мальнутриция при хроническом панкреатите: механизмы патогенеза / Ю.А. Кучерявый // Consilium Medicum. – 2008. – Т. 17, № 8. – С. 42-46.

43. Кучерявый, Ю.А. Пациент с хроническим панкреатитом: ошибки ведения, возможные причины и пути решения / Ю.А. Кучерявый // Гастроэнтерология. – Приложение Consilium medicum. – 2011. – № 1. – С. 46-55.

44. Летуновский А.В. Метаболические изменения в миокарде при экспериментальном алкогольном панкреатите и их коррекция / А.В. Летуновский,

З.И. Микашинович // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. – 2012. - №5. – С. 98-102.

45. Летуновский, А.В. Активность антиоксидантных ферментов эритроцитов при хроническом алкогольном панкреатите / А.В. Летуновский, Е.С. Белоусова, Т.Д. Коваленко, Ю.С. Шавлак // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2006. – Т. 8, № 10. – С. 452-453.

46. Летуновский, А.В. Метаболические изменения в миокарде при экспериментальном алкогольном панкреатите и их коррекция / А.В. Летуновский, З.И. Микашинович // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2012. – №5. – С. 98-102.

47. Летуновский, А.В. Метаболические изменения в органах и крови при алкоголизации и экспериментальном хроническом алкогольном панкреатите / А.В. Летуновский, З.И. Микашинович // Вестник ВолгГМУ. – Т.39, № 3. – 2011. – С. 60-62.

48. Летуновский, А.В. Метаболические изменения в печени при экспериментальном алкогольном панкреатите и их коррекция / А.В. Летуновский // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 6. – С. 90-94.

49. Летуновский, А.В. Новый способ моделирования экспериментального панкреатита / А.В. Летуновский, З.И. Микашинович, Н.С. Панькина // Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI Веке». – Т.12, № 2. – 2010. – С. 233-234.

50. Луганова, И.С. Определение 2,3-ДФГ неэнзиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом / И.С. Луганова, М.Н. Блинов // Лабораторное дело. – 1975. – № 7. – С. 652-654.

51. Маев, И.В. Болезни поджелудочной железы / И.В. Маев, Ю.А. Кучерявый. – М: ГЭОТАР–Медиа, 2009. – 736 с.

52. Маев, И.В. Квашиоркор взрослых при хроническом панкреатите / И.В. Маев, Ю.А. Кучерявый, А.Б. Москалева // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2008. – № 4. С 3-11.

53. Маев, И.В. Теории и гипотезы патогенеза хронического панкреатита / И.В. Маев, Ю.А. Кучерявый // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2005. – № 2. – С. 18-26.

54. Маев, И.В. Хронический панкреатит: мифы и реалии / И.В. Маев, Ю.А. Кучерявый, А.Б. Москалева // Фарматека. – 2010. – № 12. – С. 24-31.

55. Макарова, В.Г. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник / Абрашова Т.В. [и др.]; под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. – СПб: Лема, 2013. – 116 с.

56. Макарова, М.А. Основные гепатологические синдромы в практике врача-интерниста / М.А. Макарова, И.А. Баранова // Consilium medicum. – 2017. – Т. 19, № 8. – С.69-74.

57. Меньшиков, В.В. Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие / В.В. Меньшиков – М.: Лабора, 2009. – т. 3. – 880 с.

58. Меринова, Н.И. Показатели перекисного окисления липидов и глутатионовой антиоксидантной защиты у больных с обострением хронического панкреатита / Н.И. Меринова, Н.М. Козлова, Л.С. Колесниченко, А.И. Сулова, З.А. Леонова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013. – Т. 9, № 2. – С. 259-262.

59. Микашинович, З.И. Биохимические исследования слюны в клинической практике: монография / З.И. Микашинович, А.В. Летуновский, О.О. Волжин, Е.С. Белоусова. – Ростов н/Д.: Изд-во РостГМУ, 2004. – 80 с.

60. Микашинович, З.И. Коррекция метаболических нарушений, вызванных хронической алкоголизацией, препаратом «Тыквеол» / З.И. Микашинович, А.В. Летуновский, Д.А. Воронкин, Е.С. Белоусова // Вестник РУДН, СЕРИЯ Медицина. – 2008. – № 7. – С. 450-454.

61. Микашинович, З.И. Способ моделирования хронического панкреатита / З.И. Микашинович, А.В. Летуновский, Д.А. Воронкин, Е.С. Белоусова, Е.С. Бештанько, И.В. Криволапова // Пат. № 2394280 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28. – Заявл. 21.05.2009; опубл. 10.07.2010. – Бюл. № 19. – 5 с.



62. Микашинович, З.И. Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, И.А. Семенец, А.В. Ромашенко, А.В. Кантария // Пат. № 2733693 С1 Российская Федерация, МПК G 09 В 23/28. – заявитель и патентообладатель Семенец И.А. – Заявл. 16.03.2020; опубл. 06.10.2020. – Бюл. № 28. – 10 с.

63. Минушкин, О.Н. Болезни поджелудочной железы. Этиологические аспекты терапии хронических панкреатитов / О.Н. Минушкин, Л.В. Масловский // *Consilium medicum*. – 2005. – № 6. – С. 444-447.

64. Можейко, Л.А. Механизмы воздействия панкреатит-провоцирующих факторов на ацинарные и звездчатые клетки поджелудочной железы / Л.А. Можейко // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 165-171.

65. Можейко, Л.А. Патогенетические механизмы развития хронического алкогольного панкреатита и формирования камней (обзор литературы) / Л.А. Можейко // *Оренбургский медицинский вестник*. – 2020. – Т. 29, № 1. – С. 5-12.

66. Моисеев, В.С. Алкогольная болезнь: поражение внутренних органов при алкоголизме / В.С. Моисеев. – М., 1990. – 129 с.

67. Нельсон Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1: Основы биохимии, строение и катализ / Д. Нельсон, М. Кокс; пер. с англ. – 3-е изд., испр. – М.: Лаборатория знаний, 2017. – 694 с.

68. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 2: Основы биохимии, биоэнергетика и метаболизм / Д. Нельсон, М. Кокс; пер. с англ. – 3-е изд., испр. – М.: Лаборатория знаний, 2017. – 691 с.

69. Оганезова, И.А. Холецистокардиальный синдром: проблемы дифференциальной диагностики / И.А. Оганезова, С.В. Егорова, Т.Э. Скворцова, О.И. Медведева // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2018. – № 150 (2). – С. 110-114.

70. Окулова, И.И. Влияние алкоголя на организм алкоголизме [Электронный ресурс] / И.И. Окулова, К.И. Шимов, А.М. Исмаилов, Ф.В. Чернощеков,

Л.Ф. Билалова, Е.Н. Рябова, Ю.М. Чобаль, О.А. Суворова, Е.А. Макарова, Т.О. Ходырева, В.А. Рыбина // Международный студенческий научный вестник. – 2017. – № 5. – Режим доступа: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=17347>.

71. Петренко, В.М. Форма и топография поджелудочной железы у крысы / В.М. Петренко // Успехи современного естествознания. – 2012. – № 2. – С. 35-39.

72. Попов, К.А. Способ оценки резистентности организма к воздействию прооксидантных факторов / К.А. Попов, М.И. Быков, А.А. Басов, И.А. Егорова, Е.Е. Есауленко, Е.А. Алескеенко, С.Р. Федосов, И.А. Севостьянов // Пат. № 2629391 С1 Российская Федерация, МПК G 01 N 33/49. – Заявл. 10.03.2017; опубл. 29.08.2017. – Бюл. № 25. – 16 с.

73. Рубцова, А.С. Влияние этанола на метаболизм печени [Электронный ресурс] / А.С. Рубцова, Л.О. Машонина / Материалы XIII Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». – 2021. – Режим доступа: <https://scienceforum.ru/2021/article/2018027605>.

74. Сазонова, Н.В. Сравнительные схемы лечения собак, больных экземой: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.05 / Сазонова Наталья Владимировна. – СПб., 2003. – 19 с.

75. Седова, Г.А. Современные представления о классификации хронического панкреатита / Г.А. Седова, И.Г. Федоров, С.Д. Косюра, Н.С. Шустова, Л.Ю. Ильченко, И.Г. Сторожаков // Доказательная гастроэнтерология. – 2013. – № 1. – С. 62-67.

76. Скворцов, В.В. Диагностика и лечение хронического алкогольного панкреатита / В.В. Скворцов, М.Н. Устинова, У.А. Халилова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – Вып. 144, № 8. – С.45-51.

77. Спасов, А.А. Биологические активные пищевые добавки в гастроэнтерологии: современное состояние проблемы / А.А. Спасов, И.Н. Иёжица, Н.А. Гурова, И.В. Ивахненко // Новые лекарства и новости фармакотерапии. – 2002. - № 1. – С. 27-40.

78. Справочник Видаль 2022. Лекарственные препараты в России / под ред. Е.А. Толмачева. – М.: Видаль Рус, 2022. – 1120 с.
79. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / под ред. Камышникова В.С. – М.: «МЕДпресс-информ», 2004. – 920 с.
80. Справочник по лабораторным методам исследований / под ред. Л.А. Даниловой – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.
81. Тропина, И.В. Эндогенная интоксикация у больных с постнекротическими кистами поджелудочной железы / И.В. Тропина, С.В. Морозов, В.Т. Долгих, В.Л. Полуэктов, А.В. Ершов // Вестник ВолгГМУ. – 2010. – Т. 33, № 1. – С. 97-98.
82. Тюрюмин, Я.Л. Физиология обмена холестерина (обзор) / Я.Л. Тюрюмин, В.А. Шантуров, Е.Э. Тюрюмина // Acta Biomedica Scientifica. – 2012. - № 2-1. – С. 153-158.
83. Уилсон, К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / К. Уилсон, Дж. Уолкер. - 2-е изд. (эл.). – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2015. – 855 с.
84. Черенова, Л.П. Применение Тыквеола в лечении больных вирусными гепатитами / Л.П. Черенова, Х.М. Галимзянов, М.А. Михалева // Эффективная фармакотерапия. – 2009. – № 9. – С. 28-31.
85. Чеснокова, Н.П. Метаболические особенности эритроцитов / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1-2. – С. 331-332.
86. Шабанов, П.Д. Наркология: Практическое руководство для врачей / П.Д. Шабанов. – М.: ГЭОТАР-МЕД. – 2003. – 560 с.
87. Шевченко, Е.А. Алкоголизм как фактор развития и распространения заболеваний (обзор литературы) [Электронный ресурс] / Е.А. Шевченко, Т.Е. Потемина, О.А. Успенская, В.В. Курылев, П.О. Рудая // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2015. – № 1. Публикация № 3-1. – Режим доступа: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5060.pdf>.

88. Юсупова, Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов / Л.Б. Юсупова // Лабораторное дело. – 1989. – № 4. – С. 19-21.

89. Adewale, A. Kidney injury, fluid, electrolyte and acid-base abnormalities in alcoholics / A. Adewale, O. Ifudu // Nigerian Medical Journal: Journal of the Nigeria Medical Association. – 2014. – Vol. 55, № 2. – P. 93-98.

90. Afonso, M.S. Molecular Pathways Underlying Cholesterol Homeostasis [Электронный ресурс] / M.S. Afonso, R.M. Machado, M.S. Lavrador, E.C.R. Quintao, K.J. Moore, A.M. Lottenberg // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, № 6. – Режим доступа: <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/6/760>.

91. AlSharari, S.D. Rutin Attenuates Hepatotoxicity in High-Cholesterol-Diet-Fed Rats [Электронный ресурс] / S.D. AlSharari, S.S. Al-Rejaie, H.M. Abuohashish, M.M. Ahmed, M.M. Hafez // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2016. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2016/5436745>.

92. Altunkaynak, M.E. The effects of high-fat diet on the renal structure and morphometric parametric of kidneys in rats / M.E. Altunkaynak, E. Ozbek, B.Z. Altunkaynak, I. Can, D. Unal, B. Unal // Journal of Anatomy. – 2008. – Vol. 212, № 6. – P. 845-852.

93. Antonucci, E. Myocardial depression in sepsis: From pathogenesis to clinical manifestations and treatment / E. Antonucci., E. Fiaccadori, K. Donadello [et all.] // J Crit Care. – 2014. – № 29 (4). – P. 500-511.

94. Apte, M.V. Alcohol and the Pancreas [Электронный ресурс] / M.V. Apte, R.C. Pirola, J.S. Wilson // Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base. – 2016. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3998/panc.2016.17>.

95. Arias, C.F. How do red blood cells know when to die? [Электронный ресурс] / C.F. Arias, C.F. Arias // Royal Society Open Science. – 2015. – Vol. 4, № 4: 160850. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1098/rsos.160850>.

96. Arteel, G.E. Coexistent Alcohol-Related Liver Disease and Alcohol-Related Pancreatitis: Analysis of a Large Health Care System Cohort [Электронный ресурс] / G.E. Arteel, A. Singhvi, R. Feldman, A.D. Althouse, R. Bataller, M. Saul, D. Yadav //

Digestive Diseases and Sciences. – 2021. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s10620-021-07010-5>.

97. Bandiera, S. Hepatic and renal damage by alcohol and cigarette smoking in rats / S. Bandiera, R.R. Pulcinelli, F. Huf, F.B. Almeida, G. Halmenschlager, P.E.R. Bitencourt, E. Dallegrave, M.C. Fernandes, R. Gomez, M.S. Nin // *Toxicological Research*. – 2020. – Vol. 37, № 2. – P. 209-219.

98. Bonizzi, A. HDL Dysfunctionality: Clinical Relevance of Quality Rather Than Quantity [Электронный ресурс] / A. Bonizzi, G. Piuri, F. Corsi, R. Cazzola, S. Mazzucchelli // *Biomedicines*. – 2021. – Vol. 9, № 7: 729. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9070729>.

99. Bouamar, S. Anti-inflammatory properties of the carotenoids and polyphenols of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne) / S. Bouamar, M. Mokhtar, N. Bouziane, K. Boukazzoula, A. Riazi // *South Asian Journal of Experimental Biology*. – 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 100-106.

100. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // *Anal. Biochem*. – 1976. – Vol. 72. – P. 248-254.

101. Brandon-Warner, E. Rodent models of alcoholic liver disease: of mice and men / E. Brandon-Warner, L.W. Schrum, C.M. Schmidt, I.H. McKillop // *Alcohol*. – 2012. – Vol. 46, № 8. – P. 715-725.

102. Brites, F. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit / F. Brites, M. Martin, I. Guillas, A. Kontush // *BBA Clinical*. – 2017. – Vol. 8. – P. 66-77.

103. Brock, O. Pathophysiology of chronic pancreatitis / O. Brock, L.M. Nielsen, D. Lelic, A. M. Drewes // *World Journal of Gastroenterology*. – 2013. – Vol. 19. – P. 7231-7240.

104. Buğdacı, M.S. QT interval changes and reversibility of QT dispersion in patients with acute pancreatitis / M.S. Buğdacı, A. Tuzun, H. Koca [et all.] // *Turk J. Gastroenterol*. – 2014. – № 25. – P. 59–62.

105. Bulle, S. Nephro-protective action of *P. santalinus* against alcohol-induced biochemical alterations and oxidative damage in rats / S. Bulle, V.D. Reddy, A.V. Hebbani, P. Padmavathi, C. Challa, P.K. Puvvada, E. Repalle, D. Nayakanti, C. Aluganti, Narasimhulu, V. Nallanchakravarthula // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. – 2016. – Vol. 84. – P. 740-746.

106. Caraway, W.T. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids / Caraway W.T. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1959. – Vol. 32, № 1. – P. 97-99.

107. Cedó, L. Molecular insights into the mechanisms underlying the cholesterol-lowering effects of phytosterols / L. Cedó, M. Farràs, M. Lee-Rueckert, J.C. Escolà-Gil // *Current Medicinal Chemistry*. – 2019. – Vol. 26, № 37. – P. 6704-6723.

108. Clinkinbeard, T. A Mouse Model of Chronic Pancreatitis Induced by an Alcohol and High Fat Diet / T. Clinkinbeard, R.H. Kline, L.P. Zhang, S.L. McIlwrath, J.F. Watkins, K.N. Westlund // *The Open Pain Journal*. – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 81-89.

109. Clugston, R.D. CD36-deficient mice are resistant to alcohol- and high-carbohydrate-induced hepatic steatosis / R.D. Clugston, J.J. Yuen, Y. Hu, N.A. Abumrad, P.D. Berk, I.J. Goldberg, W.S. Blaner, L.S. Huang // *Journal of Lipid Research*. – 2014. – Vol. 55, № 2. – P. 239-246.

110. Çöl, C. Oxidative stress and lipid peroxidation products: Effect of pinealectomy or exogenous melatonin injections on biomarkers of tissue damage during acute pancreatitis / C. Çöl, K. Dinler, O. Hasdemir, O. Büyükaşık, G. Buğdayci // *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* – 2010. – Vol. 9, № 8. – P. 78-82.

111. Criddle, D.N. The role of fat and alcohol in acute pancreatitis: A dangerous liaison [Электронный ресурс] / D.N. Criddle // *Pancreatology*. – 2015. – Vol. 15, Iss. 4:S6-S12. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.pan.2015.02.009>.

112. Csonka, C. Isolated hypercholesterolemia leads to steatosis in the liver without affecting the pancreas [Электронный ресурс] / C. Csonka, T. Baranyai, L. Tiszlavicz, H. Fébel, G. Szűcs, Z.V. Varga, M. Sárközy, L.G. Puskás, O. Antal, A. Siska, I. Földesi,

P. Ferdinandy, L. Czakó, T. Csont // *Lipids Health Dis.* – 2027. – Vol. 16, № 1: 144. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0537-z>.

113. Csonka, C. Modulation of hypercholesterolemia-induced oxidative/nitrative stress in the heart [Электронный ресурс] / C. Csonka, M. Sárközy, M. Pipicz, L. Dux, T. Csont // *Oxidative Med Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016: 3863726. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2016/3863726>.

114. Demonty, I. Continuous Dose-Response Relationship of the LDL-Cholesterol-Lowering Effect of Phytosterol Intake / I. Demonty, R.T. Ras, H.C.M. van der Knaap, G.S.M.J.E. Duchateau, L. Meijer, P.L. Zock, J.M. Geleijnse, E.A. Trautwein // *The Journal of Nutrition.* – 2009. – Vol. 139, № 2. – P. 271-284.

115. Detlefsen, S. Fibrogenesis in alcoholic chronic pancreatitis: the role of tissue necrosis, macrophages, myofibroblasts and cytokines / S. Detlefsen, B. Spos, B. Feyeraend [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2006. – Vol. 19, № 8. – P. 1019–1026.

116. Dong, X.J. The composition and anti-inflammatory properties of pumpkin seeds / X.J. Dong, J.Y. Chen, S.F. Chen, Y. Li, X.J. Zhao // *Journal of Food Measurement and Characterization.* – 2021. – Vol. 15, № 2. – P. 1834-1842.

117. Dumolt, J.H. Maternal hypercholesterolemia enhances oxysterol concentration in mothers and newly weaned offspring but is attenuated by maternal phytosterol supplementation / J.H. Dumolt, S.K. Radhakrishna, M.H. Moghadasian, K. Le, M.S. Patel, R.W. Browne, T.C. Rideout // *The Journal of Nutritional Biochemistry.* – 2018. – Vol. 52. – P. 10-17.

118. Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82. – P. 70-77.

119. Fan, Z. Alcohol Consumption Can be a "Double-Edged Sword" for Chronic Kidney Disease Patients / Z. Fan, J. Yun, S. Yu, Q. Yang, L. Song // *Medical Science Monitor.* – 2019. – Vol. 25. – P. 7059-7072.

120. Fernández-García, J.C. Inflammation, oxidative stress and metabolic syndrome: dietary modulation / J.C. Fernández-García, F. Cardona, F.J. Tinahones // *Current Vascular Pharmacology.* – 2013. – Vol. 11, № 6. – P. 906-919.

121. Foster, J.R. A review of animal models of nonneoplastic pancreatic diseases / J.R. Foster // *Toxicology Pathology*. – 2014. – Vol. 42, № 1. – P. 243-259.

122. Fridwald, W.T. Estimation of the concentration of lowdensitylipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge / W.T. Fridwald, R.J. Levy, D.S. Fredrickson // *Clinical Chem.* – 1972. – Vol. 18. – P. 499-502.

123. Friedemann, T.E. Pyruvic acid II. The determination of keto acids in blood and urine / T.E. Friedemann, G.E. Hauger // *J. Biol. Chem.* – 1943. – Vol. 147, № 18. – P. 415-442.

124. Gossell-Williams, M. Improvement in HDL cholesterol in postmenopausal women supplemented with pumpkin seed oil: pilot study / M. Gossell-Williams, C. Hyde, T. Hunter, D. Simms-Stewart, H. Fletcher, D. McGrowder, C.A. Walters // *Climacteric*. – 2011. – Vol. 14, № 5. – P. 558-564.

125. Grauvogel, J. Chronic alcohol intake increases the severity of pancreatitis induced by acute alcohol administration, hyperlipidemia and pancreatic duct obstruction in rats / J. Grauvogel, T.D. Daemrich, E. Ryschich, M.M. Gebhard, J. Werner // *Pancreatology*. – 2010. – Vol. 10, № 5. – P. 603-612.

126. Gukovsky, I. Organellar dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis / I. Gukovsky, S.J. Pandol, A.S. Gukovskaya // *Antioxid Redox Signal*. – 2011. – № 15(10). – P. 2699-710.

127. Han, Q. Dysregulation of cardiac lipid parameters in high-fat high-cholesterol diet-induced rat model [Электронный ресурс] / Q. Han, S.C. Yeung, M.S.M. Ip, J.C.W. Mak // *Lipids in Health and Disease*. – 2018. – Vol. 255, № 17. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0905-3>.

128. Haseeb, S. Wine and Cardiovascular Health: A Comprehensive Review [Электронный ресурс] / S. Haseeb, B. Alexander, A. Baranchuk // *Circulation*. – 2017. – Vol. 136, № 15. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030387>.

129. Holm, T.M. Failure of red blood cell maturation in mice with defects in the high-density lipoprotein receptor SR-BI / T.M. Holm, A. Braun, B.L. Trigatti,



C. Brugnara, M. Sakamoto, M. Krieger, N.C. Andrews // *Blood*. – 2002. – Vol. 99, № 5. – P. 1817-1824.

130. Hyun, J. Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver [Электронный ресурс] / J. Hyun, J. Han, C. Lee, M. Yoon, Y. Jung // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 11: 5717. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms22115717>.

131. Jaffe, M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure im normalen Harn erzeugt, und über eine neue Reaction des Kreatinins / M. Jaffe // *Zeitschrift für Physiologische Chemie*. – 1886. – Vol. 10. – P. 391-400.

132. Jeon, S. Alcohol effects on hepatic lipid metabolism / S. Jeon, R. Carr // *Journal of Lipid Research*. – 2020. – Vol. 61, № 4. – P. 470-479.

133. Jiang, Z. Glucose-lowering activity of novel tetrasaccharide glyceroglycolipids from the fruits of *Cucurbita moschata* / Z. Jiang, Q. Du // *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. – 2011. – Vol. 21, № 3. – P. 1001-1003.

134. Kempaiah, R.K. Influence of dietary curcumin, capsaicin and garlic on the antioxidant status of red blood cells and the liver in high-fat-fed rats / R.K. Kempaiah, K. Srinivasan // *Annals of Nutrition and Metabolism*. – 2004. – Vol. 48, № 5. – P. 314-320.

135. Kono, H. Development of an animal model of chronic alcohol-induced pancreatitis in the rat [Электронный ресурс] / H. Kono, M. Nakagami, I. Rusyn, H.D. Connor, B. Stefanovic, D.A. Brenner, R.P. Mason, G.E. Arteel, R.G. Thurman // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. – 2001. – Vol. 280, № 6: G1178-86. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.280.6.G1178>.

136. Kris-Etherton, P.M. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations / P.M. Kris-Etherton, T.A. Pearson, Y. Wan, R.L. Hargrove, K. Moriarty, V. Fishell, T.D. Etherton // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 1999. – Vol. 70, № 6. – P. 1009-1015.

137. Lasker, S. High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation [Электронный ресурс] / S. Lasker, M.M. Rahman, F. Parvez, M. Zamila, P. Miah, K. Nahar, F. Kabir,

S.B. Sharmin, N. Subhan, G.U. Ahsan, M.A. Alam // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9, № 1: 20026. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56538-0>.

138. Latchoumycandane, C. Chronic ethanol ingestion induces oxidative kidney injury through taurine-inhibitable inflammation / C. Latchoumycandane, L.E. Nagy, T.M. McIntyre // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2014. – Vol. 69. – P. 403-416.

139. Levitt D.G. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease / D.G. Levitt, M.D. Levitt // *Clinical and Experimental Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 7. – P. 307-328.

140. Levitt, D.G. A model of blood-ammonia homeostasis based on a quantitative analysis of nitrogen metabolism in the multiple organs involved in the production, catabolism, and excretion of ammonia in humans / D.G. Levitt, M.D. Levitt // *Clin Exp Gastroenterol*. – 2018. – Vol. 11. – P. 193-215.

141. Lévy, P. Epidemiology of chronic pancreatitis: burden of the disease and consequences / P. Lévy, E. Domínguez-Muñoz, C. Imrie, M. Löhr, P. Maisonneuve // *UEG Journal*. – 2014. – Vol. 2, № 5. – P. 345-354.

142. Lieber, C.S. Role of dietary, adipose, and endogenously synthesized fatty acids in the pathogenesis of the alcoholic fatty liver / C.S. Lieber, N. Spritz, L.M. DeCarli // *Journal of Clinical Investigation*. – 1966. – Vol. 45, № 1. – P. 51-62.

143. Lowry, C. Protein measurement with the folin phenol reagent / C. Lowry, N. Rosebrough, R. Randall // *J. Biol. Chem*. – 1953. – Vol. 193. – P. 265-275.

144. Luo, J. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis / J. Luo, H. Yang, B.L. Song // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2020. – Vol. 21, № 4. – P. 225-245.

145. Madariaga, Y. Assessment of four experimental models of hyperlipidemia / Y. Madariaga, M. Cárdenas, M. Irsula, O. Alfonso, B. Cáceres, E. Morgado // *Laboratory Animals*. – 2015. – Vol 44. – P. 135-140.

146. Majid, A.K. Effect of pumpkin seed oil on cholesterol fractions and systolic/diastolic blood pressure [Электронный ресурс] / A.K. Majid, Z. Ahmed, R. Khan // *Food Science and Technology (Campinas)*. – 2020. – Vol. 40, № 3. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1590/fst.03720>.

147. Maki, T. Experimental study on alcoholic pancreatitis / T. Maki, G. Kakizaki, T. Sato, Y. Saito, T. Onuma // *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. – 1967. – Vol. 92, № 4. – P. 415-421.

148. Makni, M. Hypolipidemic and hepatoprotective effects of flax and pumpkin seed mixture rich in omega-3 and omega-6 fatty acids in hypercholesterolemic rats / M. Makni, H. Fetoui, N.K. Gargouri, M. Garoui el, H. Jaber, J. Makni, T. Boudawara, N. Zeghal // *Food and Chemical Toxicology*. – 2008. – Vol. 46, № 12. – P. 3714-3720.

149. Malhotra, P. Disturbances in Cholesterol Homeostasis and Non-alcoholic Fatty Liver Diseases / P. Malhotra, R.K. Gill, S. Saksena, W.A. Alrefai // *Front Med (Lausanne)*. – 2020. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00467>.

150. Mamun, M.A.A. High Carbohydrate High Fat Diet Induced Hepatic Steatosis and Dyslipidemia Were Ameliorated by Psidium guajava Leaf Powder Supplementation in Rats [Электронный ресурс] / M.A.A. Mamun, M. Faruk, M.M. Rahman, K. Nahar, F. Kabir, M.A. Alam, N. Subhan // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – 2019. – Vol. 2019. – P. 12. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2019/1897237>.

151. Men, X. Physicochemical, nutritional and functional properties of Cucurbita moschata / X. Men, S.I. Choi, X. Han, H.Y. Kwon, G.W. Jang, Y.E. Choi, S.M. Park, O.H Lee // *Food Science and Biotechnology*. – 2020. – Vol. 30, № 2. – P. 171-183.

152. Meurs, I. HDL cholesterol levels are an important factor for determining the lifespan of erythrocytes / I. Meurs, M. Hoekstra, E.J. van Wanrooij, R.B. Hildebrand, J. Kuiper, F. Kuipers, M.R. Hardeman, T.J. van Berkel, M. van Eck // *Experimental Hematology*. – 2005. – Vol. 33, № 11. – P. 1309-1319.

153. Mohanty, J.G. Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging [Электронный ресурс] / J.G. Mohanty, E. Nagababu, J.M. Rifkind // *Frontiers in Physiology*. – 2014. – Vol. 5: 84. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00084>.

154. Mokhtar, M. The Influence of Ripeness on the Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pumpkins (*Cucurbita moschata* Duchesne) [Электронный ресурс] / M. Mokhtar, S. Bouamar, A. Di Lorenzo, C. Temporini,

M. Daglia, A. Riazi // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 12: 3623. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules26123623>.

155. Mollapour, E. Activation and priming of neutrophil nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase and phospholipase A(2) are dissociated by inhibitors of the kinases p42(ERK2) and p38(SAPK) and by methyl arachidonyl fluorophosphate, the dual inhibitor of cytosolic and calcium-independent phospholipase A(2) / E. Mollapour, D.C. Linch, P.J. Roberts // *Blood*. – 2001. – Vol. 97, № 8. – P. 2469-2477.

156. Munshi, R.P. Development of an experimental diet model in rats to study hyperlipidemia and insulin resistance, markers for coronary heart disease / R.P. Munshi, S.G. Joshi, B.N. Rane // *Indian Journal of Pharmacology*. – 2014. – Vol. 46, № 3. – P. 270-276.

157. Nakanuma, Y. A novel approach to biliary tract pathology based on similarities to pancreatic counterparts: is the biliary tract an incomplete pancreas? / Y. Nakanuma // *Pathology International*. – 2010. – Vol. 60, № 6. – P. 419-429.

158. Nissinen, M. Micellar distribution of cholesterol and phytosterols after duodenal plant stanol ester infusion [Электронный ресурс] / M. Nissinen, H. Gylling, M. Vuoristo, T. A. Miettinen // *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2002. – Vol. 282, № 6: G1009-G1015. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00446.2001>.

159. Osterreicher, C.H. Genetic polymorphisms of manganese-superoxide dismutase and glutathione-S-transferase in chronic alcoholic pancreatitis / C.H. Osterreicher, J. Schultheiss, M.H. Wehler, N. Homann, C. Hellerbrand, B. Künzli, H. Friess, H.K. Seitz, F. Stickel // *Mutagenesis*. – 2007. – № 22 (5). – P. 305-310.

160. Otunola, G.A. Effects of diet-induced hypercholesterolemia on the lipid profile and some enzyme activities in female Wistar rats / G.A. Otunola, O.B. Oloyede, A.T. Oladiji, A.A. Afolayan // *African Journal of Biochemistry Research*. – 2010. – Vol. 4, № 6. – P. 149-154.

161. Ozbek, E. Induction of oxidative stress in kidney [Электронный ресурс] / E. Ozbek // Journal of Hepatology. – 2012. – Vol. 2012: 465897. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2012/465897>.

162. Özbek, Z.A. Chapter 18 - Cold pressed pumpkin seed oil [Электронный ресурс] / Z.A. Özbek, P.G. Ergönül // Cold Pressed Oils. Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality, and Applications (Ed. Ramadan M.F.). – 2020. –P. 219-229. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818188-1.00018-9>.

163. Page, B.J. An immunocytochemical profile of the endocrine pancreas using an occlusive duct ligation model / B.J. Page, D.F. Toit, C.J.F. Muller, J. Mattysen, R. Lyners // Journal of the Pancreas. – 2000. – Vol. 4, № 1. – P. 191-203.

164. Phillips, K.M. Phytosterol Composition of Nuts and Seeds Commonly Consumed in the United States / K.M. Phillips, D.M. Ruggio, M. Ashraf-Khorassani // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2005. – Vol. 53, № 24. – P. 9436-9445.

165. Poupon, R. Liver alkaline phosphatase: a missing link between cholestasis and biliary inflammation / R. Poupon // Hepatology. – 2015. – Vol. 61, № 6. – P. 2080-2090.

166. Ras, R. LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols across different dose ranges: A meta-analysis of randomised controlled studies / R. Ras, J. Geleijnse, E. Trautwein // British Journal of Nutrition. – 2014. – Vol. 112, № 2. – P. 214-219.

167. Rasineni K. Recent Advances in Understanding the Complexity of Alcohol-Induced Pancreatic Dysfunction and Pancreatitis Development [Электронный ресурс] / K. Rasineni, M.P. Srinivasan, A.N. Balamurugan, B.S. Kaphalia, S. Wang, W.X. Ding, S.J. Pandol, A. Lugea, L. Simon, P.E. Molina, P. Gao, C.A. Casey, N.A. Osna, K.K. Kharbanda // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10, № 5: 669. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/biom10050669>.

168. Rolnik, A. Vegetables from the Cucurbitaceae family and their products: Positive effect on human health [Электронный ресурс] / A. Rolnik, B. Olas // Nutrition Journal. – 2020. – Vol. 78: 110788. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110788>.

169. Ronis, M.J. Effects of long-term ethanol administration in a rat total enteral nutrition model of alcoholic liver disease [Электронный ресурс] / M.J. Ronis, L. Hennings, B. Stewart, A.G. Basnakian, E.O. Apostolov, E. Albano, T.M. Badger, D.R. Petersen // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2011. – Vol. 300, № 1: G109-G119. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00145.2010>.

170. Sabitha, P. Effect of high fat diet without cholesterol supplementation on oxidative stress and lipid peroxidation in New Zealand white rabbits / P. Sabitha, D.M. Vasudevan, P. Kamath // Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. – 2010. – Vol. 17, № 2. – P. 213-218.

171. Salehi, B. Antioxidant potential of family Cucurbitaceae with special emphasis on Cucurbita genus: A key to alleviate oxidative stress-mediated disorders / B. Salehi, C. Quispe, J. Sharifi-Rad, L. Giri, R. Suyal, A.K. Jugran, P. Zucca, A. Rescigno, S. Peddio, O. Bobiş, A.R. Moise, G. Leyva-Gómez, M.L. Del Prado-Audelo, H. Cortes, M. Iriti, M. Martorell, N. Cruz-Martins, M. Kumar, W. Zam // Phytotherapy Research. – 2021. – Vol. 35, № 7. – P. 3533-3557.

172. Salehi, B. Cucurbits Plants: A Key Emphasis to Its Pharmacological Potential [Электронный ресурс] / B. Salehi, E. Capanoglu, N. Adrar, G. Catalkaya, S. Shaheen, M. Jaffer, L. Giri, R. Suyal, A.K. Jugran, D. Calina, A.O. Docea, S. Kamiloglu, D. Kregiel, H. Antolak, E. Pawlikowska, S. Sen, K. Acharya, Z. Selamoglu, J. Sharifi-Rad, M. Martorell, C.F. Rodrigues, F. Sharopov, N. Martins, R. Capasso // Molecules. – 2019. – Vol. 24, № 10: 1854. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules24101854>.

173. Sharma, I. New Pandemic: Obesity and Associated Nephropathy [Электронный ресурс] / I. Sharma, Y. Liao, X. Zheng, Y.S. Kanwar // Front Med (Lausanne). – 2021. – Vol. 8: 673556. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.673556>.

174. Silva, F.C. Influence of the Alcohol Present in a Phytotherapeutic Tincture on Male Rat Lipid Profiles and Renal Function [Электронный ресурс] / F.C. Silva, J.G. de Lara de Souza, A.M. Reichert, R.P. Antonangelo, R. Suzuki, A.M. Itinose,

C.B. Marek // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2015. – Vol. 2015: 762373, 11 pages. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2015/762373>.

175. Singhvi, A. Coexistence of alcohol-related pancreatitis and alcohol-related liver disease: A systematic review and meta-analysis / A. Singhvi, R. Abromitis, A.D. Althouse, R. Bataller, G.E. Arteel, D. Yadav // Pancreatology. – 2020. – Vol. 20, № 6. – P. 1069-1077.

176. Soran, H. Antioxidant properties of HDL [Электронный ресурс] / H. Soran, J.D. Schofield, P.N. Durrington // Frontiers in Pharmacology – 2015. – Vol. 6: 222. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00222>.

177. Stevens, T. Endoscopic ultrasound for the diagnosis of chronic pancreatitis / T. Stevens, M.A. Parsi // World J. Gastroenterol. – 2010. – Vol. 16, № 23. – P. 2841-2850.

178. Stevenson, D.K. Bilirubin production and the risk of bilirubin neurotoxicity / D.K. Stevenson, H.J. Vreman, R.J. Wong // Semin Perinatol. – 2011. – Vol. 35, № 3. – P. 121-126.

179. Sticova, E. New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications / E. Sticova, M. Jirsa // World J Gastroenterol. – 2013. – Vol. 38, № 19. – P. 6398-6407.

180. Sucedaram, Y. Exposure to High-Fat Style Diet Induced Renal and Liver Structural Changes, Lipid Accumulation and Inflammation in Intact and Ovariectomized Female Rats / Y. Sucedaram, E.J. Johns, R. Husain, M. Abdul Sattar, M.H. Abdulla, G. Nelli, N.S. Rahim, M. Khalilpourfarshbafi, N.A. Abdullah // Journal of Inflammation Research. – 2021. – Vol. 14. – P. 689-710.

181. Tanczos, B. Changes of Hematological and Hemorheological Parameters in Rabbits with Hypercholesterolemia [Электронный ресурс] / B. Tanczos, V. Somogyi, M. Bombicz, B. Juhasz, N. Nemeth, A. Deak // Metabolites. – 2021. – Vol. 11, № 4: 249. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/metabo11040249>.

182. Thomes, P.G. Ethanol withdrawal mitigates fatty liver by normalizing lipid catabolism [Электронный ресурс] / P.G. Thomes, K. Rasineni, L. Yang, T.M. Jr. Donohue, J.L. Kubik, M.A. McNiven, C.A. Casey // American Journal of

Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2019. – Vol. 316, № 4: G509-G518. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00376.2018>.

183. Tremblay, A.J. Atorvastatin increases intestinal expression of NPC1L1 in hyperlipidemic men / A.J. Tremblay, B. Lamarche, V. Lemelin, L. Hoos, S. Benjannet, N.G. Seidah, H.R. Jr. Davis, P. Couture // *Journal of Lipid Research*. – 2011. – Vol. 52, № 3. – P. 558-565.

184. Tsukamoto H. Potentiation of ethanol-induced pancreatic injury by dietary fat. Induction of chronic pancreatitis by alcohol in rats / H. Tsukamoto, S.J. Towner, G.S. Yu, S.W. French // *The American Journal of Pathology*. – 1988. – Vol. 131, № 2. – P. 246-257.

185. Turpin, C. Erythrocytes: Central Actors in Multiple Scenes of Atherosclerosis [Электронный ресурс] / C. Turpin, A. Catan, O. Meilhac, E. Bourdon, F. Canonne-Hergaux, P. Rondeau // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 11: 5843. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms22115843>.

186. Unruh, D. Red Blood Cell Dysfunction Induced by High-Fat Diet: Potential Implications for Obesity-Related Atherosclerosis / D. Unruh, R. Srinivasan, T. Benson, S. Haigh, D. Coyle, N. Batra, R. Keil, R. Sturm, V. Blanco, M. Palascak, R.S. Franco, W. Tong, T. Chatterjee, D.Y. Hui, W.S. Davidson, B.J. Aronow, T. Kalfa, D. Manka, A. Peairs, A. Blomkalns, D.J. Fulton, J.E. Brittain, N.L. Weintraub, V.Y. Bogdanov // *Circulation*. – 2015. – Vol. 132, № 20. – P. 1898-1908.

187. Vitek, L. The heme catabolic pathway and its protective effects on oxidative stress-mediated diseases / L. Vitek, H.A. Schwertner // *Advances in Clinical Chemistry*. – 2007. – Vol. 43. – P. 1-57.

188. Walczewska, A. Effect of dietary fats on oxidative-antioxidative status of blood in rats / A. Walczewska, B. Dziedzic, T. Stepień, E. Swiatek, D. Nowak // *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. – 2010. – Vol. 47, № 1. – P. 18-26.

189. Watchko, J.F. Bilirubin-induced neurologic damage--mechanisms and management approaches / J.F. Watchko, C. Tiribelli // *The New England Journal of Medicine*. – 2013. – Vol. 369, № 21. – P. 2021-2030.



190. Willard, M.D. 9 - Gastrointestinal, Pancreatic, and Hepatic Disorders / M.D. Willard, Twedt D.C. // Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods (Fifth Edition). – 2012. – P. 191-225.

191. You, M. Effect of ethanol on lipid metabolism / M. You, G.E. Arteel // Journal of Hepatology. – 2019. – Vol. 70, № 2. – P. 237-248.

192. Zhan, X. Animal models of gastrointestinal and liver diseases. Animal models of acute and chronic pancreatitis / X. Zhan, F. Wang, Y. Bi, B. Ji // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2016. – Vol. 311, № 3. – P. 343-355.

193. Żorniak, M. What Do We Currently Know about the Pathophysiology of Alcoholic Pancreatitis: A Brief Review / M. Żorniak, S. Sirtl, J. Mayerle, G. Beyer // Visceral Medicine. – 2020. – Vol. 36, № 3. – P. 182-190.

194. Геворкян, А.Г. Развитие инфаркта миокарда при остром панкреатите на фоне синдрома длительного раздавливания / А.Г. Геворкян, В.О. Барсегян, Р.Л. Айрапетян, Н.Х. Алчуджян, Н.О. Мовсесян, Г.А. Геворкян // Медицинская наука Армения НАН РА. – 2015. – Т. LV, № 1. – С. 36-45.

195. Лабораторный практикум по биохимии и биофизике / В.И. Резяпкин [и др.]; Гродненский гос. ун-т им. Янки Купалы ; под. ред. И.Б. Заводник. – Гродно: ГрГУ, 2009. – 175 с.

196. Макаручук, В.А. Содержание NCAM в головном мозге и поджелудочной железе крыс в условиях эндогенной интоксикации при экспериментальном хроническом панкреатите / В.А. Макаручук, Г.А. Ушакова // Visnyk of Dnipropetrovsk University Biology ecology. – 2014. – Т. 22, № 2. – С. 169-177.

197. Можейко, Л.А. Состав дуктального секрета поджелудочной железы при хронических панкреатитах алкогольной этиологии / Л.А. Можейко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2019. – Т. 17, № 5. – С. 495-499.

198. Ошмянская, Н.Ю. Особенности гибели и регенерации клеток поджелудочной железы на ранних этапах развития алкогольного хронического панкреатита / Н.Ю. Ошмянская, А.А. Галинский, Ю.А. Гайдар // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2014. – Т. 2, № 5. – С. 138-142.

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2618401

СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО  
ПАНКРЕАТИТА АЛКОГОЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *Микашинович Зоя Ивановна (RU), Летуновский Андрей Владимирович (RU), Ромашенко Артем Викторович (RU)*

Заявка № 2016107284

Приоритет изобретения 29 февраля 2016 г.

Дата государственной регистрации в


Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 03 мая 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 29 февраля 2036 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев





## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2695073

## Способ ранней диагностики нарушения углеводного обмена

Патентообладатели: *Телесманич Наталья Робертовна (RU), Коновальчик Мария Алексеевна (RU), Микашинович Зоя Ивановна (RU), Криволапова Эвелина Германовна (RU), Ромашенко Артем Викторович (RU)*

Авторы: *Телесманич Наталья Робертовна (RU), Коновальчик Мария Алексеевна (RU), Микашинович Зоя Ивановна (RU), Криволапова Эвелина Германовна (RU), Ромашенко Артем Викторович (RU)*

Заявка № 2018121386

Приоритет изобретения 08 июня 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 19 июля 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 08 июня 2038 г.



Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2733693

**Способ моделирования эссенциальной гиперхолестеринемии**Патентообладатель: *Семенец Инна Александровна (RU)*

Авторы: *Микашинович Зоя Ивановна (RU), Белоусова Елена Сергеевна (RU), Семенец Инна Александровна (RU), Ромашенко Артем Викторович (RU), Кантария Автандил Велодиевич (RU)*

Заявка № 2020111021

Приоритет изобретения 16 марта 2020 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 06 октября 2020 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 16 марта 2040 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

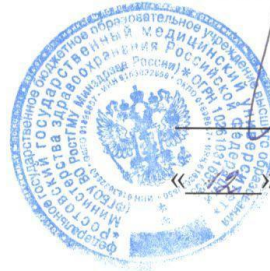


«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной работе

ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,

Н.В. Дроботя




2022 г.

## АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Основные результаты диссертационной работы Ромашенко Артема Викторовича «Комплексная оценка метаболических изменений при экспериментальном токсическом панкреатите и способы их возможной коррекции», выполненной в Ростовском государственном медицинском университете на кафедре общей и клинической биохимии №1, используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Заведующий кафедрой  
патологической физиологии  
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный работник высшей школы  
Российской Федерации

  
В.Г. Овсянников



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной работе

ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,

Н.В. Дроботя



« 15 » 12 2022 г.

## АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Основные результаты диссертационной работы Ромашенко Артема Викторовича «Комплексная оценка метаболических изменений при экспериментальном токсическом панкреатите и способы их возможной коррекции», выполненной в Ростовском государственном медицинском университете на кафедре общей и клинической биохимии №1, используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Заведующий кафедрой фармакологии и  
клинической фармакологии  
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России  
доктор медицинских наук, доцент

А.В. Сафроненко

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной работе

ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,

Н.В. Дроботя



« 26 » \_\_\_\_\_ 2022 г.

## АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Основные результаты диссертационной работы Ромашенко Артема Викторовича «Комплексная оценка метаболических изменений при экспериментальном токсическом панкреатите и способы их возможной коррекции», выполненной в Ростовском государственном медицинском университете на кафедре общей и клинической биохимии №1, используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

И.о. заведующего кафедры общей и  
клинической биохимии №1  
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России  
доктор медицинских наук, доцент

О.Г. Саркисян