

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ШАРІФОВ ХУРШЕД ШЕРАЛІЙОВИЧ

УДК 615.322:582.711.713:001.891.54:57.084

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ
ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ПЕРСИКА ЗВИЧАЙНОГО

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
ЗАЙЧЕНКО Ганна Володимирівна,
Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця
МОЗ України (м. Київ), завідувач кафедри фармакології

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна,
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
завідувач кафедри загальної та клінічної фармації

доктор медичних наук, професор
РОЖКОВСЬКИЙ Ярослав Володимирович,
Одеський національний медичний університет
МОЗ України, завідувач кафедри фармакогнозії

Захист відбудеться «23» березня 2018 р. о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «22» лютого 2018 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д. фарм. наук, професор

Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Стрес є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем. Сучасна людина піддається постійному впливу несприятливих стресогенних факторів, таких як надмірно інтенсивний темп життя, надлишок інформації, дефіцит часу, гіподинамія, урбанізація, соціально-економічні фактори, забруднення навколишнього середовища, що створює умови для вичерпання адаптивного потенціалу організму за типом дистресу та розвитку стрес-зумовлених порушень (В. П. Булах, 2014; Л. Т. Киричек и соавт., 2015).

Інтенсивний або тривалий вплив стрес-факторів призводить до розвитку неадекватної стрес-реакції, яка може викликати тканинні та органні пошкодження. Нині стрес розглядається як головний етіологічний фактор розвитку багатьох захворювань: нервово-психічних (невротичні і депресивні розлади), серцево-судинних (ішемічна хвороба серця, артеріальна гіпертензія та ін.) захворювань, виразкових уражень шлунково-кишкового тракту, розладів імунної системи, що, в свою чергу, призводить до збільшення онкозахворювань (О. С. Булгакова, 2011; С. А. Игумнов, В. А. Жебентяев, 2011; В. П. Булах, 2014; Л. Т. Киричек и соавт., 2015). Сьогодні визнано, що розповсюджений серед осіб працездатного віку синдром хронічної втоми є вторинним (зазвичай ГРВІ зумовленим) імунодефіцитом (О. Д. Боярчук, 2013) і потребує комплексної фармакокорекції, зокрема із застосуванням фітопрепаратів зі стреспротекторними й імуномодуляторними властивостями (Н. П. Гляделова, 2012; И. А. Зупанец и соавт., 2014; С. В. Дутова, 2016).

Для корекції стресогенних порушень ефективними є лікарські засоби рослинного походження, що мають широкий спектр лікувально-профілактичної дії, тобто впливають на нормалізацію всіх або більшості параметрів гомеостазу, порушеного при стресі (А. Panossian et al., 2009; А. Panossian, G. Wikman, 2010; О. Я. Міщенко, 2010; Е. М. Кривошеева и соавт., 2011; С. Т. Кохан и соавт., 2015; В. А. Куркин, 2015). Зокрема класичні фітоадаптогени, до яких належать препарати елеутерококу колючого, родіоли рожевої, лимонника китайського, левзеї, та інші рослинні засоби сприяють більш швидкому пристосуванню організму до різних несприятливих впливів шляхом адаптації нейро-гормональних регуляторних механізмів і активації імунної системи (А. Panossian, G. Wikman, 2010; Е. М. Кривошеева и соавт., 2011; В. А. Куркин и соавт., 2014). Однак адаптогени мають значний тонізуючий вплив на ЦНС через вплив на висхідну ретикулярну формацію головного мозку і активацію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи (ГГНС), тому їх тривале застосування є небезпечним (Е. П. Студенцов и соавт., 2013; Н. В. Симонова и соавт., 2011). Заспокійливі лікарські засоби рослинного походження ефективні при стресогенних неврозах, проте можуть викликати надмірну седацию (Л. Т. Киричек и соавт., 2015). Особливого значення набувають фітопрепарати, які містять біологічні активні речовини (БАР) поліфенольної природи зі стреспротекторними властивостями, що виявляють м'яку дію, переважно посилюючи активність периферичних стрес-лімітуючих

систем, зокрема антиоксидантної (О. Д. Барнаулов, Т. В. Осипова, 2012; Т. А. Филиппенко, Н. Ю. Грибова, 2013; И. С. Чекман и соавт., 2014), і є безпечними при тривалому застосуванні (М. А. Bernards, 2010; О. П. Вікторов, 2011; В. А. Туманов, 2012). Зусилля фармакологів направлені на пошук нових фітопрепаратів стреспротекторної та імунотропної дії, перш за все, на основі БАР рослин, що мають доступні і багаті сировинні ресурси. Однією з таких рослин є персик звичайний (*Prunus persica Mill*). Останній широко використовується в східній народній медицині (И. Д. Кароматов, З. Т. Набиева, 2017). У різних органах персика (плодах, листях) містяться БАР, що виявляють протипухлинну, протизапальну, антиоксидантну, протидіабетичну на інші види фармакологічної дії (Н. Sagrawat, Y. Khan, 2007; J. González-Gallego et al., 2010; О. А. Пузак и соавт., 2010; М. Paszkiewicz et al., 2012; О. А. Федорова, 2014; Р. К. Mukherjee et al., 2014; В. А. Куркин, В. В. Поройков, 2015; W. N. Abood, 2017). Вміст БАР, зокрема поліфенольний профіль, та залежні від цього фармакологічні властивості фітопрепаратів персика залежать від сорту та умов культивування (X. Zhao et al., 2015). Для Республіки Таджикистан пріоритетним є розробка та впровадження у практичну медицину лікарських засобів, отриманих із доступних ендемічних рослин. Проте комплексні наукові фармакологічні дослідження фітопрепаратів персика з місцевої сировини не проводилися.

Тому актуальним є вивчення фармакологічних властивостей густого екстракту з листя персика звичайного (ГЕЛП) сорту «Сальве», заготовлених у Таджикистані, для обґрунтування доцільності розробки на його основі нового фітопрепарату стреспротекторної та імунокоригувальної дії.

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

Дисертацію виконано за планом затвердженої МОЗ України науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій дисертант є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. *Мета роботи:* експериментально обґрунтувати доцільність розробки нового фітопрепарату стреспротекторної та імунокоригувальної дії на основі густого екстракту з листя персика звичайного.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *завдання:*

1. Провести скринінгові дослідження та визначити умовноефективну дозу густого екстракту з листя персика за актопротекторною активністю, впливом на поведінкові реакції щурів у відкритому полі та визначити його гостру токсичність.
2. В умовах хронічного іммобілізаційного стресу дослідити стреспротекторну дію густого екстракту з листя персика за впливом на стан гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи.
3. Дослідити вплив густого екстракту з листя персика на показники вуглеводного, ліпідного обміну та балансу факторів оксидантної та антиоксидантної системи щурів за умов хронічного іммобілізаційного стресу.

4. Вивчити вплив густого екстракту з листя персика на поведінкові реакції у щурів за умов хронічного іммобілізаційного стресу у тестах «піднесений хрестоподібний лабіринт» і «відкрите поле».
5. Вивчити імунотропну дію засобу *in vivo* на моделі хронічного іммобілізаційного стресу.
6. Визначити спектр імунотропних властивостей густого екстракту з листя персика у тестах *in vitro*: вплив на життєздатність імунокомпетентних клітин, продукцію імуноглобуліну А, експресію поверхневих антигенів, активність ендогенних цитотоксичних клітин.
7. Дослідити окремі фармакодинамічні властивості густого екстракту з листя персика: вплив на продукцію цитокінів, перебіг гострого запального процесу та стан мембран еритроцитів.

Об'єкт дослідження: фармакотерапія стресових та пов'язаних з ними порушень імунної системи.

Предмет дослідження: актопротекторні, стреспротекторні та імунотропні властивості густого екстракту з листя персика звичайного.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання статичного навантаження, хронічного стресу, набряку лапи у щурів, оцінка поведінкових реакцій – тест «відкрите поле» та «піднесений хрестоподібний лабіринт»); біохімічні (визначення вмісту тригліцеридів та загального холестеролу, глюкози, глікогену, ТБК-реактивності, ВГ, активності АсАТ, каталази); гістологічні (дослідження структури тимуса, селезінки, НЗ методом світлової мікроскопії); імуноферментні (визначення вмісту ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- γ із використанням тест-системи «Цитокін»); *in vitro* досліджували продукцію ІgА; активність поверхневих антигенів, ендогенних цитотоксичних клітин; статистичні (використано програму Statistica 6.0, t-критерій Ст'юдента, непараметричний U-критерій Манна-Вітні, критерій Фішера при врахуванні результатів у альтернативній формі).

Наукова новизна отриманих результатів. У роботі вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено наявність актопротекторного, стреспротекторного та імунокоригувального ефектів ГЕЛП, у реалізації яких важливу роль відіграють цитокіномодуляторні, антиоксидантні та мембраностабілізуювальні властивості.

Доведена стреспротекторна дія ГЕЛП в умовах ХІС: здатність знижувати ступінь виразкового пошкодження шлунка, гіпертрофії НЗ та інволюції тимуса, зменшувати морфологічні ознаки функціональних змін у стані НЗ, гальмувати активність адренкортикоцитів кори, нейроендокриноцитів мозкового шару, зменшувати ширину пучкової зони НЗ на 22,6 % ($p < 0,05$) і діаметр ядер спонгіоцитів на 27,8 % ($p < 0,05$).

Виявлено коригувальний вплив ГЕЛП на стан системи ПОЛ/АОЗ: посилення антиоксидантного захисту (підвищення активності каталази крові та ВГ в еритроцитах відповідно в 2,4 і 1,5 рази, $p < 0,05$), інгібування процесів ПОЛ (зниження ТБК-Р в еритроцитах на 32,5 %); здатність засобу гальмувати вираженість цитолітичних процесів (зниження активності АсАТ в 1,2 рази, $p < 0,05$); нормалізувати показники вуглеводного обміну (зниження підвищеного рівня

глюкози в крові та глікогену в печінці на 32 %, $p < 0,05$); зменшувати рівень гіперліпідемії (зниження підвищеного рівня холестеролу та тригліцеридів відповідно в 1,5 та 1,7 разу, $p < 0,05$). Показано, що за вираженістю антиоксидантної дії досліджуваний засіб ГЕЛП перевершував препарат порівняння «Імуно-Тон», більш ефективно підвищуючи активність каталази, рівень ВГ та знижуючи вміст ТБК-Р в еритроцитах.

Виявлені антитривожні властивості ГЕЛП: скорочення часу перебування тварин у закритому рукаві в 1,7 разу ($p < 0,05$) і подовження часу їх перебування у відкритому рукаві (36,20 с проти 0,00 с, $p < 0,05$).

Доведена здатність ГЕЛП відновлювати порушену в умовах стресу активність імунної системи: підвищувати індекс фагоцитозу в 1,2 разу ($p < 0,05$) і фагоцитарне число в 1,8 разу ($p < 0,05$), нормалізувати клітинний склад крові, знижувати ступінь ендогенної інтоксикації організму. Гістологічно доведено протективний вплив ГЕЛП на стан тиміко-лімфатичної ланки імунної системи: збільшення ширини маргінальної зони ЛФ і муфт, зниження ознак стресогенної гіпоксії – чисельності структур білої пульпи зі спазмом центральних артерій та зниження реактивних змін у тимусі.

У дослідах *in vitro* отримано нові дані про дозозалежність імуотропної дії ГЕЛП: здатність у вищій концентрації (2 мг/мл) знижувати кількість життєздатних імунокомпетентних клітин, а у нижчій (0,4 мг/мл) – не чинити негативного впливу на них, не впливати на експресію поверхневих антигенів (CD4, CD25, CD16, CD95) лімфоцитів, підвищувати продукцію IgA в 1,2 разу ($p < 0,05$) та активність ендогенних цитотоксичних клітин у 3,6 разу ($p < 0,05$).

Розширено уявлення щодо механізмів стреспротекторної, імунокоригувальної та протизапальної дії ГЕЛП, що полягає у зниженні продукції прозапальних цитокінів ІЛ-1 у 2,7 разу ($p < 0,05$), у відсутності впливу на утворення протизапальних цитокінів ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- γ та у здатності стабілізувати клітинні мембрани (зниження гемолізу в 1,4 разу).

Встановлено, що ГЕЛП є малотоксичною речовиною (IV клас токсичності) згідно з класифікацією К. К. Сидорова (1973).

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати щодо фармакологічної активності та безпечності ГЕЛП обґрунтовують доцільність його подальшого дослідження як перспективного засобу актопротекторної, стреспротекторної та імунокоригувальної дії.

Запропоновано новий перспективний лікарський засіб з імуотропною активністю (патент України на корисну модель № 201505835, 2015 р.) та новий підхід комплексної фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань із застосуванням екстракту листя персика як цитокіномодулятора (інформаційний лист МОЗУ про нововведення в сфері охорони здоров'я № 186-2017, 2017 р.).

Результати дисертаційної роботи впроваджено в освітньо-науковий процес кафедр: фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 2 від 20.09.2017 р.), фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (протокол № 4 від 01.11.2017 р.); фармакології Буковин-

ського державного медичного університету (протокол № 18 від 17.05.2017 р.); фармакології Таджицького державного медичного університету імені Абуалі Ібн Сіно (акт впровадження від 16.11.2017 р.); фармацевтичної технології і біотехнології Таджицького національного університету (акт впровадження від 16.11.2017 р.) та в науковий процес Інституту експериментальної і клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол № 12 від 27.12.2017 р.).

Результати роботи є фрагментом звіту з доклінічного вивчення засобу та були використані при підготовці нормативно-технічної документації для реєстрації густого екстракту з листя персика як лікарського препарату на ТОВ «Тиб барои шумо» (Республіка Таджикистан) (акт впровадження від 15.11.2017 р.) та при розробці інструкції з клінічного застосування.

Особистий внесок здобувача. Дисертант разом із науковим керівником визначив мету та завдання дослідження, склав план роботи. Здобувач самостійно провів патентно-інформаційний пошук за темою дисертації, проаналізував джерела літератури, опанував методи дослідження, брав участь у проведенні експериментальних досліджень та статистичного опрацювання отриманих результатів, провів їх аналіз і узагальнення. Автор особисто підготував до публікації наукові праці за основними положеннями дисертації, написав і оформив дисертацію та автореферат. Гістологічні дослідження проведено на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом ст. н. сп., к. біол. н. Ю. Б. Лар'яновської. Дослідження імунотропної та цитокіномодуляторної дії виконано у лабораторії патофізіології та імунології ДУ «Інститут отоларингології імені проф. О. С. Коломійченка НАМН України» під керівництвом д. мед. н., проф. О. Ф. Мельникова. Співавторами публікацій є науковий керівник Г. В. Зайченко та науковці, спільно з якими проведено деякі дослідження: В. С. Кисличенко, Г. Ф. Наврузова, Л. В. Ленчик, О. Я. Міщенко, О. Ю. Кошова, О. Л. Халеева, Н. Б. Саїдов, О. В. Файзуллін, Я. В. Дьяконова, О. О. Іванова, О. Ф. Мельников. Особисту участь здобувача наведено у списку опублікованих праць за темою дисертації.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення роботи оприлюднені та обговорені на науково-практичних конференціях, конгресах різного рівня і з'їздах: Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (м. Харків, 21–22 берез. 2013 р.), XX Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (м. Москва, 15–19 квіт. 2013 р.), VIII, IX науково-практичних інтернет-конференціях «Фармакоэкономика в Украине: стан та перспективи розвитку» (м. Харків, 26–27 листоп. 2015 р.; 23 берез. 2017 р.), International scientific and practical conferences of young scientists and students «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 23 april 2015; 20 april 2017), the 15-th International congress society for ethnopharmacology (Jordan, Petra, 5–8 may 2015), VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (м. Харків, 13–16 верес. 2016 р.), I міжнародній науково-практичній конференції «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 30–31 берез. 2017 р.), XII міжнародній науково-

практичній конференції «Роль молодіжи в розвитку медичної науки» (м. Душанбе, 28 квіт. 2017 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 6 статей: 3 статті у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 3 – у закордонних наукових виданнях, 11 тез доповідей на науково-практичних конференціях і з'їздах, отримано патент України на корисну модель, видано інформаційний лист.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», 4 розділів результатів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків, списку використаних джерел, який містить 249 найменувань (163 кирилицею, 86 латиницею) та додатків. Обсяг основного тексту складає 154 сторінки. Робота проілюстрована 23 таблицями і 22 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Досліджувався густий екстракт 30 % спиртової витяжки з листя персика сорту «Сальве», заготовленого у Таджикистані в серпні 2014 року після збору плодів. Екстракт був отриманий на кафедрі хімії природних сполук НФаУ під керівництвом д. фарм. н., проф. В. С. Кисличенко. ГЕЛП – це густа маса від світло до темно-коричневого кольору, зі специфічним запахом. ГЕЛП містить полісахариди (14,74 %); фенольні сполуки (у перерахунку на галову кислоту 12,80 %); гідроксикоричні кислоти (у перерахунку на хлорогенову кислоту 8,41 %); флавоноїдні сполуки (у перерахунку на рутин 4,71%), органічні кислоти (3,71 %) (Л. В. Ленчик та співав., 2014).

У роботі використано препарати порівняння (ПП): аналог за фармакологічною дією – сироп «Імуно-Тон» виробництва АТ «Галичфарм», Україна (100 мл сиропу містять: екстракту елеутерококу рідкого – 16,6 г, настойки кореневищ з коренями ехінацеї пурпурової – 8,0 г, настойки звіробою – 8,3 г). За АТС-класифікацією лікарський засіб належить до групи L03 – Імуностимулятори, має рослинне походження, вводиться внутрішньо та дозується мірною ложкою. Доза ПП була розрахована, виходячи з терапевтичної дози для людини (10-15 мл) з урахуванням коефіцієнта видової чутливості (И. П. Уланова и соавт., 1968) і склала 3 мл/кг (500 мг/кг у перерахунку на екстракт елеутерококу). Для зручності відповідну кількість сиропу розводили в 5 разів і вводили дозою 15 мл/кг/добу; у дослідях з вивчення протизапальної активності використовували ПП НПЗЗ – диклофенак натрію (Ортофен[®], таб. 25 мг, виробництва ТОВ «ФК «Здоров'я», м. Харків, Україна) у дозі 8 мг/кг (О. В. Стефанов, 2001); під час вивчення мембраностабілізуючої дії – вітамін Е (Альфа-токоферолу ацетат[®], р-н олійний, 100 мг/мл по 20 мл у флак., виробник «Технолог ПрАТ», Україна) у дозі 50 мг/кг (И. П. Уланова и соавт., 1968).

Дослідження проведені на білих нелінійних 90 мишах та 174 щурах самцях масою 180–200 г, які були вирощені у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ, що атестована МОЗ України (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до

07.12.2019 р.). Усі експерименти проведені відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р., зі змінами 1998 р.), та Законом України «Про захист тварин від жорсткого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р. зі змінами. Дотримання біоетичних норм засвідчено висновком комісії з біоетики НФаУ (протокол № 3 від 15.03.2017 р.).

Вивчення актопротекторної активності ГЕЛП у дозах 50, 100, 150 мг/кг проводили в тесті «статичне навантаження» на мишах (Е. Н. Буркацкая и соавт., 1980). Вплив ГЕЛП на поведінкові реакції мишей оцінювали в тесті «відкрите поле» на 4 добу через 1 год після останнього введення засобів. За результатами цих досліджень була визначена умовноефективна доза ГЕЛП 100 мг/кг як така, що виявила найвищу актопротекторну активність.

Гостру токсичність ГЕЛП вивчали на щурах за умов внутрішньошлункового введення в дозі 5000 мг/кг відповідно до рекомендацій ДЕЦ МОЗ України (О. В. Стефанов, 2001).

Модель хронічного нервово-м'язового напруження (хронічного іммобілізаційного стресу, ХІС) відтворювали протягом 18 діб шляхом щоденної чотирьохгодинної іммобілізації щурів у тісних пеналах (О. В. Стефанов, 2001). Стреспротекторну дію ГЕЛП досліджували в умовноефективній дозі 100 мг/кг, ПП «Імуно-Тон» у дозі 15 мл/кг (1:5). Засоби вводили внутрішньошлунково профілактично за 5 діб до початку досліду та кожного дня за 40 хв до експозиції стресу. На 18 добу ХІС, що відповідає стадії виснаження загального адаптаційного синдрому, проводили евтаназію тварин та здійснювали забір біоматеріалу для дослідження. Було визначено коефіцієнти маси НЗ, тимуса і селезінки, проведено гістологічне дослідження структури НЗ за загальноприйнятою методикою (Г. А. Меркулов, 1969). Для дослідження виразкоутворення у шлунку була використана система оцінки згідно з рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України (О. В. Стефанов, 2001). Показниками ліпідного обміну були вміст тригліцеридів і загального холестеролу в сироватці крові, що визначали з використанням тест-наборів фірми «Biosis-tems» (Іспанія). Стан вуглеводного обміну визначали за вмістом глюкози в сироватці крові за допомогою наборів фірми «Філісіт-діагностика» (Україна) та глікогену в печінці за методом В. Н. Орехович (1977). Активність каталази у сироватці крові визначали за методом М. А. Королюк (1988); відновленого глутатіону за методом (Е. Beutler, 1963); ТБК-Р у сироватці крові та в еритроцитах – за методикою В. С. Камышникова (2000). Оцінку впливу досліджуваних засобів на стан ЦНС та рівень тривожності у тварин проводили в тестах «відкрите поле» (А. Н. Миронов, 2012) та «піднесений хрестоподібний лабіринт» (Р. У. Хабриев, 2005, А. Н. Миронов, 2012).

Стан тиміко-лімфатичної ланки імунної системи в умовах ХІС визначали за результатами гістологічних досліджень тимуса та селезінки на мікропрепаратах, приготовлених за загальноприйнятою методикою (Г. А. Меркулов, 1969; Т. И. Бонашевская, 1984).

Для оцінки стану системи неспецифічної резистентності на тлі ХІС у тварин визначали лейкограму, кількість лейкоцитів у крові (В. В. Меньшиков, 1987) і фагоцитарну активність (індекс фагоцитозу (ІФ), фагоцитарне число (ФЧ)) поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ) (Г. М. Бутенко, 2001). Як об'єкт фагоцитозу при оцінці фагоцитарної активності ПЯЛ використовували дріжджі. Для оцінки вираженості порушення гомеостазу й імунологічної реактивності у дослідних тварин розраховували лейкоцитарні індекси.

При вивченні імуотропної активності в тестах *in vitro* ГЕЛП використовували в концентраціях 2 мг/мл та 0,4 мг/мл живильного середовища. Для визначення впливу засобу на життєздатність імунокомпетентних клітин використовували клітини глоткових мигдалин дітей, що були отримані після аденоектомії (О. Ф. Мельников, 1981). У пробі з трипановим синім розраховували відносне число загиблих клітин (%) до початку і після інкубації (1 год при t 37°C).

Вплив ГЕЛП на продукцію ІgА вивчали методом радіальної імунодифузії в гелі (О.Ф. Мельников, 1981). Дію засобу на експресію поверхневих антигенів за кластерами диференціації вивчали після інкубації еритроцитів з ГЕЛП у концентрації 0,4 мг/мл протягом 16 год в культурі *in vitro* з використанням методу розеток (Д. К. Новиков, 2000). Вплив ГЕЛП на активність природних цитотоксичних клітин досліджували методом спектрофотометричної реєстрації цитолізу за виходом гемоглобіну з еритроцитів курчат (О. Ф. Мельников, 1999).

Вплив ГЕЛП у кількості 10 мкг/пробу і 100 мкг/пробу на продукцію цитокінів досліджували з використанням імунокомпетентних клітин піднебінних мигдалин, отриманих після аденоектомії у дітей (Мельников О. Ф., 1981). Імуноферментним методом визначали концентрацію цитокінів інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1), інтерферону- γ (ІФН- γ), інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) та інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) із використанням тест-системи «Цитокін».

Протизапальну дію ГЕЛП досліджували на моделі карагенінового набряку лапи у щурів (О. В. Стефанов, 2001). ГЕЛП вводили внутрішньошлунково в дозах 25, 50 та 100 мг/кг. Як ПП використовували натрію диклофенак у дозі 8 мг/кг. Величину набряку лапи вимірювали в динаміці через 1, 2, 3, 4 та 5 годин. Протизапальну активність розраховували за зменшенням набряку лапи у тварин під впливом досліджуваних засобів у порівнянні з тваринами групи контрольної патології.

Вивчення мембранопротекторних властивостей ГЕЛП проводили методом спонтанного гемолізу за Jager F. S. (Л. М. Вороніна та співавт., 1996). Як ПП використовували вітамін Е у дозі 50 мг/кг, розрахованій з дози для людини з урахуванням коефіцієнта видової чутливості (И. П. Уланова и соавт., 1968).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм Statistica 6,0 та Excel 2003 методами описової статистики та порівняльних методів аналізу з використанням t-критерію Ст'юдента або Ньюмена–Кейлса у випадку нормального розподілу або критерію Крускала–Уоліса для даних, які не підлягають закону нормального розподілення. Для виявлення відмінностей між експериментальними групами використовували критерії Ньюмана–Кейлса або критерій Манна–Вітні та кутове перетворення Фішера для оцінки результатів, виражених у альтернативній формі (О. Ю. Реб-

рова, 2006, А. А. Халафян, 2007). Відмінності між групами вважали статистично вірогідними при рівні статистичної значущості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. На етапі скринінгових досліджень у тесті статичного навантаження встановлено, що, на відміну від препарату порівняння «Імуно-Тон», який у дозі 15 мл/кг (1:5) при введенні протягом 4 днів не виявив актопротекторної дії, ГЕЛП підвищував витривалість тварин. Найбільшу актопротекторну дію досліджуваній засіб виявив у дозі 100 мг/кг, яка була визначена як умовно ефективна та використана для подальшого дослідження.

За результатами вивчення гострої токсичності ГЕЛП встановлено, що у дозі 5000 мг/кг він не призводить до загибелі тварин, не впливає негативним чином на стан внутрішніх органів. Це свідчить про відсутність токсичної дії екстракту в такій дозі та характеризує його як малотоксичну речовину (IV клас токсичності, $LD_{50} > 5000$ мг/кг) відповідно до класифікації К. К. Сидорова (1973).

Завданням наступного етапу роботи було дослідження стреспротекторної дії ГЕЛП на моделі ХІС.

Аналіз стану ГНС, що оцінювали за інтегральними показниками – коефіцієнтом маси тимуса, наднирникових залоз і виразкоутворення у шлунку, свідчить про захисний вплив ГЕЛП (рис.1). На тлі його дії встановлено зниження ступеня виразкового пошкодження шлунка (0,50 балів порівняно з 1,50 у групі ХІС, $p < 0,05$), гіпертрофії НЗ на 19 % ($p < 0,05$) та інволюції тимуса на 27 % ($p < 0,05$).

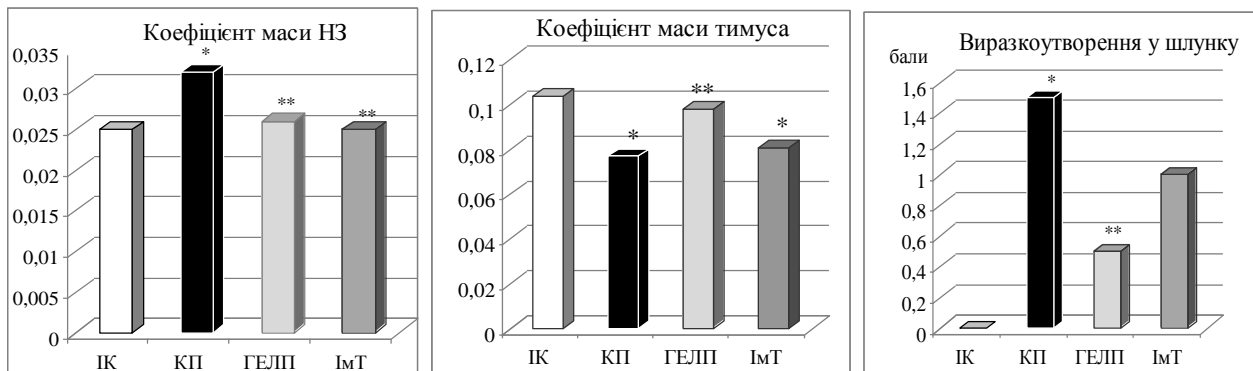


Рис. 1 Коефіцієнти маси тимуса і НЗ, ступінь виразкоутворення у шлунку щурів під впливом ГЕЛП та препарату порівняння «Імуно-Тон» в умовах ХІС

Примітка. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ГЕЛП – група тварин, яким вводили ГЕЛП у дозі 100 мг/кг; ІмТ – група тварин, яким вводили «Імуно-Тон» у дозі 15 мл/кг (1:5); * – відхилення достовірні щодо показників ІК, $p < 0,05$; ** – відхилення достовірні щодо показників КП, $p < 0,05$.

Препарат порівняння «Імуно-Тон», на відміну від ГЕЛП, виявляв менш виражений вплив на коефіцієнт маси тимуса, як і у групі контрольної патології він був вірогідно ($p < 0,05$) нижчим порівняно з інтактними тваринами.

Морфологічно встановлено, що ГЕЛП сприяв зменшенню ознак функціональних змін у стані НЗ щурів у порівнянні зі стресовим контролем, гальмуючи

підвищену активність адренокортикоцитів кори, нейроендокриноцитів мозкового шару, зменшуючи ширину пучкової зони на 22,6 % ($p < 0,05$) і діаметр ядер спонгіоцитів на 27,8 % ($p < 0,05$). За вираженістю стреспротекторної дії у цьому досліді ГЕЛП за більшістю показників був на рівні препарату порівняння.

Метаболічні процеси в умовах стресу зазнають впливу гормонів: кортикостероїдів, адреналіну та норадреналіну, що призводить до їх активації та перебудови метаболізму, направленою на забезпечення організму необхідною для виживання енергією (Л. Т. Киричек и соавт., 2015).

На тлі введення досліджуваних засобів відбувалася нормалізація окремих показників вуглеводного обміну (зниження підвищеного рівня глюкози в крові та глікогену в печінці на 32 %, $p < 0,05$), ліпідного обміну, про що свідчить зниження підвищеного рівня холестеролу та тригліцеридів відповідно в 1,5 та 1,7 разу ($p < 0,05$) (рис. 2). На відміну від ГЕЛП, препарат порівняння «Імуно-Тон», що містить екстракти елеутерококу, звіробію та ехінацеї і виявляє адаптогенну, імуностимулювальну, актопротекторну дію, не чинив вірогідного впливу на підвищений рівень холестеролу, проте знижував вміст тригліцеридів.

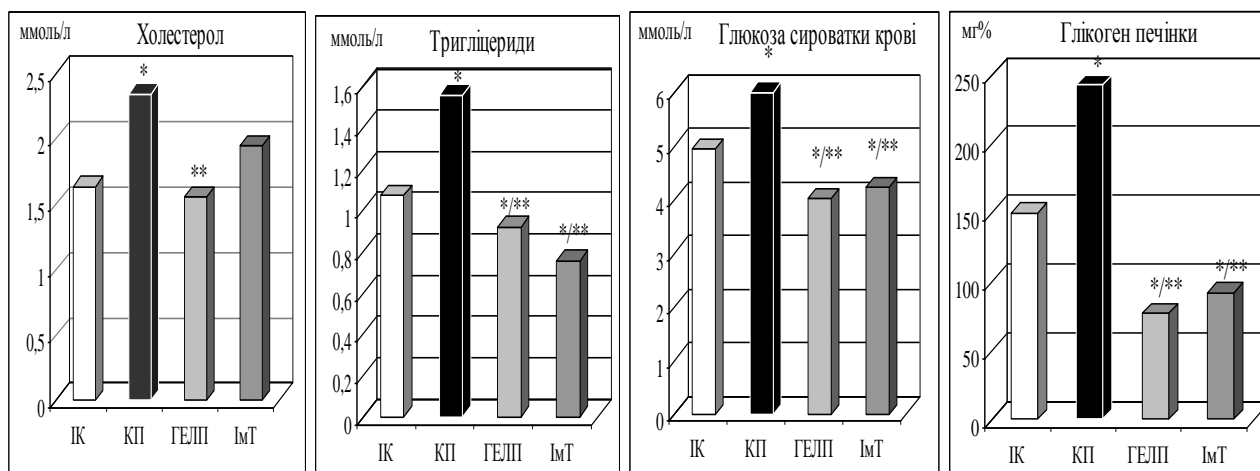


Рис. 2 Вплив ГЕЛП та препарату порівняння «Імуно-Тон» (ІМТ) на деякі показники стану вуглеводного та ліпідного обміну шурів в умовах ХІС

Примітка. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ГЕЛП – група тварин, яким вводили ГЕЛП у дозі 100 мг/кг; ІМТ – група тварин, яким вводили «Імуно-Тон» у дозі 15 мл/кг (1:5); * – відхилення достовірні щодо показників ІК, $p < 0,05$; ** – відхилення достовірні щодо показників КП, $p < 0,05$.

ХІС призвів до порушення балансу в системі ПОЛ/АОС (рис. 3): спостерігали зниження активності ферменту антиоксидантного захисту каталази і зниження співвідношення Кат/ТБК-Р на фоні нормального рівня ТБК-Р. Це свідчить про напруження АОС. На посилення цитолітичних процесів, зокрема в печінці, вказувало підвищення активності АсАТ у сироватці крові.

ГЕЛП гальмував цитолітичні процеси, про що свідчить зниження активності АсАТ в 1,2 разу ($p < 0,05$), посилював антиоксидантний захист, вірогідно підвищуючи активність каталази в сироватці крові та вміст ВГ в еритроцитах

відповідно в 2,4 і 1,5 разу ($p < 0,05$) та гальмував процеси ПОЛ в еритроцитах (зниження ТБК-Р на 32,5%) (рис. 4).

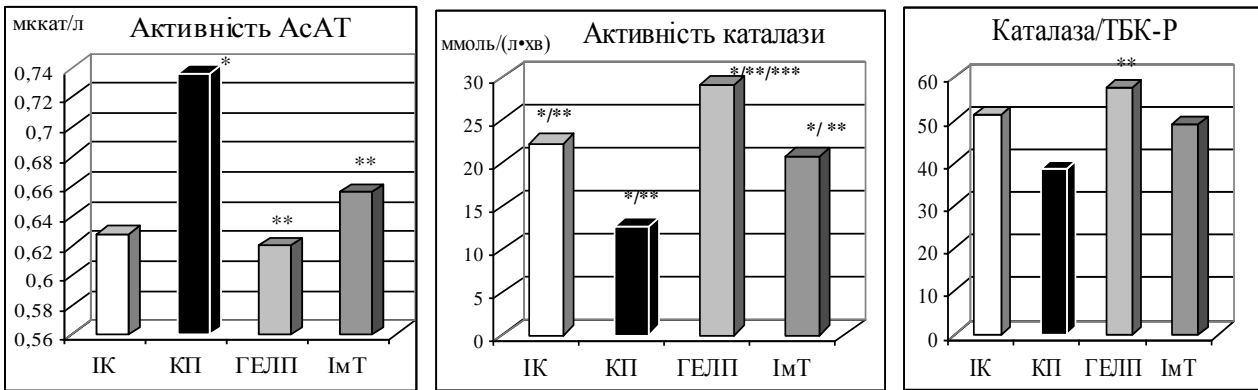


Рис. 3 Вплив ГЕЛП та препарату порівняння «Імуно-Тон» на стан цитолітичних процесів та про/антиоксидантний дисбаланс у сироватці крові щурів в умовах ХІС

Примітка. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ГЕЛП – група тварин, яким вводили ГЕЛП у дозі 100 мг/кг; ІмТ – група тварин, яким вводили «Імуно-Тон» у дозі 15 мл/кг (1:5); * – відхилення достовірні щодо показників ІК, $p < 0,05$; ** – відхилення достовірні щодо показників КП, $p < 0,05$; *** – відхилення достовірні щодо показників тварин, яким вводили «Імуно-Тон», $p < 0,05$.

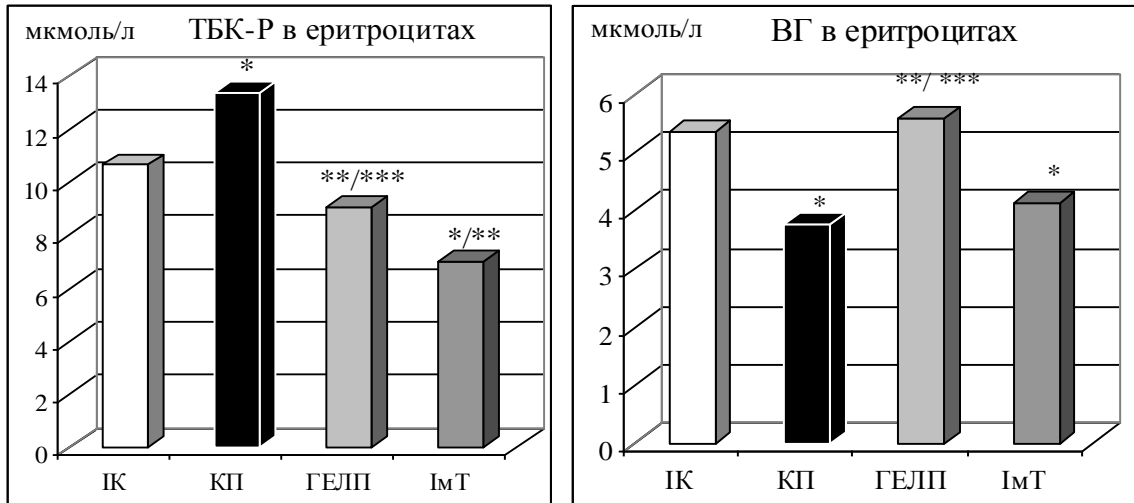


Рис. 4 Вплив ГЕЛП та препарату порівняння «Імуно-Тон» на про/антиоксидантний дисбаланс в еритроцитах щурів в умовах ХІС

Примітка. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ГЕЛП – група тварин, яким вводили ГЕЛП у дозі 100 мг/кг; ІмТ – група тварин, яким вводили «Імуно-Тон» у дозі 15 мл/кг (1:5); * – відхилення достовірні щодо показників ІК, $p < 0,05$; ** – відхилення достовірні щодо показників КП, $p < 0,05$; *** – відхилення достовірні щодо показників тварин, яким вводили «Імуно-Тон», $p < 0,05$.

За вираженістю антиоксидантної дії досліджуваний засіб ГЕЛП перевершував препарат порівняння «Імуно-Тон», більш ефективно підвищуючи активність каталази в 1,4 разу ($p < 0,05$), вміст ВГ в 1,4 разу ($p < 0,05$) та знижуючи рівень ТБК-Р в еритроцитах в 1,3 разу ($p < 0,05$). Встановлена стреспротекторна дія ГЕЛП, ймовірно, пов'язана з його складовими компонентами: кумаринами, флавоноїдами, дубильними речовинами конденсованої природи, гідроксикоричними кислотами, сапонінами, яким, за даними літератури, притаманна здатність гальмувати утворення кисневих радикалів та посилювати антиоксидантний захист (S. V. Rossato et al., 2009; J. Gasparotto, 2014).

У тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» при застосуванні ГЕЛП встановлено достовірне порівняно як з інтактним контролем, так із групою контрольної патології зростання часу латентного періоду в 2,1 ($p < 0,05$) і 2,5 разу ($p > 0,05$) відповідно та у 1,7 разу скорочення часу перебування тварин у закритих рукавах. Такі зміни досліджуваних показників можна вважати результатом підвищення ефективності поведінкової адаптації тварин у післястресовий період під впливом ГЕЛП та проявом його антитривожних властивостей.

Результати тесту «відкрите поле» свідчать, що ПП «Імуно-Тон» чинить стимулювальний вплив на ЦНС стресованих тварин, що зумовлений БАР екстрактів елеутерококу, ехінацеї і звіробоя, які входять до його складу (Компендіум, 2015). Тому застосування препарату протипоказано при деяких нервово-психічних розладах (Компендіум, 2015). На відміну від препарату «Імуно-Тон», вплив ГЕЛП на порушення стану ЦНС стресованих тварин можна характеризувати як модулювальний з відсутністю стимулювального компонента.

Встановлено, що на тиміко-лімфатичну ланку імунної системи ХІС чинив супресивний вплив. У тимусі були ознаки гальмування лімфопоезу (рис. 5б).

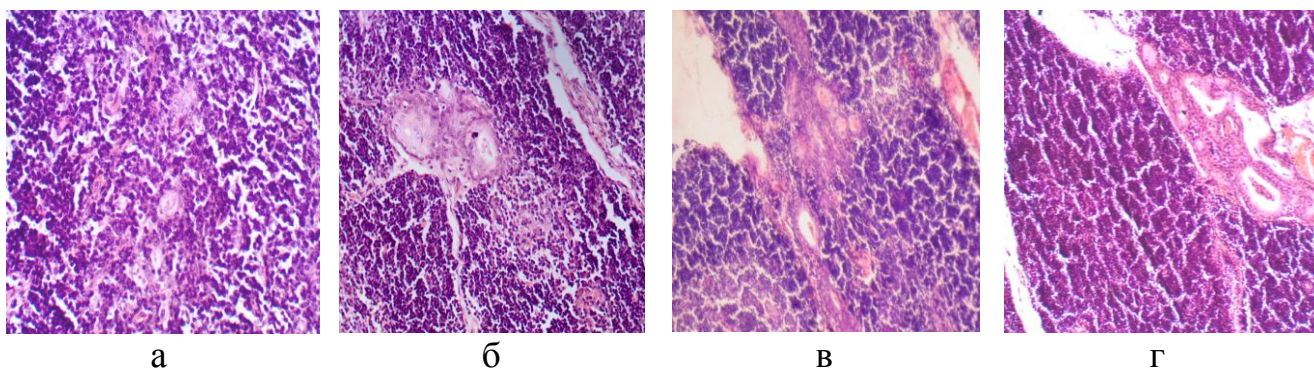
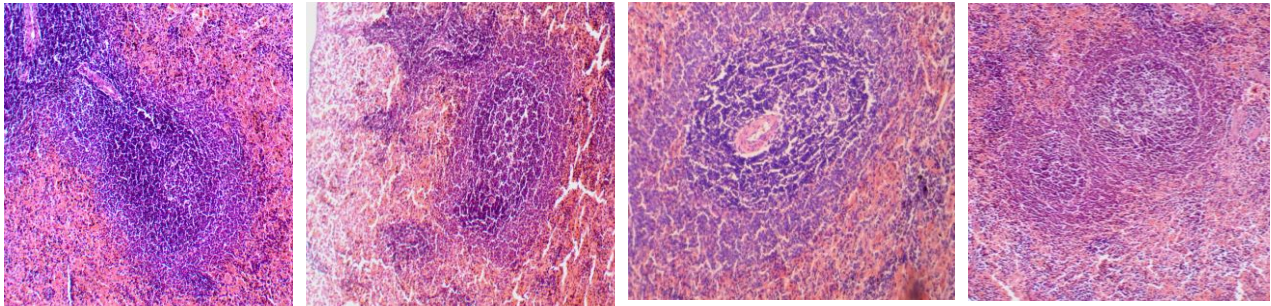


Рис. 5 Структура тимуса щурів на 18-й день ХІС

Примітка. а – тимус щурів ІК: тимічне тільце та дрібне скупчення клітин ретикулоендотелію в мозковій речовині (ГЕ×250); б – тимус щурів КП: кистозне перетворення, зроговілість тимічного тільця, проліферація ретикулоепітеліальних клітин (ГЕ×100); в – тимус щурів на тлі дії ГЕЛП: менш виразне порівняно з КП кистозне перетворення тимічного тільця, незначна осередкова проліферація ретикулоепітеліальних клітин (ГЕ×100); г – тимус щурів на тлі дії ПП «Імуно-Тон»: кистозне розширення тимічного тільця, проліферація ретикулоепітеліальних клітин (ГЕ×100).

На тлі нормальної міграції Т-лімфоцитів у Т-залежних периартеріальних зонах ЛФ і муфт селезінки спостерігали делімфотизацію кіркової речовини тимуса. Ці зміни класифікувалися як 2–4 фази акцидентальної трансформації (рис. 5б). У ЛФ селезінки стресованих щурів (рис. 6б) центральна артерія знаходилася у стані спазму, що є морфологічним проявом гіпоксії стресового генезу, звужувалася маргінальна зона. Відомо, що саме маргінальна зона білої пульпи бере участь у імунній відповіді, бо вона є місцем «захоплення» імунних комплексів, змінених клітин крові тощо (Г. М. Дранік та співавт., 2006).



а

б

в

г

Рис. 6 Структура селезінки щурів на 18-й день ХІС

Примітка. а – селезінка щурів ІК: чітке розподілення кровотворного поля на білу та червону пульпу, у ЛФ розрізняється периартеріальна та маргінальна зони, реактивний центр (ГЕ×100); б – селезінка щурів КП: активація реактивного центру, звуження маргінальної зони, спазм центральної артерії у ЛФ (ГЕ×100); в – селезінка щурів на тлі дії ГЕЛП: реактивний центр не активований, більша виразність маргінальної зони, центральна артерія у ЛФ не спазмована (ГЕ×100); г – селезінка на тлі дії ПП «Імуно-Тон»: зменшення активності реактивного центру та розширення маргінальної зони (ГЕ×100).

На користь протективного впливу ГЕЛП на стан тиміко-лімфатичної ланки імунної системи свідчило збільшення ширини маргінальної зони ЛФ і муфт у 1,2 разу ($p < 0,05$) порівняно з тваринами групи контрольної патології, зниження ознак стресогенної гіпоксії – кількості структур білої пульпи зі спазмом центральних артерій (рис. 6в) та зниження реактивних змін у тимусі, що характеризує фази акцидентальної трансформації з четвертої, третьої до першої (рис. 5в). За вираженістю стреспротекторної дії досліджуваний ГЕЛП за більшістю показників був на рівні препарату порівняння «Імуно-Тон».

Як відомо, центральне місце в захисті організму від інфекції посідає фагоцитоз. Разом з тим він є універсальним ефектором гомеостазу, що реагує на численні сигнали про дестабілізацію внутрішнього середовища організму (Л. А. Коваленко, Г. Н. Суходолова, 2013). На тлі ХІС знижувалася як фагоцитарна активність (ІФ), так і поглинальна функція ПЯЛ (ФЧ). Зі збільшенням тривалості стресового впливу ці порушення поглиблювалися: якщо на 6-ий день дослідження активність фагоцитозу знижувалася незначно, то на 18-й день ці зміни були вже статистично значущими (рис. 7).

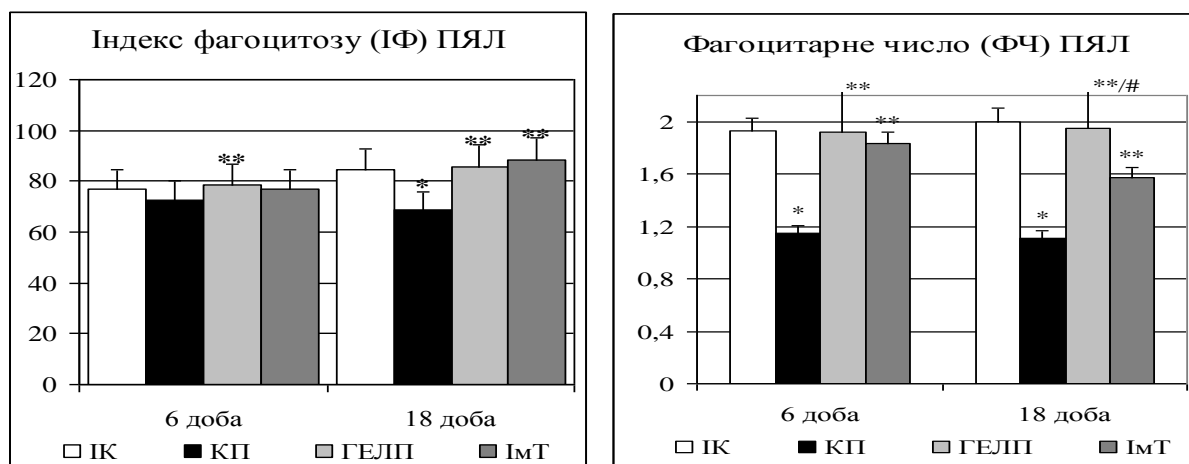


Рис. 7 Вплив досліджуваних засобів на динаміку фагоцитарної активності ПЯЛ щурів в умовах ХІС

Примітка. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ГЕЛП – група тварин, яким вводили ГЕЛП у дозі 100 мг/кг; ІмТ – група тварин, яким вводили «Імуно-Тон» у дозі 15 мл/кг (1:5); * – відхилення достовірні щодо показників ІК, $p < 0,05$; ** – відхилення достовірні щодо значень групи КП, $p < 0,05$; # – відхилення достовірні щодо ПП «Імуно-Тон», $p < 0,05$.

ГЕЛП сприяв зростанню ІФ і ФЧ до рівня інтактного контролю, що свідчить про нормалізацію фагоцитарної функції ПЯЛ. На відміну від препарату порівняння «Імуно-Тон», ефект ГЕЛП розвивався значно раніше: вже на 6 добу у тварин на тлі ХІС відновлювалися як активність фагоцитозу ПЯЛ, так і їх поглинальна функція (ФЧ). За здатністю відновлювати поглинальну функцію ПЯЛ ГЕЛП статистично значущо ($p < 0,05$) перевершував сироп «Імуно-Тон».

На тлі ХІС розвивався синдром ендогенної інтоксикації, про що свідчило підвищення рівня ЦІК в 2,8 разу та ЛП в 1,6 і 1,8 разу та зниження ЛІ майже в два рази відповідно на 6 і 18 добу; відбувалось пригнічення активності фагоцитарних реакцій і посилення ролі чинників специфічного імунітету в підтримці загальної реактивності організму, про що свідчило збільшення ІКр.

Під впливом ГЕЛП у дозі 100 мг/кг рівень ЦІК статистично значущо знижувався по відношенню до контрольної патології. Аналогічними були й зміни кількості лейкоцитів, що знижувалася порівняно з групою контрольної патології, але не досягала рівня інтактних тварин. Показники лейкограми і величини лейкоцитарних індексів так само були в межах фізіологічної норми і статистично не відрізнялися від показників у групі інтактного контролю.

Отже, в умовах ХІС ГЕЛП нормалізував фагоцитарну функцію ПЯЛ, сприяв більш фізіологічному розвитку компенсаторно-адаптивних реакцій на стрес, при цьому мав переваги над препаратом порівняння: більш ефективно знижував стан ендогенної інтоксикації, підвищував активність фагоцитарних реакцій та нормалізував імунологічну реактивність.

Наступним завданням дослідження була оцінка імунотропних властивостей ГЕЛП у тестах *in vitro* (рис. 8). Встановлено, що ГЕЛП у концентрації 2 мг/мл середовища спричиняв збільшення кількості загиблих ІКК мигдаликів,

а в концентрації 0,4 мг/мл не призводив до їх збільшення, що свідчить про його імуотропні властивості (рис. 8а).

Відомо, що фармакологічні засоби можуть по-різному впливати на різні типи лімфоцитів, доцільним було оцінити вплив ГЕЛП на експресію поверхневих антигенів лімфоцитів за кластерами диференціації (CD): CD4 (Т – лімфоцити-хелпери), CD16 (NK – натуральні кілери), CD25 (активовані лімфоцити), CD95 (клітини з маркером апоптозу). Було встановлено, що ГЕЛП у концентрації 0,4 мг/мл не впливав на експресію поверхневих антигенів лімфоцитів.

ГЕЛП у нижчій концентрації 0,4 мг/мл виявляв більш виражений вплив на продукцію IgA, ніж у вищій концентрації 2 мг/мл, що вказує на здатність засобу підвищувати активність IgA-асоційованої гуморальної імунної відповіді і на дозозалежність його імуотропного ефекту (рис. 8б).

Встановлено, що ГЕЛП підвищував активність ендogenous цитотоксичних клітин (рис. 8в), що є предиктором його можливого протипухлинного ефекту.

Отже, в результаті проведених досліджень встановлено, що ГЕЛП має помірно виражену стимулювальну дію відносно факторів вродженого імунітету (посилення природної цитотоксичності), так і набутого імунітету (посилення антитілоутворення) в тестах *in vitro*.

Оскільки відомо, що цитокіни опосередковують вплив стрес-системи на систему імунітету, індукують активацію, проліферацію й диференціювання Т- і В-лімфоцитів (О. Д. Боярчук, 2013), було доцільним оцінити вплив ГЕЛП на продукцію цитокінів імунокомпетентними клітинами.

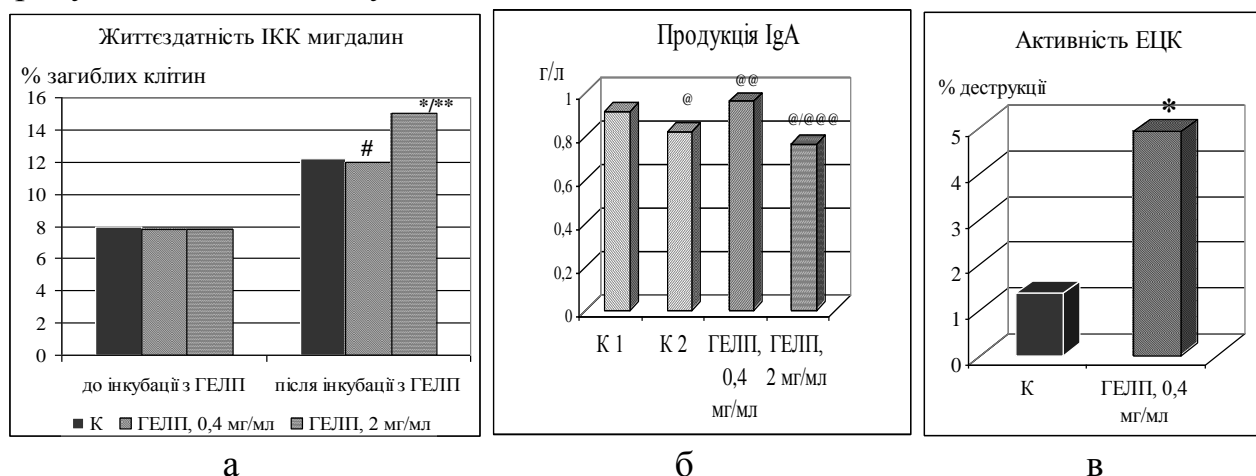


Рис. 8 Імуотропні властивості ГЕЛП в тестах *in vitro*

Примітка. а) К – контроль; * – відмінності достовірні щодо контрольних проб, $p < 0,05$; ** – відмінності достовірні щодо значень до інкубації, $p < 0,05$; # – відмінності достовірні щодо показників під впливом ГЕЛП, 2 мг/мл, $p < 0,05$; б) @ – відмінності достовірні щодо контролю 1 (К₁, розчину глюкози), $p < 0,05$; @@ – відмінності достовірні щодо контролю 2 (К₂, розчину Хенкса), $p < 0,05$; @@@ – відмінності достовірні щодо показників під впливом ГЕЛП у концентрації 0,4 мг/мл, $p < 0,05$.

Встановлено, що ГЕЛП не змінював вміст протизапальних цитокінів ІЛ-4 і ІЛ-10 у культурі клітин піднебінних мигдалин (рис. 10) і діяв як їх агоніст, одночасно знижуючи продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1. Крім того, ГЕЛП не змінював секрецію ІФН- γ , що є компонентом противірусного захисту (М. Paszkiewicz et al., 2012). Це узгоджується з даними літератури щодо цитокіномодуляторного впливу рослинних поліфенолів (J. Gon-zález-Gallego et al., 2010). Встановлені фармакологічні властивості ГЕЛП можна розглядати як один із механізмів його протизапальної та імуотропної дії.

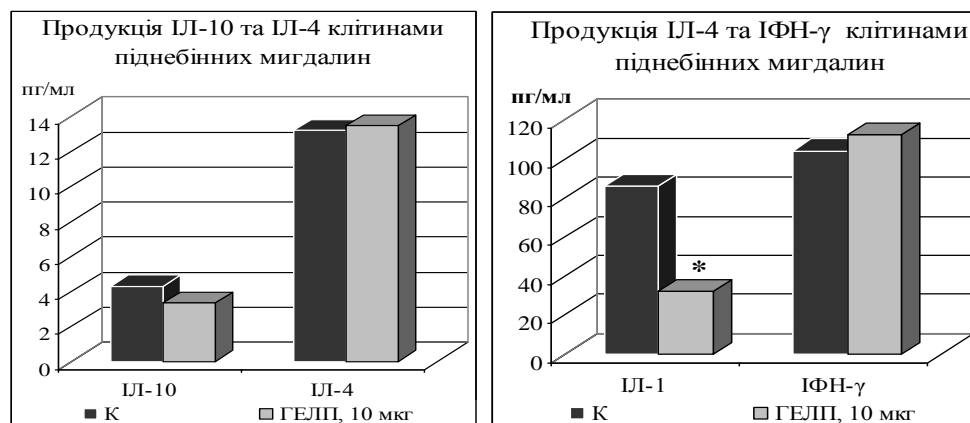


Рис. 10 Вплив ГЕЛП на продукцію інтерлейкінів клітинами піднебінних мигдалин у тестах *in vitro*

Примітка. К – контроль; пг/мл – пікограм (10^{-12} г/мл); * – відмінність достовірна щодо показників контролю, $p < 0,05$.

Встановлено, що ГЕЛП виявляє помірну протизапальну активність в дозі 50 мг/кг протягом перших чотирьох годин та в дозі 100 мг/кг тільки на п'яту годину карагенінового набряку лапи у щурів. Це свідчить про те, що у виявленні протизапальної дії засобу певну роль має вплив на активність біогенних амінів, натомість антипростагландинний механізм не є провідним.

На моделі спонтанного гемолізу ГЕЛП виявляє помірну мембраностабілізуювальну активність, за вираженістю якої не поступається антиоксиданту вітаміну Е і перевершує ефект препарату порівняння «Імуно-Тон». Очевидно, що в реалізації протизапальної дії ГЕЛП задіяний багатогранний механізм – антиоксидантний, цитокіномодуляторний, мембраностабілізуювальний, а також здатність гальмувати вивільнення медіаторів ранньої фази запалення – біогенних амінів.

Отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого дослідження ГЕЛП як перспективного засобу стреспротекторної та імунокоригувальної дії, в реалізації якої важливу роль відіграють цитокіномодуляторні, антиоксидантні і мембраностабілізуювальні властивості.

ВИСНОВКИ

Вирішення проблеми стресових порушень, що призводять до розвитку хронічних неінфекційних захворювань, зокрема імунодефіцитних станів, є нагальною потребою сучасної медицини. З огляду на полісистемний характер та багатогранні патогенетичні механізми розвитку стрес-зумовлених захворювань, тривалий та часто прихований їх перебіг доцільним є застосування безпечних ефективних лікарських засобів із широким спектром фармакологічної дії. Таким вимогам відповідають засоби рослинного походження.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню актуального наукового завдання щодо оптимізації фармакотерапії стресових та пов'язаних з ними порушень імунної системи шляхом застосування густого екстракту з листя персика – ефективного і безпечного фітопрепарату стреспротекторної та імунокоригувальної дії

1. Встановлена здатність ГЕЛП підвищувати витривалість тварин у тесті «статичне навантаження», що максимально (45,3 %) проявлялася в дозі 100 мг/кг, яка була визначена як умовноефективна. Доведено, що ГЕЛП в умовно-ефективній дозі 100 мг/кг не чинить вірогідного впливу на стан ЦНС у тесті «відкрите поле», а в дозі 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні не призводить до загибелі тварин, не впливає на стан внутрішніх органів, що характеризує його як малотоксичний засіб (IV клас токсичності згідно з класифікацією К. К. Сидорова, 1973).

2. Доведено протективний вплив ГЕЛП на стан ГГНС в умовах ХІС за зниженням ступеня виразкового пошкодження шлунка (0,50 балів порівняно з 1,50 в групі ХІС, $p < 0,05$), гіпертрофії НЗ на 19 % ($p < 0,05$) та інволюції тимуса на 27 % ($p < 0,05$). Встановлено, що ГЕЛП сприяв зменшенню морфологічних ознак функціональних змін у надниркових залозах щурів у порівнянні зі стресовим контролем, гальмуючи підвищену активність адренкортикоцитів кори, нейроендокриноцитів мозкового шару, зменшуючи ширину пучкової зони на 22,6 % ($p < 0,05$) і діаметр ядер спонгіоцитів на 27,8 % ($p < 0,05$). За вираженістю стреспротекторної дії ГЕЛП за більшістю показників був на рівні препарату порівняння «Імуно-Тон».

3. Встановлено коригувальний вплив ГЕЛП на стан метаболічних процесів, системи ПОЛ/АОЗ та вираженість цитолітичних процесів в умовах ХІС, що виявився у нормалізації вуглеводного обміну (зниження підвищеного рівня глюкози в крові та глікогену в печінці на 32 %, $p < 0,05$), зменшенні гіперліпідемії (зниження підвищеного рівня холестеролу та тригліцеридів відповідно в 1,5 та 1,7 разу, $p < 0,05$), гальмуванні цитолітичних процесів (зниження активності АсАТ в 1,2 разу, $p < 0,05$), посиленні антиоксидантного захисту (підвищення активності каталази у крові та ВГ в еритроцитах відповідно в 2,4 і 1,5 разу, $p < 0,05$) та гальмуванні процесів ПОЛ в еритроцитах (зниження ТБК-Р на 32,5%). За вираженістю антиоксидантної дії досліджуваний засіб ГЕЛП перевершував препарат порівняння «Імуно-Тон», більш ефективно підвищуючи в еритроцитах вміст ВГ (в 1,4 разу, $p < 0,05$) та знижуючи рівень ТБК-Р (в 1,35 разу, $p < 0,05$).

4. Встановлені антитривожні властивості ГЕЛП: у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» під впливом ГЕЛП встановлено зростання латентного періоду в 2,1 ($p < 0,05$) і 2,5 разу ($p > 0,05$) відповідно порівняно з інтактним контролем та з групою контрольної патології, а також скорочення часу перебування тварин у закритому рукаві у 1,7 разу ($p < 0,05$) і значне подовження часу перебування у відкритому рукаві (36,20 с проти 0,00 с, $p < 0,05$); у тесті «відкрите поле» ГЕЛП відновлював практично до рівня інтактного контролю порушений при стресі стан вегетативної ланки нервової системи: кількість уринацій та умивань.

5. За даними гістологічних досліджень доведено протективний вплив ГЕЛП на стан тиміко-лімфатичної ланки імунної системи, про що свідчило збільшення ширини маргінальної зони лімфоїдних фолікул і муфт у 1,2 разу ($p < 0,05$), чисельності структур білої пульпи селезінки, зниження ознак стресогенної гіпоксії – кількості структур білої пульпи зі спазмом центральних артерій та зниження реактивних змін у тимусі, що характеризує фази акцидентальної трансформації з четвертої, третьої до першої. За вираженістю стреспротекторної дії ГЕЛП за більшістю показників був на рівні препарату порівняння «Імуно-Тон».

6. Доведена здатність ГЕЛП відновлювати порушену в умовах стресу активність імунної системи, про що свідчить вірогідне підвищення індексу фагоцитозу в 1,2 разу ($p < 0,05$) і фагоцитарного числа в 1,8 разу ($p < 0,05$), нормалізація клітинного складу крові, зниження ступеня ендогенної інтоксикації організму щурів. За ефективністю ГЕЛП не поступався препарату порівняння «Імуно-Тон», а за нормалізувальним впливом на низку показників статистично перевершував його, зокрема більш ефективно зменшував стан ендогенної інтоксикації ($ЛП = 0,15$ проти $0,20$; $p < 0,05$), підвищував активність фагоцитарних реакцій ($ІКр = 0,15$ проти $0,21$; $p < 0,05$), нормалізував імунологічну реактивність ($ІЗЛК = 0,16$ проти $0,22$; $p < 0,05$).

7. У досліджах *in vitro* встановлено імунотропні властивості ГЕЛП: у концентрації 2 мг/мл живильного середовища знижує кількість життєздатних імунокомпетентних клітин, а у концентрації 0,4 мг/мл – не чинить негативного впливу на них, не впливає на експресію поверхневих антигенів (CD4, CD25, CD16, CD95) лімфоцитів, підвищує продукцію IgA в 1,2 разу та активність ендогенних цитотоксичних клітин в 3,6 разу.

8. Показана здатність ГЕЛП знижувати продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1 в 2,7 разу ($p < 0,05$), не змінюючи утворення протизапальних цитокінів ІЛ-4 і ІЛ-10 та ІФН- γ , що можна розглядати як один із механізмів його імунокоригувальної та протизапальної дії; виявляти помірну мембраностабілізуювальну активність (26,8 %) на моделі спонтанного гемолізу на рівні вітаміну Е (31%); чинити помірну протизапальну активність у дозі 50 мг/кг протягом перших чотирьох годин та в дозі 100 мг/кг на п'яту годину карагенінового набряку лапи у щурів.

9. Отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого фармакологічного дослідження ГЕЛП як перспективного фітопрепарату стреспротек-

торної та імунокоригувальної дії, в реалізації якої провідну роль відіграють цитокіномодуляторні, антиоксидантні та мембраностабілізуючі властивості.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Шарифов Х. Ш., Зайченко А. В., Наврузова Г. Ф., Халеева Е. Л. Скрининговое фармакологическое изучение густого экстракта из листьев персика обыкновенного. *Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук*. 2013. № 1/3 (110). С. 112–114. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

2. Фитохимическое и фармакологическое изучение листьев *Persica vulgaris*, заготовленных в Таджикистане / Л. В. Ленчик, Г. Ф. Наврузова, В. С. Кисличенко, Х. Ш. Шарифов, А. В. Зайченко. «*Vestnik*» of the South-Kazakhstan state pharmaceutical academy. 2014. Т. 4, № 3 (68). С. 126–132. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

3. Фитохимическое обоснование фармакологических эффектов фенольных соединений персика обыкновенного / А. В. Зайченко, Х. Ш. Шарифов, М. А. Стахорская, Е. Л. Халеева, Г. Н. Наврузова. *Фитотерапия : часопис*. 2014. № 4. С. 71–74. (Особистий внесок – участь у пошуку джерел літератури, їх аналізі, узагальненні, підготовці статті).

4. Шарифов Х. Ш., Зайченко А. В., Мищенко О. Я., Халеева Е. Л. Влияние экстракта листьев персика на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками в опытах *in vitro* [Электронный ресурс]. *Universum: медицина и фармакология*. 2017. № 1 (35). С. 20–24. Режим доступа: <http://www.universum.com/ru/med/archive/item/4137> (дата обращения: 12.01.2017). Название с экрана. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі та узагальненні отриманих результатів та підготовці статті).

5. Шарифов Х. Ш., Зайченко Г. В., Міщенко О. Я., Файзуллин О. В. Влияние экстракта листа персика обыкновенного на функциональный стан центральной нервной системы щуров за умов хронического иммобилизационного стресса. *Фармакология та лікарська токсикология*. 2017. № 1 (52). С. 67–72. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі та узагальненні отриманих результатів та підготовці статті).

6. Зайченко Г. В., Шарифов Х. Ш., Міщенко О. Я., Кошова О. Ю. Влияние экстракта листа персика на стан метаболічних процесів та прооксидантно/антиоксидантний баланс щуров в умовах хронічного іммобілізаційного стресу. *ScienceRise. Pharmaceutical Science*. 2017. № 1 (5). С. 13–16. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі та узагальненні отриманих результатів та підготовці статті).

7. Кисличенко В. С., Ленчик Л. В., Наврузова Г. Ф., Шарифов Х. Ш., Зайченко Г. В., Саїдов Н. Б. Лікарський засіб з імунотропною активністю: пат. на корисну модель 103001 Україна, МПК А61К36/736 (2006.01). №и 201505835; за-

явл. 15.06.2015; опубл. 25.11.2015. Бюл. № 22. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень).

8. Порівняльне вивчення амінокислотного та мінерального складу листя *Prunus persica*, заготовленого в Таджикистані та Україні / Г. В. Наврузова, Л. В. Ленчик, В. С. Кисличенко, Х. Ш. Шаріфов, Я. В. Дьяконова. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 1. С. 30–33. (Особистий внесок – участь у пошуку джерел літератури, обробці результатів та підготовці статті).

9. Міщенко О. Я., Зайченко Г. В., Халєєва О. Л., Шаріфов Х. Ш. Аналіз асортименту фітоімуностимуляторів на фармацевтичному українському ринку. *Фармакоєкономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : зб. наук. пр. ІХ наук.-практ. конф., м. Харків, 23 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 88–93.

10. Халєєва О. Л., Міщенко О. Я., Шаріфов Х. Ш. Фармакологічна характеристика комплексних імунотропних фітопрепаратів, представлених на українському фармацевтичному ринку. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали І міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30–31 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 319–323.

11. Перспективы использования персика обыкновенного в современной медицине / Г. Ф. Наврузова, Х. Ш. Шаріфов, Л. В. Ленчик, Н. Б. Саидов, В. С. Кисличенко, А. В. Зайченко. *Клінічна фармація: 20 років в Україні* : матеріали Нац. конгр., м. Харків, 21–22 берез. 2013 р. Харків, 2013. С. 172.

12. Шаріфов Х. Ш., Зайченко А. В., Файзуллин А. В., Иванова А. А. Изучение острой токсичности и фармакологической активности полисахаридного комплекса листьев персика. *Человек и лекарство* : сб. материалов XX Рос. нац. конгр., г. Москва, 15–19 апреля 2013 г. М., 2013. С. 471.

13. Study of *Persica vulgaris* leaves as prospective source of new phytomedicines / V. Kyslichenko, L. Lenchyk, G. Navruzova, Kh. Sharifov, G. Zaychenko. *The 15-th International congress society for ethnopharmacology* : abstract book, Jordan, Petra, 5–8 may 2015. Petra, 2015. P. 114–115.

14. Zaychenko G. V., Sharifov Ch. Sh., Khalieieva O. L. Influence of peach leaves extract on the cytokine profile in experiments in vitro. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of International scientific and practical conference of young scientists and students, Kharkiv, 23 april 2015. Kh., 2015. P. 351.

15. Зайченко Г. В., Халєєва О. Л., Шаріфов Х. Ш. Вплив екстракту листя персика звичайного на вміст імуноглобуліну А. *Фармакоєкономіка в Україні : стан і перспективи розвитку* : матеріали VIII наук.-практ. конф., м. Харків, 26–27 листоп. 2015 р. Харків, 2015. С. 141.

16. Зайченко Г. В., Шаріфов Х. Ш., Халєєва О. Л. Біологічна активність флавоноїдів сухого екстракту листя персика звичайного. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 верес. 2016 р, Харків, 2016. С. 44.

17. Sharifov Ch. Sh., Zaychenko G. V., Mishchenko O. Ya., Khalieieva O. L. Analysis of phytoimmunostimulants in the Ukrainian pharmaceutical market in 2016. *Topical issues of new drug development* : abstracts of International scientific and practical conference of young scientists and students, Kharkiv, 20 april 2017. Kh., 2017. P. 178.

18. Шаріфов Х. Ш., Зайченко Г. В., Мищенко О. Я., Халеева Е. Л. Исследование актопротекторной активности экстракта листьев персика обыкновенного. *Роль молодежи в развитии медицинской науки* : тез. докл. XII междунар. наук.-практ. конф., г. Душанбе, 28 апр. 2017 г. Душанбе, 2017. С. 332–333.

19. Зайченко Г. В., Міщенко О. Я., Шаріфов Х. Ш., Мельников О. Ф., Халеева О. Л. Застосування екстракту листя персика як цитокіномодулятора в комплексній терапії інфекційно-запальних захворювань : інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я. Вип. 5 з проблеми «Фармація». Укрмедпатентінформ МОЗ України. Київ, 2017. № 186. 4 с. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень та підготовці інформаційного листа).

АНОТАЦІЯ

Шаріфов Х. Ш. Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей екстракту з листя персика звичайного. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2017.

Дисертація присвячена експериментальному обґрунтуванню доцільності застосування густого екстракту листя персика (ГЕЛП) як нового стреспротектора та імунокоректора.

У роботі досліджено ГЕЛП, отриманий на кафедрі хімії природних сполук НФаУ під керівництвом д. фарм. н., проф. В. С. Кисличенко. Встановлено, що ГЕЛП є малотоксичною речовиною (IV клас токсичності, $LD_{50} > 5000$ мг/кг при внутрішньошлунковому введенні щурам). У тесті «статичне навантаження» встановлена здатність ГЕЛП підвищувати витривалість тварин.

В умовах хронічного іммобілізаційного стресу (ХІС) доведено протективний вплив ГЕЛП на стан ГГНС, метаболічних процесів, ЦНС, здатність знижувати рівень тривожності у тварин та відновлювати порушену активність імунної системи. За виразністю стреспротекторної дії ГЕЛП за більшістю показників був на рівні препарату порівняння «Імуно-Тон».

У досліджах *in vitro* встановлено імуномодулювальний ефект ГЕЛП: засіб у вищій концентрації знижує кількість імунокомпетентних життєздатних клітин глоткових мигдалин, а у нижчій – не чинить негативного впливу на них, не впливає на експресію поверхневих антигенів (CD4, CD25, CD16, CD95) лімфоцитів, підвищує продукцію IgA та активність ендогенних цитотоксичних клітин, знижує продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1, не змінюючи утворення проти-запальних цитокінів ІЛ-4 і ІЛ-10 та ІФН- γ . Доведена мембраностабілізуюча та протизапальна активність ГЕЛП.

Ключові слова: стрес, густий екстракт листя персика звичайного (ГЕЛП), гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова система; перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, цитокіни, стреспротекторна активність, імунокоригувальна дія, мембраностабілізуюча дія.

АННОТАЦИЯ

Шарифов Х. Ш. Экспериментальное исследование фармакологических свойств экстракта из листьев персика обыкновенного. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет, МОЗ Украины, Харьков, 2017.

Диссертация посвящена экспериментальному обоснованию целесообразности применения густого экстракта листьев персика (ГЭЛП) как нового стресспротектора и иммунокорректора.

В работе был исследованный ГЭЛП, полученный на кафедре химии природных соединений НФаУ под руководством д. фарм. н., проф. В. С. Кисличенко. Установлено, что ГЭЛП является малотоксичным веществом (IV класс токсичности, $LD_{50} > 5000$ мг/кг при внутрижелудочном введении крысам). В тесте «статической нагрузки» установлена его способность повышать выносливость животных.

В условиях хронического иммобилизационного стресса (ХИС) доказано протективное влияние ГЭЛП на состояние ГГНС, метаболических процессов, ЦНС, его способность снижать уровень тревожности у животных и восстанавливать нарушенную активность иммунной системы. По выразительности стресспротекторного действия ГЭЛП по большинству показателей был на уровне препарата сравнения «Иммуно-Тон».

В опытах *in vitro* установлен иммуномодулирующий эффект ГЭЛП: средство в более высокой концентрации снижает количество жизнеспособных иммунокомпетентных клеток глоточных миндалин, а при более низкой – не оказывает негативного влияния на них, не влияет на экспрессию поверхностных антигенов (CD4, CD25, CD16, CD95) лимфоцитов, повышает продукцию IgA и активность эндогенных цитотоксических клеток, снижает продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-1, не влияя на образование противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 и ИФН- γ . Доказана мембраностабилизирующая и противовоспалительная активность ГЭЛП.

Ключевые слова: стресс, густой экстракт листьев персика обыкновенного (ГЭЛП), гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система; перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, цитокины, стресспротекторная активность, иммунокорригирующее действие, мембраностабилизирующее действие.

SUMMARY

Sharifov H. Sh. Experimental research of pharmacological properties of the peach leaves ordinary extract. – The manuscript copyright.

The thesis for a candidate of pharmaceutical science degree in specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2017.

The dissertation of Sharifov H. Sh. is devoted to the experimental substantiation of the expediency of using a peach leaf thick extract (PLTE) as a new stressprotector and immunocorrector. The work extends and deepens knowledge about the pharmacological properties of PLTE.

In this work the peach leaf thick extract obtained at the department of chemistry of natural compounds of NUPh under the direction of prof. Kislychenko V. S. was studied.

For the first time the theoretical substantiation and experimentally proved the presence of acroprotective, stressprotective and immunocorrective activity of PLTE on experimental models in vivo and in model systems in vitro were done.

According to the results of screening studies in the static load test, the ability of PLTE to increase the endurance of animals, which was the highest (at 45.3%) at a dose of 100 mg/kg, was determined as conditionally effective and was used for further study. According to the expressiveness of the protective effect of PLTE was superior under the reference agent (RA) «Immuno-Ton». It was established that PLTE in a conditionally effective dose of 100 mg/kg, as well as the RA «Immuno-Ton», did not have a likely effect on the state of the central nervous system in the «open field» test. As a result of the acute toxicity study, it was found that PLTE at a dose of 5000 mg/kg does not cause death of animals, does not affect the condition of the internal organs, which characterizes it as a low-toxic substance (IV class toxicity, $LD_{50} > 5000$ mg/kg).

Under the conditions of chronic immobilization stress (ChIS), the protective effect of PLTE on the state of hypothalamic-pituitary-adrenal system (HPAS) has been established, which is confirmed by a decrease in the degree of ulcerative stomach damage, adrenal glands hypertrophy and involution of thymus.

The positive influence of PLTE and the RA «Immuno-Ton» on the state of metabolic processes, the system of lipid peroxidation (LPO) / antioxidant protection (AOP) and severity of cytolytic processes in conditions of ChIS was found in the normalization of carbohydrate metabolism, of hyperlipidemia, inhibition of cytolytic processes, strengthening of antioxidant defense and inhibition of LPO in erythrocytes. By the severity of antioxidant activity, the investigated agent PLTE the comparator «Immuno-Ton», more effectively increasing the activity of catalase and reduced glutation (RG).

In the tests, «elevated cross-labyrinth» and «open field», the PLTE and the comparator «Immuno-Ton» reduce the level of anxiety in experimental animals, which was caused by ChIS.

Morphologically, it was found that PLTE contributed to the reduction of morphological features of functional changes in the state of adrenal glands in rats compared with stress control, inhibiting the increased activity of cortical adrenocorticocytes, neuroendocrinocytes of the brain layer, reducing the width of the beam region and the diameter of the nuclei of spongiocytes. According to the expressiveness of the stress-protective effect in this experiment, the investigated agents of PLTE for the majority of indicators was at the level of the RA.

The ability of PLTE to restore the activity of immune system, which is disturbed under stress, is demonstrated by the phagocytic index and phagocytic number increasing, normalization of the cellular composition of the blood, the preservation of the ratio of specific and non-specific immunological reactions at the physiological level, consequently, a decrease in the degree of endogenous intoxication of the body.

Histologically the protective effect of PLTE on the thymus-lymphatic system has been proved, as evidenced by an increase in the width of the marginal zone of the lymph nodes and the clutches, the number of structures of white spleen, the reduction of signs of stress hypoxia – the number of white pulp structures with central artery spasm and reduction of reactive changes in the thymus, which characterizes the phases of the accidental transformation from the third to fourth to the first. According to the expressiveness of the stress-protective effect PLTE by most indicators was at the level of the RA syrup «Immuno-Ton».

In vitro the immunotropic effect of PLTE was established: the higher dose agent reduces the number of viable cells, and at the lower dose does not have a negative effect on the immunocompetent cells, does not affect the expression of surface antigens (CD4, CD25, CD16, CD95) of lymphocytes, increases the production of IgA in 1.2 times and activity of endogenous cytotoxic cells in 3.6 times.

The ability of PLTE to reduce the production of inflammatory cytokines IL-1 without altering the formation of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10 and IFN- γ , which can be considered as one of the mechanisms of its immunomodulatory and anti-inflammatory action, is established. In the model of spontaneous hemolysis, PLTE exhibits a moderate membrane-stabilizing activity, the severity of which is not inferior to the antioxidant vitamin E and exceeds the effect of the comparator «Immuno-Ton». In the carrageenan edema of paws in rats have shown that PLTE exhibits a moderate anti-inflammatory activity at a dose of 50 mg/kg for the first four hours and at a dose of 100 mg/kg for only five hours of carrageenan edema. This suggests that in anti-inflammatory effect of the PLTE, a certain role has an effect on the activity of biogenic amines, whereas the antiprostaglandin mechanism is not leading.

The obtained results substantiate the feasibility of further study of PLTE as a perspective agent with stress-protective and immunocorrective action, in implementation of which cytokine-modulating, antioxidant and membranostabilizing properties play important role.

Key words: stress, thick leaf peach extract, hypothalamic-pituitary adrenal system; lipid peroxidation, antioxidative system, cytokines, stress-protective activity, immunocorrective action, membrane-stabilizing action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

| | | |
|------------------|---|--|
| АОЗ | – | антиоксидантний захист; |
| АОС | – | антиоксидантна система; |
| АсАТ | – | аспартатамінотрансфераза; |
| ВГ | – | відновлений глутатіон; |
| БАР | – | біологічно активні речовини; |
| ГЕ | – | гематоксилін-еозин; |
| ГГНС | – | гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова система; |
| ГЕЛП | – | густий екстракт листя персика; |
| ЕЦК | – | ендогенні цитотоксичні клітини; |
| ІЗЛК | – | індекс зсуву лейкоцитів крові; |
| Ікр | – | індекс Кребса; |
| ІК | – | інтактний контроль; |
| ІКК | – | імунокомпетентні клітини; |
| ІФ | – | індекс фагоцитозу; |
| ІФН-γ | – | інтерферон-γ; |
| КМНЗ | – | коефіцієнт маси надниркових залоз; |
| КП | – | контрольна патологія; |
| ЛІ | – | лейкоцитарний індекс; |
| ЛШ | – | лейкоцитарний індекс інтоксикації; |
| ЛФ | – | лімфоїдний фолікул; |
| НЗ | – | надниркові залози; |
| ПОЛ | – | перекисне окиснення ліпідів; |
| ПП | – | препарат порівняння; |
| ПЯЛ | – | поліморфноядерні лейкоцити; |
| ТБК-Р | – | ТБК-реактанти; |
| ФЧ | – | фагоцитарне число; |
| ХІС | – | хронічний іммобілізаційний стрес; |
| ЦНС | – | центральна нервова система; |
| CD | – | кластери диференціації; |
| IgA | – | імуноглобулін А; |
| LD ₅₀ | – | середньолетальна доза. |