

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ОТВАРА ЛИСТЬЕВ БЕРЕЗЫ БОРОДАВЧАТОЙ *BETULA PENDULA ROTH.*

Д.С.Молоковский, Г.И.Дьячук

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова

По данным Государственной фармакопеи XI издания (1990) к клиническому применению в качестве мочегонного средства рекомендованы почки березы. В то же время, обширные данные народной медицины, а также доступность и большие ресурсы березы бородавчатой *Betula pendula Roth.* привлекли исследователей к изучению биологической активности и других частей этого растения. Особое внимание было уделено фармакологическим свойствам коры березы, что связано с наличием в ее составе большого количества тритерпеноидов даммаранового ряда. Для подобных соединений, выделенных также из корней и листьев женьшеня *Panax ginseng C.A.Mey* постулирована адаптогенная активность (Дардымов, 1976; Брехман, 1980; Легостева, 1989; Рапп, 1991; Шабанов, 2002). В частности показано, что препараты и извлечения из коры березы проявляют стресспротективные, противовоспалительные, противоязвенные, антигиперлипидемические и гепатозащитные свойства на различных экспериментальных моделях (Василенко и др., 1993; Рапп, 1993; Рапп, Пашинский, 1997; Дьячук и др., 2004). Спектр фармакологической активности препаратов из листьев березы изучен в значительно меньшей степени. Различные препараты и извлечения из листьев березы проявляют противовоспалительные свойства при каррагениновой и формалиновой модели воспаления, антиульцерогенную активность в отношении деструкций слизистой желудка при остром стрессе, вызванном подвешиванием животных за шейную складку, а также оказывают желчегонное и противолямблиозное действие (Гончарова, 1975; Рапп, 1993). Ранее нами при адреналиновой модели экспериментальной гипергликемии и аллоксановой модели сахарного диабета была показана отчетливая гипогликемическая, противодиабетическая активность отвара листьев березы, определяемая способностью фитопрепарата снижать инсулинрезистентность периферических тканей (Молоковский и др., 2002, 2005).

Следует подчеркнуть, что химический состав коры и листьев березы имеет существенные различия, которые, очевидно, могут в определенной степени отражаться в спектре их биологической активности. Так, в коре березы тритерпеноидов даммаранового ряда содержится приблизительно в 3 - 5 раз больше чем в листьях; химическая структура тритерпеноидов коры и листьев близка, но не идентична. С другой стороны, в листьях березы выявлено содержание значительного количества флавоноидов и полифенолов, присутствующих в коре в существенно меньших количествах (Гончарова, 1975; Малиновская и др., 1983; Растительные ресурсы СССР, 1984; Черняева, Пермякова, 2003).

Цель данной работы – выявить новые виды биологической активности отвара листьев березы. Поскольку для тритерпеноидов даммаранового ряда постулируется способность повышать неспецифическую сопротивляемость организма, в наших экспериментах исследовали действие фитопрепарата при моделировании ряда патологических состояний, существенно различающихся по этиологии и патогенезу. Учитывая доказанную роль углеводного энергообеспечения в поддержании неспецифической сопротивляемости организма, изучили также влияние отвара листьев березы (ОЛБ) на нарушение толерантности к глюкозе при стрессе и экспериментальном гепатите, патологических состояниях, характеризующихся развитием инсулинрезистентности (Махов и др., 1982; Молекулярная эндокринология, 2003; Микаелян, 1992; De Mello et al., 2001; Farias-Silva et al., 2001).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил ОЛБ, приготовленный из расчета 1 г на 20 мл воды непосредственно перед введением животным и в соответствии с требованиями, указанными в Государственной фармакопее XI издания. Листья березы были собраны в мае 2002 года в районе пос. Отрадное Ленинградской области.

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой тела 180-200 г, мышах линии SHR массой тела 18-20 г и мышах линии C 57 В1 весом 18-20 г разводки питомника «Рапполово». Животные содержались в условиях сертифицированного вивария. Условия содержания и обращения с животными соответствовали Международной конвенции.

При превентивном введении ОЛБ вводили животным внутрижелудочно через зонд в дозе 0,15 мл на 10 г массы тела животного в течение 6 дней. Последнее введение препарата осуществляли за 16 – 18 часов до моделирования патологического состояния.

При лечебном применении ОЛБ вводили в той же дозе, что и при превентивном введении в течение 6 дней; первое введение фитопрепарата осуществляли через 24 часа после моделирования патологического состояния.

При канцерогенезе молочной железы ОЛБ, добавляли крысам в питьевую воду в течение 56 недель, начиная с 8-го дня после инъекции канцерогена. Среднесуточное потребление данных отваров составляло 10 мл/кг массы тела животного. При канцерогенезе шейки матки ОЛБ добавляли мышам в питьевую воду в течение 30 недель. Среднесуточное потребление данных отваров составляло 15 мл/кг массы тела животного.

Для моделирования патологических состояний пользовались общепринятыми методиками, с некоторыми модификациями (Гацура, Саратиков, 1977; Руководство..., 2000).

Иммобилизационный стресс у мышей вызывали 17-ти часовой иммобилизацией в металлических контейнерах, обеспечивающих полную неподвижность животных. Время начала иммобилизации подбиралось так, чтобы забой животных происходил в этих экспериментах с 10-00 до 12-00 часов утра. После окончания иммобилизации животных подвергали эвтаназии под легким эфирным наркозом и производили забор крови для последующих биохимических анализов; у животных также выделяли желудок, вскрывали его по большой кривизне и подсчитывали среднее количество деструктивных поражений в слизистой и содержание МДА в слизистой желудка (после отделения слизистой). Ректальную температуру у подопытных мышей определяли немедленно после окончания иммобилизации с помощью контактного электротермометра ТПЭМ-2.

Как уже упоминалось выше, стресс сопровождается развитием нарушения толерантности к глюкозе за счет возникновения инсулинрезистентности. Для изучения влияния ОЛБ на эти процессы при 17-ти часовой иммобилизации мышей нами был использован глюкозотолерантный тест (ГТТ). ГТТ является классической функциональной пробой, позволяющей оценить инсулинрезистентность тканей организма (Руководство по клинической лабораторной диагностике, 1992; Temelkova-Kurtschiev, Hanefeld, 2002). В обычной модификации ГТТ проводится с определением «сахарной кривой». В наших экспериментах использовали «упрощенный» вариант ГТТ с однократным определением содержания глюкозы в сыворотке крови (Молоковский и др., 2002, 2005; WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus, 1980).

Глюкозу подопытным мышам вводили внутрижелудочно, через зонд в виде 20% раствора в дозе 5 г/кг массы тела животного, непосредственно после окончания иммобилизации. Кровь для определения содержания глюкозы при проведении ГТТ брали у мышей через 25 минут после введения глюкозы при эвтаназии под эфирным наркозом.

Влияние ОЛБ на резистентность слизистой желудка к ulcerогенному воздействию оценивали с использованием модифицированных резерпиновой и бутационовой моделей экспериментального ulcerогенеза (Барнаулов, Денисенко, 1980). Резерпин вводили мышам подкожно, однократно в дозе 5 мг/кг массы животного. Бутацион вводили крысам

внутримышечно однократно в дозе 300 мг/кг массы животного в виде 15% раствора на ацетоне. Забой животных и подсчет деструктивных поражений слизистой желудка производили через 24 часа после соответствующей инъекции. Отдельно подсчитывали общее количество деструкций слизистой и количество крупных (полосовидных и язвенноподобных) деструкций.

Влияние ОЛБ на резистентность ЦНС к дозированной электротравме оценивали методом «открытого поля» (Азбекьян, Лапин, 1974) по изменению двигательного компонента ориентировочного рефлекса. Электротравму наносили специально изготовленными пероральными электродами при силе тока 12 мА в течение 10 сек непосредственно перед помещением животных в «открытое поле» (Лимаренко, 1986).

Гепатозащитную активность ОЛБ изучили на моделях экспериментального тетрахлорметанового гепатита и галактозаминового гепатита, широко применяемых в экспериментальных исследованиях (Макаров и др., 1999; Катикова и др., 2001).

При изучении профилактической гепатозащитной активности фитопрепарата, тетрахлорметан вводили животным однократно, подкожно (в шейную кожную складку), в дозе 2,5 мл/кг массы животного, в виде 50% раствора в подсолнечном масле.

При изучении лечебной гепатозащитной активности ОЛБ тетрахлорметан вводили животным аналогичным образом в дозе 5 мл/кг массы животного, а галактозамин - внутривентрикулярно, 4-хкратно, один раз в день, в дозе 500 мг/кг массы животного.

Забор крови и печени у подопытных животных для последующих биохимических анализов производили при эвтаназии под эфирным наркозом.

Кроме «рутинных» методов, традиционно применяемых в клинической и экспериментальной гепатологии и описанных далее, дополнительными критериями оценки функционального состояния гепатоцитов и всего организма при экспериментальных гепатитах, вызванных тетрахлорметаном и галактозамином, служили барбитуратовый тест, а также ГТТ.

Барбитураты средней и короткой продолжительности действия метаболизируются С-гидроксилированием в микросомальных детоксикационных структурах гепатоцитов. Длительность наркотического барбитуратового сна достаточно полно отражает состояние детоксикационной функции печени и может служить критерием оценки этого состояния (Макаров и др., 1999; Небольсин и др., 2001). Некоторые исследователи предлагают рассматривать результаты оценки детоксикационной функции в качестве интегрального показателя, характеризующего функциональное состояние печени (Гайворонская и др., 2000; Венгерский и др., 2002).

В наших экспериментах барбитурат (тиопентал натрия) вводили подопытным мышам и крысам в эмпирически подобранной дозе 31 мг/кг массы тела животного, внутривенно, в латеральную хвостовую вену. О длительности наркотического сна судили по продолжительности бокового положения животных.

У больных с хроническими гепатитами и циррозом печени сахарный диабет и нарушение толерантности к глюкозе встречается в 5 – 10 раз чаще, чем в среднем в популяции, что связывают, в частности, с возникновением выраженной инсулинрезистентности периферических тканей (Махов и др., 1982; Молекулярная эндокринология, 2003).

Для оценки развившейся при экспериментальном гепатите инсулинрезистентности использовали ГТТ. Глюкозу подопытным мышам вводили внутривентрикулярно, через зонд в виде 20% раствора в дозе 5 г/кг массы тела животного. Кровь для определения содержания глюкозы при проведении ГТТ брали у мышей через 20 минут после введения глюкозы при эвтаназии под эфирным наркозом.

Эксперименты по влиянию ОЛБ на динамику роста саркомы-180 (С-180) проводились на мышцах-самках линии SHR весом 18-20 г; на динамику роста карциномы легких Люиса (КЛЛ) – на мышцах-самках линии С 57 В1 весом 18-20 г. С-180 и КЛЛ перевивали животным в

подушечку задней лапы в количестве 1 000 000 клеток в виде 10% взвеси опухолевой ткани в физиологическом растворе.

Объем опухоли рассчитывали по формуле связывающей объем опухоли, толщину стопы с опухолью и толщину интактной стопы (Ушморев, 1989)

$$F \text{ опухоли} = 52 (e^{0,3D2} - e^{0,3D1}),$$

где F – объем опухоли, D2 – толщина стопы с опухолью, D1 – толщина интактной стопы. Толщину стопы с опухолью и интактной стопы измеряли с точностью до 0,1 мм, используя измеритель часового типа.

Процент торможения роста опухоли, рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ торможения} = (F \text{ контр.} - F \text{ опыт.}) / F \text{ контр.}$$

Антиметастатическую активность фитопрепаратов при КЛЛ оценивали при аутопсии после забоя животных через 30 дней после перевивки опухоли, по значению таких показателей как множественность метастазов в легких (в том числе крупных - более 2 мм в диаметре) и средняя масса легких с метастазами.

Опухоли молочной железы у белых нелинейных крыс-самок массой 200 – 230 г. вызывали однократной интрамаммарной инъекцией канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина (МНМ) в ткань каждой из 12 молочных желез животного, в дозе 1 мг на железу (в 0,1 мл физиологического раствора). Животных подвергали эвтаназии через 57 недель парами эфира; опухоли молочных желез препарировали и взвешивали. Определяли частоту образования и множественность опухолей, процент опухолей подвергшихся полной или частичной регрессии, средний вес опухолей.

Опухоли шейки матки и влагалища у мышей-самок линии SHR массой 20 – 22 г. индуцировали с помощью внутривлагалищных аппликаций на полиуретановых тампонах 0,1% раствора 7, 12-диметилбенз(а)-антрацена (ДМБА) в триэтиленгликоле, 2 раза в неделю, в течение 6 недель. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии парами эфира, а шейку матки и влагалище подвергали биопсии и/или световой микроскопии. Определяли гистологический тип опухоли и частоту образования опухолей.

Содержание глюкозы в сыворотке крови определяли глюкозооксидазным методом, неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) – по методике Itaya, Ui (1965). Концентрацию гликогена в печени определяли по методике Kemp, Heijningen (1954) с небольшой модификацией: для экстракции глюкозы из печени использовали не метанол, а этиловый спирт. Уровень маркера процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), малонового диальдегида (МДА), в слизистой желудка и печени - по методу Н.Д.Стальной и Т.Г.Горишвили (1977).

Спектрофотометрирование проводили на спектрофотометре СФ – 26.

Содержание в сыворотке крови гамма-глутамилтранспептидазы (γ -ГТП), холинэстеразы (ХЭС) и щелочной фосфатазы (ЩФ) определяли на универсальных биохимических анализаторах «Express-550» фирмы Ciba Corning в клинико-диагностическом центре кафедры хирургии 2 ММИ им. И.И.Пирогова и «Cobas Mira+» фирмы Хоффман-Ля Рош Лтд. - в лаборатории Дорожной больницы Октябрьской железной дороги.

Полученные в экспериментах цифровые данные обрабатывали с использованием общепринятых параметрических и непараметрических методов статистики (Гублер, Генкин, 1973; Зайцев, Лифляндский, 2000).

При нормальном распределении вариант в выборке подсчитывали среднюю арифметическую вариант и ошибку средней арифметической ($M \pm m$). Достоверность различия между выборками, в этом случае, определяли точным методом Фишера по критерию Стьюдента (t). При распределении вариант в выборке не соответствующем нормальному, или при малом числе вариант в выборке, достоверность различия между выборками определяли с использованием критерия Вилкоксона-Манна-Уитни (U). Различия между выборками считались значимыми при $P < 0,05$.

Все вычисления производились на PC Pentium 4 – 1,4 ГГц с использованием программного обеспечения MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При 17-ти часовом иммобилизационном стрессе наблюдали достоверное снижение содержания глюкозы в сыворотке крови и гликогена в печени у животных контрольной иммобилизированной группы на 18,1% и в 9,5 раза соответственно, а также повышение уровня НЭЖК на 53,7% по сравнению со значениями данных показателей у интактных животных ($P<0,05$). Среднее количество деструкций в слизистой желудка достигло значения $6,32\pm 1,08$, содержание МДА в слизистой достоверно увеличилось с $15,54\pm 0,09$ мкмоль/г до $20,14$ мкмоль/г, а ректальная температура мышей снизилась до $26,8\pm 0,8$ °С. (табл. 1).

ОЛБ достоверно снизил содержание глюкозы в сыворотке крови у иммобилизированных мышей на 20,0%, повысил сниженное содержание гликогена в печени в 1,8 раза, уменьшил среднее количество деструкций в слизистой желудка в 2,1 раза и содержание МДА в слизистой желудка - на 12,6%, повысил сниженную ректальную температуру на $2,3^{\circ}\text{C}$ ($P<0,05$).

Следует отметить две выявленные в данных экспериментах интересные закономерности. Во-первых, изученное извлечение уменьшало содержание глюкозы в крови у иммобилизированных животных, что хорошо согласуется с полученными нами ранее данными о гипогликемической активности ОЛБ (Молоковский и др., 2002, 2005). При этом, отвар способствовал сохранению гликогена в печени, что свидетельствует об более экономном режиме расходования стрессированным организмом дефицитных углеводных энергетических ресурсов. Во-вторых, ОЛБ существенно уменьшал язвообразование и, при этом, достоверно предотвращал повышение содержания маркера процессов ПОЛ МДА в слизистой желудка.

При проведении ГТТ содержание глюкозы в крови у мышей, подвергнутых 17-ч иммобилизации, было повышено на 64,9% по сравнению со значением данного показателя у интактных животных (Рис.1). ОЛБ предупреждал стрессиндуцированное нарушение толерантности к глюкозе: на фоне применения изученного отвара содержание глюкозы в крови у иммобилизированных животных было снижено на 31,2% ($P<0,05$).

Таблица 1

Влияние отвара листьев березы на содержание глюкозы и НЭЖК в сыворотке крови, гликогена в печени, а также среднее количество деструкций и содержание МДА в слизистой желудка, ректальную температуру при 17-ти часовой иммобилизации мышей

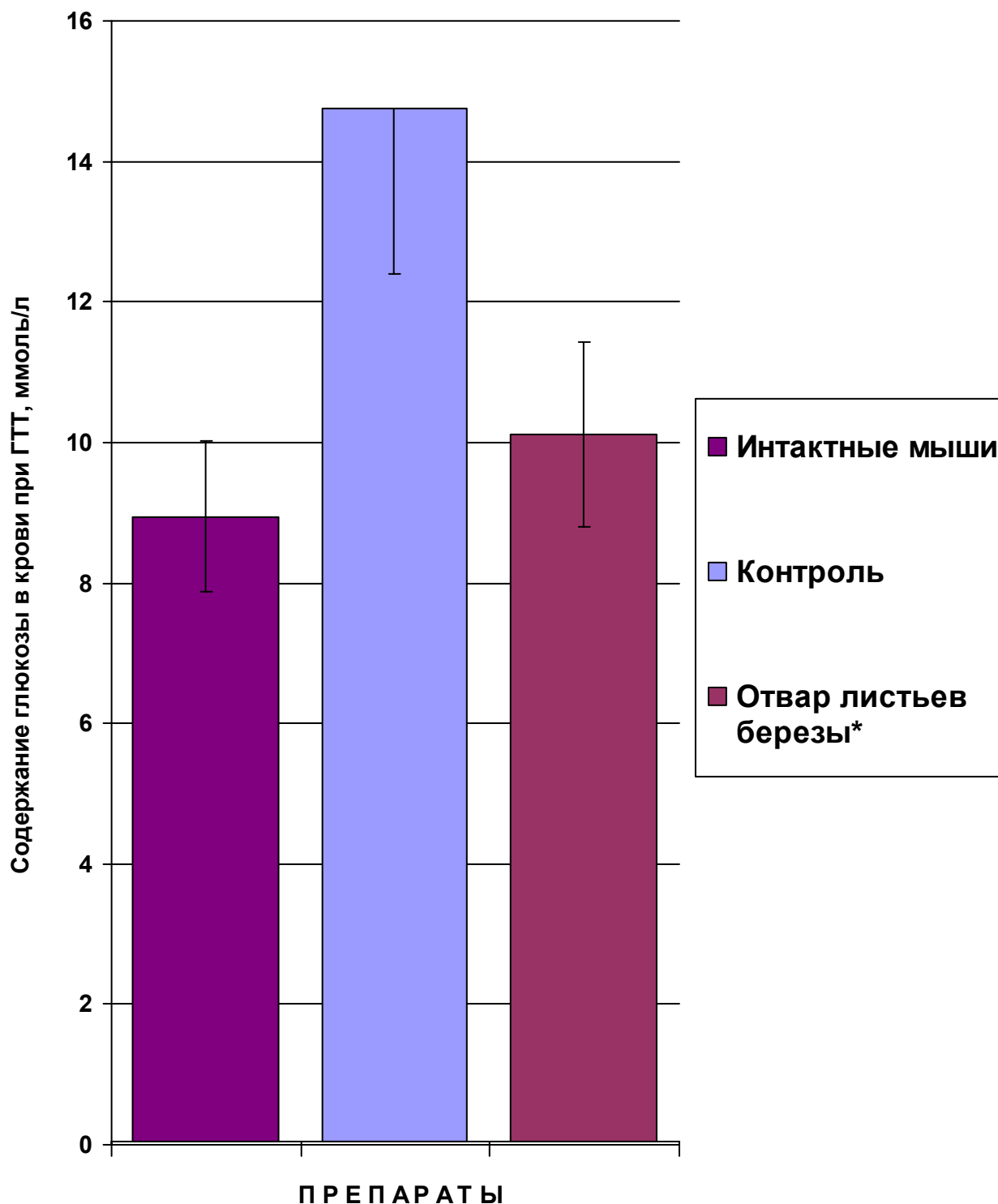
Показатели Препараты	Глюкоза сыворотки, ммоль/л	НЭЖК слизистой, мкэкв/л	Гликоген печени, г%	Количество деструкций слизистой	МДА слизистой мкмоль/г	Ректальная t °С
	Интактные животные	4,76±0,18	268,2±14,8	3,05±0,18	-	15,54±0,09
Подопытные иммобилизованные животные						
Контроль	3,90±0,12	412,6±19,3	0,32±0,04	6,3±1,1	20,14±0,12	26,8±0,8
Отвар листьев березы	3,12±0,11*	362,6±22,3	0,58±0,08*	2,9±0,6*	17,61±0,09*	28,9±0,6**

Примечания: 1. * - $P < 0,05$ по сравнению с интактным контролем по критерию Стьюдента (t);

*- $P < 0,05$ по сравнению с интактным контролем по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни (далее – критерий U);

2. В каждой группе использовали 10 - 12 животных.

Рис. 1 Влияние отвара листьев березы на содержание глюкозы в крови у мышей, подвергнутых 17-ти часовой иммобилизации, при проведении глюкозотолерантного теста



ПРЕПАРАТЫ
Примечания: 1.*- $P < 0,05$ по сравнению с контролем
2. В каждой группе использовали 14 - 18 животных

При резерпиновой модели ульцерогенеза ОЛБ проявил выраженную гастропротективную активность (табл. 2), снизив общее количество деструкций слизистой желудка в 2,1 раза, а количество крупных деструкций – в 2,3 раза ($P < 0,05$). При ульцерогенезе, вызванном введением бутадiona, гастропротективное действие ОЛБ было выражено в несколько меньшей степени. На фоне превентивного применения извлечения общее количество деструкций слизистой желудка было снижено на 28,5% , а количество крупных деструкций – на 45,9 % ($P < 0,05$ по сравнению с контролем).

Таблица 2

Влияние отвара листьев березы на образование экспериментальных деструкций слизистой желудка, вызванных введением резерпина и бутадiona

Показатели Препараты	Использованные в эксперименте животные	Среднее количество деструкций слизистой	
		Все деструкции	Крупные деструкции
Подопытные животные (после введения резерпина)			
Контроль	30 мышей	$9,2 \pm 1,7$	$2,1 \pm 0,4$
Отвар листьев березы	30 мышей	$4,5 \pm 0,8^*$	$0,9 \pm 0,2^{**}$
Подопытные животные (после введения бутадiona)			
Контроль	20 крыс	$19,3 \pm 1,9$	$6,1 \pm 1,1^*$
Отвар листьев березы	20 крыс	$13,8 \pm 1,2^*$	$3,3 \pm 0,9^{**}$

Примечания: 1. * - $P < 0,05$ по сравнению с контролем по критерию Стьюдента (t);

** - $P < 0,05$ по сравнению с контролем по критерию U;

В результате дозированной электротравмы исследовательское поведение мышей в тесте «открытое поле» существенно нарушалось: число ориентировочных вставаний было снижено с $7,6 \pm 1,2$ до $1,5 \pm 0,2$ ($P < 0,05$), а число посещенных животными квадратов – с $11,8 \pm 2,1$ до $3,9 \pm 0,8$ ($P < 0,05$). ОЛБ способствовал ограничению вызванного электротравмой угнетения двигательного компонента ориентировочного рефлекса у мышей, достоверно увеличивая количество ориентировочных вставаний в 2,4 раза, а количество посещенных квадратов - в 2,8 раза ($P < 0,05$ по сравнению с контролем).

Скрининговые эксперименты по выявлению гепатозащитной активности ОЛБ были проведены на мышах с экспериментальным гепатитом, вызванным тетрахлорметаном. В качестве интегральных показателей, характеризующих функциональное состояние печени, были выбраны длительность тиопенталового сна, содержание МДА и гликогена в печени.

Через 18 часов после подкожной инъекции гепатотоксина тетрахлорметана мышам в дозе 2,5 мл/кг длительность тиопенталового сна у животных контрольной группы достоверно

увеличилась в 11,8 раза, а содержание МДА в печени – в 1,9 раза ($P < 0,05$) по сравнению со значениями этих показателей у интактных мышей (табл. 3).

ОЛБ в этом эксперименте проявил выраженную гепатозащитную активность, достоверно сократив длительность тиопенталового сна в 3,9 раза и уменьшив повышенное содержание МДА в печени на 33,7% по сравнению со значением данных показателей в контрольной группе ($P < 0,05$).

В экспериментах по исследованию лечебной гепатозащитной активности изучаемого извлечения были получены сходные результаты: на 8-ой день после подкожного введения тетрахлорметана детоксикационная функция печени у мышей оставалась еще существенно сниженной – длительность тиопенталового сна в контрольной группе была достоверно увеличена в 15,5 раза по сравнению со значением данного показателя у интактных животных. Содержание гликогена в печени было уменьшено на 42,5% по сравнению с интактными животными ($P < 0,05$).

При лечебном режиме введения ОЛБ способствовал восстановлению нарушенной детоксикационной функции печени – достоверно уменьшил длительность тиопенталового сна на 94,1% и повысил сниженное содержание гликогена в печени подопытных мышей с токсическим тетрахлорметановым гепатитом на 83,9% ($P < 0,05$).

Таблица 3

Влияние отвара листьев березы на длительность тиопенталового сна, содержание малонового диальдегида (МДА) и гликогена в печени у мышей с токсическим гепатитом, вызванным тетрахлорметаном

Показатели	Профилактическое применение отвара		Лечебное применение отвара	
	Длительность тиопенталового сна, мин.	МДА печени, мкмоль/г	Длительность тиопенталового сна, мин.	Гликоген печени, г%
Интактные животные	6,6 ± 0,6	54,6 ± 3,4	3,3 ± 1,3	2,54 ± 0,14
Подопытные животные (после введения тетрахлорметана)				
Контроль	77,9 ± 13,0	104,2 ± 7,7	46,9 ± 11,4	1,31 ± 0,12
Отвар листьев березы	15,9 ± 3,1*	69,1 ± 5,6*	2,6 ± 0,6*	2,41 ± 0,19*

Примечания: 1.*- $P < 0,05$ по сравнению с контролем по критерию Стьюдента (t);

2. В каждой группе использовали 13 – 15 животных.

Исследования, проведенные на другом виде экспериментальных животных - крысах, позволили нам подтвердить выявленную лечебную гепатозащитную активность ОЛБ как при тетрахлорметановой, так и галактозаминовой моделях экспериментального гепатита.

На 8-ой день после подкожной инъекции тетрахлорметана, содержание в сыворотке крови у крыс контрольной группы маркеров цитолиза - γ -ГТП и холестаза - ЩФ было достоверно повышено в 2,3 и 3,1 раза (табл. 4). Содержание в сыворотке крови маркера белоксинтезирующей функции печени - ХЭС, было снижено в 1,8 раза, а содержание

гликогена в печени подопытных крыс уменьшилось в 1,9 раза ($P < 0,05$). Длительность тиопенталового сна у подопытных крыс, была повышена в 3,6 раза по сравнению со значением этого показателя у интактных животных.

Применение галактозамина приводило к более выраженным изменениям содержания ферментов-маркеров цитолиза и холестаза в сыворотке крови подопытных крыс. На 8-ой день после последнего введения крысам галактозамина, содержание в сыворотке крови у подопытных животных крыс γ -ГТП и ЩФ было повышено в 4,1 и 4,3 раза соответственно ($P < 0,05$). Содержание ХЭС в сыворотке крови крыс с галактозаминовым гепатитом было достоверно снижено в 1,9 раза, а концентрация гликогена в печени животных уменьшилась в 2,1 раза ($P < 0,05$). Продолжительность тиопенталового сна у подопытных крыс была повышена в 8,6 раза по сравнению со значением этого показателя у интактных животных.

Таблица 4

Влияние отвара листьев березы (при лечебном применении) на содержание гамма-глутамилтранспептидазы (γ -ГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), холинэстеразы (ХЭС) в сыворотке крови, а также гликогена в печени и длительность тиопенталового сна у крыс с токсическими гепатитами, вызванными тетрахлорметаном и галактозамином

Показатели Препараты	γ -ГТП сыворотки нмоль/(с·л)	ЩФ сыворотки (е.а.)	ХЭС сыворотки мкмоль/(с·л)	Гликоген печени, г%	Длительность тиопентал. сна, мин
Интактные животные	362,3±48,4	6,1±1,3	106,7±5,4	2,67±0,22	5,2±0,4
Подопытные животные (после введения тетрахлорметана)					
Контроль	828,2±46,3	18,6±3,6	60,2±3,9	1,44±0,11	18,6±2,3
Отвар листьев березы	450,1±65,1*	7,3±1,5*	82,0±3,5*	2,28±0,31*	8,3±0,9*
Подопытные животные (после введения галактозамина)					
Контроль	1457,9±75,2	26,5±4,1	56,4±3,6	1,26±0,12	49,6±4,9
Отвар листьев березы	698,1±81,8*	14,4±1,7*	72,6±3,8*	2,18±0,23*	16,9±4,7*

Примечания: 1.*- $P < 0,05$ по сравнению с контролем по критерию Стьюдента (t);

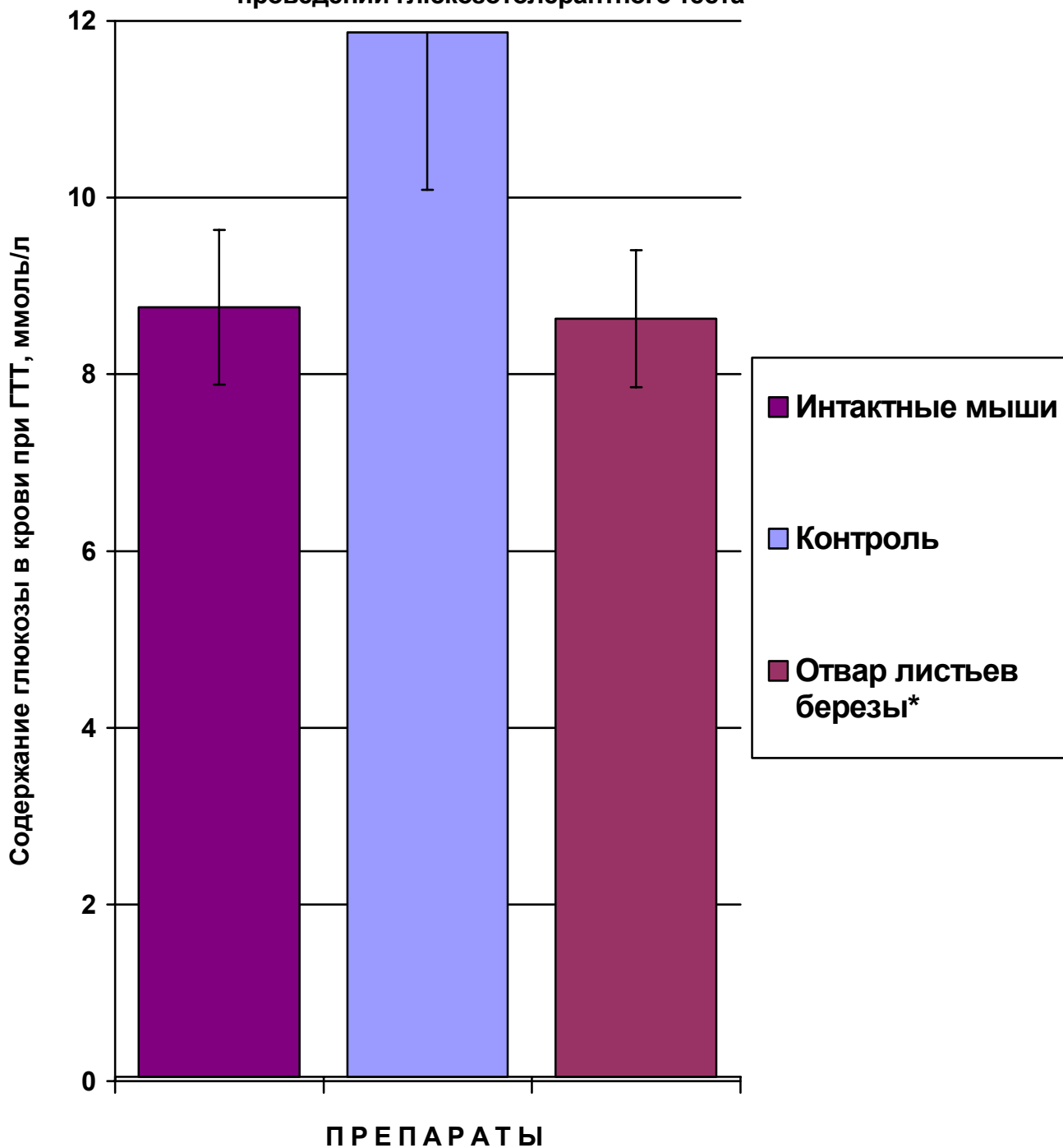
2. В каждой группе использовали 9 – 10 животных.

ОЛБ при тетрахлорметановом и галактозаминовом гепатитах проявил выраженную гепатозащитную активность одного порядка: достоверно снизил повышенный уровень γ -ГТП в сыворотке крови у подопытных животных на 45,7% и 52,1%, ЩФ - на 60,1% и 45,7%

соответственно ($P < 0,05$). Изученное извлечение достоверно повысило сниженное содержание ХЭС в сыворотке крови подопытных животных на 36,2% и 28,7%, а сниженное содержание гликогена в печени в 1,6 и 1,7 раза соответственно ($P < 0,05$). При этом ОЛБ достоверно уменьшил длительность тиопенталового сна при тетрахлометановом гепатите в 2,2 раза, а при галактозаминовом гепатите – в 2,9 раза соответственно.

При проведении ГТТ у мышей с тетрахлометановым гепатитом на 8-ой день после инъекции гепатотоксина толерантность к глюкозе в контрольной группы подопытных животных была существенно нарушена: содержание глюкозы в сыворотке крови подопытных мышей при проведении ГТТ было достоверно повышено на 35,6% по сравнению со значением данного показателя у интактных животных (Рис.2). ОЛБ нормализовал нарушенную толерантность к глюкозе у мышей с экспериментальным гепатитом – достоверно снизил содержание глюкозы в крови при проведении ГТТ на 27,9% ($P < 0,05$).

Рис. 2 Влияние отвара листьев березы (при лечебном применении) на содержание глюкозы в крови у мышей с токсическим гепатитом, вызванным тетрахлометаном, при проведении глюкозотолерантного теста



ПРЕПАРАТЫ
Примечания: 1.*- $P < 0,05$ по сравнению с контролем
2. В каждой группе использовали 14 - 18 животных

При перевивке саркомы-180 мышам линии SHR ОЛБ проявил выраженные противоопухолевые свойства (табл. 5). На фоне применения исследуемого извлечения было отмечено достоверное торможение роста опухоли (43% - 50%) с 10-го дня после перевивки и до конца эксперимента (14-ый день после перевивки).

Таблица 5

Влияние отваров листьев березы на рост саркомы-180 у мышей линии SHR

Показатели	Средний объем опухоли в мм ³ , % торможения				
	Дни после перевивки опухоли				
Препараты	8-ой день	10-ый день	11-ый день	12-ый день	14-ый день
Контроль	129 ± 21	235,7 ± 38,6	297,6 ± 50,2	359,3 ± 47,4	450,7 ± 62,8
Отвар листьев березы	96 ± 17	134,7 ± 25,8** 43%	166,9 ± 2,6* 44%	194,5 ± 8,3* 46%	225,7 ± 34,6* 50%

Примечания: 1.* - P < 0,05 по сравнению с контролем по критерию Стьюдента (t);

** - P < 0,05 по сравнению с контролем по критерию U;

2. В каждой группе использовали 9 - 10 животных.

При перевивке КЛЛ мышам линии С 57 В1 ОЛБ проявил высокую противоопухолевую активность (табл. 6). Исследуемый отвар уменьшил объем опухоли на 38% - 53% на всех сроках наблюдения после перевивки опухоли (P<0,05).

Таблица 6

Влияние отвара листьев березы на рост карциномы легких Льюиса у мышей линии С 57 В1

Показатели	Средний объем опухоли в мм ³ , % торможения			
	Дни после перевивки опухоли			
Препараты	8-ой день	10-ый день	11-ый день	12-ый день
Контроль	66,2 ± 9,9	77,4 ± 12,6	139,8 ± 12,6	267,6 ± 28,9

Отвар листьев березы	23,5 ± 4,3* 53%	36,4 ± 8,4* 53%	76,4 ± 10,6* 45%	166,7 ± 19,3* 38%
----------------------	--------------------	--------------------	---------------------	----------------------

Примечания: 1.*- P< 0,05 по сравнению с контролем по критерию Стьюдента (t);
2. В каждой группе использовали 7 – 10 животных.

Через 30 дней после перевивки мышам КЛЛ при аутопсии легких животных (табл. 7) в контрольной группе средняя масса легких с метастазами составил 457,5±56,7 мг, среднее количество метастазов на одно животное – 12,0 ± 3,2 (из них - 6,4 ± 2,9 крупных и 5,6 ± 0,9 мелких метастазов).

Таблица 7

Влияние отвара листьев березы на множественность метастазов в легкие при карциноме легких Льюиса у мышей линии С 57 В1

Показатели	Среднее количество метастазов в легкие	Среднее количество крупных метастазов в легкие	Среднее количество мелких метастазов в легкие	Средняя масса легких с метастазами, мг
Препараты				
Контроль	12,0 ± 3,2	6,4 ± 2,9	5,6 ± 0,9	457,5 ± 56,7
Отвар листьев березы	2,3 ± 0,8*	1,4 ± 0,5*	0,9 ± 0,3*	231,4 ± 37,9*

Примечания: 1.* - P< 0,05 по сравнению с контролем по критерию Стьюдента (t);
** - P< 0,05 по сравнению с контролем по критерию U;
2. В каждой группе использовали 7 – 10 животных.

Применение ОЛБ привело к достоверному снижению массы легких с метастазами на 49,4% (P<0,05). При этом исследуемый отвар достоверно снизил общее количество метастазов в легкие на 80,1%, среднее количество крупных метастазов - на 78,1%, а среднее количество мелких метастазов - в 6,2 раза соответственно (P< 0,05).

При канцерогенезе молочной железы у крыс ОЛБ практически не оказывал влияния на процессы опухолеобразования (табл. 8).

Таблица 8

Влияние отвара листьев березы на канцерогенез молочной железы у крыс, вызванный N-метил-N-нитрозомочевинной

Показатели	Частота образования опухолей в конце эксперимента, %	Множественность опухолей в конце эксперимента	Число опухолей подвергшихся полной или частичной регрессии, %	Средняя масса опухолей в конце эксперимента, г
Препараты				
Контроль	68%	1,64 ± 0,17	29%	6,5 ± 0,9
Отвар листьев	62%	1,35 ± 0,15	36%	5,2 ± 1,1

березы				
--------	--	--	--	--

Примечание: В каждой группе использовали 23 – 25 животных.

При опухолях шейки матки и влагалища, индуцированных 7, 12-диметилбенз(а)-антраценом (ДМБА) ОЛБ достоверно снизил частоту образования карцином – в 2,6 раза и значение такого показателя как число животных, погибших от опухолей к концу эксперимента – в 1,9 раза (табл. 9).

Таблица 9

Влияние отвара листьев березы на канцерогенез шейки матки и влагалища у мышей, вызванный 7, 12-диметилбенз(а)-антраценом

Показатели Препараты	Число мышей-опухоленосителей в конце эксперимента, (частота образования опухолей), %		Число мышей, погибших от опухолей к концу эксперимента, %
	Карциномы	Папилломы	
Контроль	62%	3%	54%
Отвар листьев березы	24%**	2%	28%**

Примечания: 1. ** - $P < 0,05$ по сравнению с контролем по критерию χ^2 ;

2. В каждой группе использовали 35 – 40 животных.

Анализ полученных нами результатов показывает, что ОЛБ обладает широким спектром фармакологических эффектов. Так, изученное извлечение проявило выраженные стресспротективные, антиульцерогенные, гепатозащитные и антиканцерогенные свойства, предупреждал нарушения ЦНС, вызванные электротравмой. Подобная «универсальность» фармакологических свойств характерна, прежде всего, для препаратов относимых к группе фитоадаптогенов (Дардымов, 1976; Брехман, 1980; Бржихнач, 1982; Саратиков, 1987; Шабанов, 2002). Следовательно, вполне допустимо полагать, что ОЛБ, другие извлечения из этого растения обладают способностью повышать неспецифическую сопротивляемость организма, то есть проявляют адаптогенную активность (Рапп и др., 1991). Однако вопрос о возможных причинах и механизмах подобного действия до сих пор остается открытым.

С нашей точки зрения, относительная «универсальность» биологической активности ОЛБ опосредуется несколькими возможными механизмами.

Во-первых, в данном исследовании установлена способность изученного извлечения нормализовать нарушенную толерантность к глюкозе при иммобилизационном стрессе и при токсическом гепатите. Ранее нами была выявлена антигипергликемическая активность ОЛБ, реализуемая за счет снижения инсулинрезистентности периферических тканей (Молоковский и др., 2002, 2005). Инсулинрезистентность, приводящая к нарушению энергообеспечения углеводзависимых тканей, является одним из ключевых звеньев патогенеза таких патологических процессов и состояний как стресс, сахарный диабет, гепатиты различной этиологии (Махов и др., 1982; Окороков, 1984; Меерсон, 1986;

Балаболкин, 2000; Farius-Silva et al., 2001; Timmis, 2001). Не вызывает сомнения и роль углеводного энергообеспечения для деятельности ЦНС. ОЛБ, нормализуя нарушенную толерантность периферических тканей к глюкозе, с нашей точки зрения, способствует активизации углеводного энергообеспечения тканей, что, очевидно, приводит к повышению их сопротивляемости к различным повреждающим воздействиям.

Во-вторых, ОЛБ предотвратил активизацию процессов ПОЛ в слизистой желудка при иммобилизационном стрессе и в печени – при экспериментальном гепатите, вызванном тетрахлорметаном. Выявленная антиоксидантная активность изученного извлечения является, очевидно, следствием антиоксидантного действия как флавоноидов, так и тритерпеноидов даммаранового ряда, входящих в его состав (Дьячук и др., 2004; Hassing et al., 1999; Pannala et al., 2001). Синтетические и природные антиоксиданты препятствуют развитию ряда патологических процессов со свободнорадикальным звеном патогенеза, в том числе, стрессиндуцированному ulcerogenezу, посттравматическим изменениям в ЦНС, развитию токсических поражений печени, канцерогенезу и опухолевой прогрессии (Меерсон, 1986; Барабой и др., 1992; Сидоренко и др., 1999; Венгеровский, 2002; Halliwell, Gutteridge, 1999; Geronikaki et al., 2000; Chen Yu-Jen et al., 2001).

Гастропротективные свойства ОЛБ при резерпиновой и бутатионовой моделях ulcerogenezа, очевидно, определяются наличием в их составе как флавоноидов (рутин, кверцетин и мирицетин), так и тритерпеноидов даммаранового ряда. Рутин проявил выраженные гастропротективные свойства при бутатионовой модели, а кверцетин и мирицетин – резерпиновой модели ulcerogenezа (Барнаулов, Денисенко, 1980; Барнаулов и др., 1983). Бисгемифталат бетулина и сумма тритерпеноидов коры березы уменьшали язвообразование в слизистой желудка, вызванное введением резерпина и аспирина (Рапп, 1993; Карачурина и др., 2002)

Антиканцерогенные свойства ОЛБ, выявленные в экспериментах при канцерогенезе шейки матки и влагалища у мышей, индуцированного 7, 12-диметилбенз(а)-антраценом, с нашей точки зрения, опосредуются на стадии промоции. Средства с выраженными противовоспалительными свойствами, блокируя стадию промоции, ингибируют экспериментальный канцерогенез (Cassady et al., 1990; Yasukawa et al., 1991). Флавоноиды и тритерпеноиды даммаранового ряда, входящие в состав листьев березы, проявляют отчетливую противовоспалительную активность при различных моделях воспаления (Карачурина и др., 2002; Левицкий и др., 2002; Yasukawa et al., 1991; Hassing et al., 1999).

Неэффективность изученного извлечения при канцерогенезе молочной железы у крыс, вызванном N-метил-N-нитрозомочевинной, с нашей точки зрения, объясняется «гормонзависимостью» таких опухолей, относительно резистентных к «классической» химиотерапии (Демидов и др., 1989; Семиглазов, 1998). Вопрос о влиянии различных извлечений из березы на гормональный статус организма открыт и требует изучения.

ВЫВОДЫ

1. Отвар листьев березы проявляет выраженные стресспротективные свойства при иммобилизационном стрессе у мышей: предотвращает стрессиндуцированный ульцерогенез и гипотермию, повышает сниженное содержание гликогена в печени и нормализует нарушенную толерантность периферических тканей к глюкозе.

2. Отвар листьев березы повышает резистентность слизистой желудка к ульцерогенному воздействию при резерпиновой и бутадииновой моделях экспериментального ульцерогенеза.

3. Отвар листьев березы способствует ограничению вызванного электротравмой угнетения двигательного компонента ориентировочного рефлекса у мышей.

4. Отвар листьев березы оказывает гепатозащитное действие при экспериментальных гепатитах, вызванных тетрахлорметаном и галактозамином: снижает повышенное содержание в крови маркеров цитолиза и холестаза - гамма-глутамилтранспептидазы и щелочной фосфатазы, повышает сниженное содержание холинэстеразы в крови и гликогена в печени, способствует восстановлению нарушенных детоксикационной функции печени и толерантности периферических тканей к глюкозе.

5. Отвар листьев березы проявляет выраженную противоопухолевую активность при перевиваемых опухолях саркоме-180, карциноме легких Льюиса, экспериментальном канцерогенезе шейки матки и влагалища, вызванном 7, 12-диметилбенз(а)-антраценом и не эффективен при экспериментальном канцерогенезе молочной железы, вызванном N-метил-N-нитрозомочевинной.

6. Отвар листьев березы, нормализуя нарушенную толерантность периферических тканей к глюкозе, способствует повышению неспецифической сопротивляемости организма.

7. В реализации стресспротективной, антиульцерогенной, гепатозащитной и антиканцерогенной активности отвара листьев березы существенную роль играет способность изученного фитопрепарата снижать активность процессов перекисного окисления липидов за счет антиоксидантных свойств флавоноидов и тритерпеноидов даммаранового ряда, входящих в его состав.

8. При канцерогениндуцированном канцерогенезе шейки матки и влагалища эффективность отвара листьев березы может быть следствием противовоспалительного действия флавоноидов и тритерпеноидов даммаранового ряда, приводящего к блокаде стадии промоции.

9. Листья березы бородавчатой *Betula pendula Roth.* являются ценным лекарственным сырьем и могут служить основой для разработки галеновых и новогаленовых препаратов с широким спектром биологической активности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Азбекьян С.Г., Лапин И.П. Влияние серотонинэргических и адренэргических препаратов на алкогольное возбуждение у мышей // Фармакология и токсикология. – 1974. – Т 37. - № 4. – С. 393 – 396.
- Балаболкин М.И. Диабетология. – М., 2000. – 384 с.
- Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление липидов и стресс. – СПб: Наука, 1992. – 148 с.
- Барнаулов О.Д., Денисенко П.П. Противоязвенное действие цветков лабазника вязолистного – *Filipendula ulmaria* (L) Maxim. // Фармакология и токсикология. – 1980. - № 6. – С. 700 – 705.
- Барнаулов О.Д., Маничева О.А., Комиссаренко Н.Ф. Сравнительная оценка влияния некоторых флавоноидов на альтерацию стенки желудка у резерпинизированных и иммобилизированных мышей // Хим.-фарм.журнал. – 1983. - № 8 – С. 946 – 951.
- Бржихнач Б. Фармакогостическое изучение листьев женьшеня: Автореферат дисс.....канд.фарм.наук. – Ленинград, 1982. – 22 с.
- Брехман И.И. Человек и биологически активные вещества. – М., 1980. – 120 с.
- Василенко Ю.К., Семенченко В.Ф., Фролова Л.М., Коноплева Г.Е., Парфентьева Е.П., Скульте И.В. Фармакологические свойства тритерпеноидов коры березы // Эксперим. и клин. фармакол. – 1993. - № 4. – Т. 56. – С. 53 – 55.
- Венгеровский А.И., Фармакологические подходы в регуляции функций печени // Бюлл. сиб. мед. – 2002. – Т.1. – N 1. – С. 25 – 28.
- Гайворонская В.В., Оковитый С.В., Шустов Е.Б., Смирнов А.В. Влияние бемитила, этоерзола и яктона на процессы регенерации печени после частичной гепатэктомии // Эксперим. и клин. фармакол. – 2000. – Т. 63. – N 5. – С. 35 – 36.
- Гацура В.В., Саратиков А.С. Фармакологические агенты в экспериментальной медицине и биологии. – Томск, из-во ТГУ, 1977 – 156 с.
- Гончарова Н.Е. Фитохимическое исследование листьев березы повислой, технология лекарственных препаратов и их фармакологическая оценка: Автореферат дисс.....канд. фарм. наук. – Ленинград, 1975. – 19 с.
- Государственная фармакопея XI издания, ч. 1,2. - М.: Медицина, 1987, 1990.
- Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973 – 141 с.
- Дардымов И.В. Женьшень, Элеутерококк. – М.: Наука, 1976 – 183 с.
- Демидов В.П., Островцев Л.Д., Волкова М.А., Асс Н.Я. Рак молочной железы, комбинированное и комплексное лечение // Комбинированное лечение больных со злокачественными опухолями / ред. Киселева Е.С. – М.: Медицина, 1989. - С. 207 – 235.
- Дьячук Г.И., Юрченко И.В., Вишневецкая Т.П., Карлина М.В. Изучение гепатопротекторных свойств бетулина // Вестник Санкт - Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова. – 2004. - № 1. – С. 142 – 145.
- Зайцев В.М., Лифляндский В.Г. Прикладная медицинская статистика.–СПб, 2000. – 300 с.
- Карачурина Л.Т., Сапожникова Т.А., Зарудий Ф.С., Флехтер О.Б., Галин Ф.З. Противовоспалительные и противоязвенные свойства бисгемифталата бетулина // Хим.-фармац. ж. – 2002. – Т.36. – N 8. – С. 32 – 33.
- Катикова О.Ю., Костин Я.В., Ягудина Р.И., Тишкин В.С. Влияние средств растительного происхождения на показатели перекисного окисления липидов при остром токсическом гепатите // Вопр. мед. химии. – 2001. – Т. 47. – N 6. – С. 593 – 598.
- Левицкий А.П. Биофлавоноиды как регуляторы физиологических функций // Вісн. стоматол. – 2001. – N 1. – С. 71 – 76.

- Легостева А.Б. Фитохимическое изучение листьев женьшеня, получение и анализ препаратов, содержащих панаксозиды: Автореф. дисс.....канд. фарм. наук. - Ленинград, 1989. - 27 с.
- Лимаренко А.Ю. Экспериментальное изучение растений применявшихся в народной медицине для лечения эпилепсии: Автореф. дисс.....канд. биол. наук. - Ленинград, 1986. - 16 с.
- Макаров В.Г., Рыженков В.Е., Александрова А.Е. Эффективность эликсира Кедровит при патологии печени и нарушениях липидного обмена (экспериментальные данные) // Эликсиры / под ред. В.Г.Макарова. - СПб: «Адаптоген», 1999. - С. 108 - 127.
- Малиновская Г.В., Похило Н.Д., Маханьков В.В., Уварова Н.И. Листья берез Дальнего Востока и Сибири как источник тритерпеноидов даммаранового ряда // Перспективы освоения лекарственных ресурсов Сибири и Дальнего Востока.: Тез. докл. Всесоюз. конф. - Новосибирск, 1983. - С. 123 - 127.
- Махов В.М., Гитель Е.П., Угрюмова А.Н. Гормональные аспекты нарушений углеводного обмена при хронических диффузных заболеваниях печени // Заболевания печени и желчевыводящих путей: Сб. научн. трудов ЦНИИГ. - М., 1982. - С. 48 - 45.
- Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресслимитирующие системы организма. // Физиология адаптационных процессов (Руководство по физиологии) - М.: Наука, 1986 - С. 521 - 631.
- Микаелян Н.П. Метаболический статус и инсулинсвязывающая активность клеток крови и печени при экстремальных состояниях: Автореферат дисс.....доктора биол. наук. - М., 1992. - 35 с.
- Молекулярная эндокринология. Фундаментальные исследования и их отражение в клинике: Пер. с англ./ под ред. Б.Д.Вайнтрауба. - М.: Медицина, 2003. - 496 с.
- Молоковский Д.С., Давыдов В.В., Хегай М.Д. Сравнительная оценка противодиабетической активности различных адаптогенных растительных препаратов и извлечений из сырья некоторых официальных лекарственных растений // Растит. ресурсы - 2002. - Т.38. - вып.4. - С. 15 - 28.
- Молоковский Д.С., Дьячук, Г.И., Давыдов В.В., Карлина М.В. Экспериментальное изучение антигипергликемической и противодиабетической активности отвара листьев березы // Материалы IX Международного Съезда Phytopharm-2005. - СПб 6, 2005. - С. 508 - 514.
- Небольсин В.Е., Желтухина Г.А., Кржечковская В.В., Ковалева В.Л., Евстигнеева Р.П. Влияние аналогов γ -L-глутамилгистамина на изменение тяжести проявлений экспериментальной анафилактической реакции, гормонального статуса и системы цитохрома Р-450 печени // Вопр. мед. химии. - 2001. - Т.47. - N 3. - С. 301 - 307.
- Окороков А.Н. Секреция инсулина, соматотропного гормона и функциональное состояние соединительной ткани у больных хроническим гепатитом и циррозом печени // Тер. арх. - 1984. - № 2. - С. 67 - 71.
- Рапп О.А., Грибель Н.В., Пашинский В.Г. Адаптогенная активность препаратов из различных частей березы // Состояние и перспективы развития фармации в Сибири и на Дальнем Востоке: Тез. докл. научн.-практ. конф., посвященной 50-летию фарм. факультета. - Томск, 1991. - Т.1. - С. 87 - 88.
- Рапп О.А. Исследование фармакологической активности препаратов березы: Автореф. дисс.....канд.мед.наук. - Томск, 1993. - 30 с.
- Рапп О.А., Пашинский В.Г., Фармакологическая активность экстракта коры березы // Бюлл. СО РАМН. - 1997. - N 4. - С. 138 - 142.
- Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Magnoliaceae - Limoniaceae / под ред. чл.-корр. АН СССР Ал.А.Федорова - Л.: Наука, 1984. - С. 159 - 161.
- Руководство по клинической лабораторной диагностике / Под ред. В.В.Меньшикова - М.: Медицина, 1992. - 598 с.

- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000. – 238 с.
- Саратиков А.С., Краснов Е.А. Родиола розовая – ценное лекарственное растение (золотой корень). – Томск: изд-во ТГУ, 1987. – 254 с.
- Семиглазов В.Ф. Спорные вопросы гормонотерапии рака молочной железы // TERRA MEDIKA. – 1998. – N 1. – С. 26 – 29.
- Стальная Н.Д., Горишвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Методы современной биохимии, М: Медицина, 1977. – С. 66 – 68.
- Суслина З.А., Федорова Т.Н., Максимова М.Ю., Рясина Т.В. и др. Антиоксидантная терапия при ишемическом инсульте // Ж. неврол. и психиатрии. – 2000. – Т. 100. – N 10. – С. 34 – 38.
- Ушморов А.Г. Оценка действия противоопухолевых препаратов на сформировавшиеся опухоли в эксперименте// Эксперим. онкол. – 1989. – Т.1. – N 6. – С.72 – 73.
- Черняева Г.Н., Пермьякова Г.В. Флавоноиды коры *Betula Pendula* Roth. // Растит. Ресурсы. – 2003. – Т. 39. – вып. 1. – С. 64 – 68.
- Шабанов П.Д. –Концепция адаптогенов; истоки, современное состояние, перспективы. – СПб:ВмедА, 2002. – 72 с.
- Cassady J.M., Baird W.M., Chang C.J. Natural products as a source of potential cancer chemopreventive agents // J. Natur. Prod. – 1990. – v.33. – P. 23 – 41.
- Chen Yu-Jen, Shiao Ming-Shi, Hsu Ming-Ling, Tsai Tung-Hu et al. Effects of caffeic acid phenethylester, an antioxidant from propolis on inducing apoptosis in human leukemia HL-60 cells // J. Agr. and Food. Chem. – 2001. – v.49. – N 11. – P. 5615 – 5619.
- De Mello M.A.R., De Souza C.T., Braga L.R., Dos Santos J.W. et al. Glucose tolerance and insulin action in monosodium glutamate (MSG) obese exercise trained rats // Physiol. Chem. and Phys. and Med. NMR. – 2001.- v.33. – N 1.- P. 63 – 71.
- Farius-Silva E.F., Sampaio-Barros M.M., Amaral M.E.C., Cameiro E.M. et al. Stress-induced insulin resistance // Hypertension. – 2001. – v.37. – N 3. – P. 1006 – 1008.
- Geronikaki A.A., Hadjipavlou-Lutina D., Tzaki M. Synthesis of some new thyenil and 1,3-thyazolil-aminoketones with antiinflammatory activity // Arzneim.-Forsh. – 2000. – v.50. – N 3. – P. 266 – 271.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in Biology and Medicine. – 3rd Ed. – Oxford, 1999. – 158 p.
- Hassing A., Liang W.X., Schwabl H., Stampfli K. Flavonoids and tannins: Plant based antioxidant with vitamine character // Med. Hypothesis. – 1999. – v.52. – N 5. – P. 479 – 481.
- Itaya K., Ui M. Colorimetric determination of free fatty acids in biological fluids // J. Lipid Res. – 1965. – v.6. – N 1. – P. 16 - 20.
- Kemp A., Heijningen A. A colorimetric micromethod for determination of glycogen in tissues // Biochem. J. – 1954. – v.56. – P. 646 – 648.
- Pannala A.S., Chan T.S., O'Brien P.J., Rice-Evans C.A. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 2001. – v.282. – N 5. – P. 1161 – 1168.
- Temelkova-Kurtschiev T.S., Hanefeld M. Oral glucose tolerance test: To be or not to be performed // Clin. Lab. – 2002. – v.48. – N 3 – 4. – P. 143 – 152.
- Timmis A.D. Diabetes // Brit. Med. Bull. – 2001. – v.59. – P. 159 – 172.
- Yasukawa K., Takido M., Matsumoto T., Takeuchi M., Nakagava S. Sterol and triterpene derivatives from plant inhibit the effects of a tumor promoter, and sitosterol and betulinic acid inhibit tumor formation in mouse skin two-stage carcinogenesis // Oncology. – 1991. – v. 48. – N 1 – P. 72 – 76.
- WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus // World Health Organization. Technical report series. – 1980. – v.646.