

На правах рукописи

ПОНАМАРЁВ ВЛАДИМИР СЕРГЕЕВИЧ

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА С ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ
АКТИВНОСТЬЮ**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена на кафедре фармакологии и токсикологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Научный руководитель - **Андреева Надежда Лукояновна,**
Доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Зыкова Светлана Сергеевна,**
доктор биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия», заведующая кафедрой фармакологии

Семененко Марина Петровна
доктор ветеринарных наук, Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», заведующая отделом фармакологии

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана"

Защита состоится « ____ »..... 2021 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д.5; тел/факс (812) 388-36-31, e-mail: secretary@spbguvm.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д.5, <https://spbguvm.ru/academy/scince/dissertationalcouncil/>

Автореферат разослан: « ____ » _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Надежда Викторовна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Животноводческий сегмент сельского хозяйства в Российской Федерации, а именно – производство молочной продукции, представляет собой наиболее крупное экономическое направление сельскохозяйственной деятельности. Стратегия 2020 (Концепция долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на срок до 2020 года) определяет основной целью данной сферы гарантию удовлетворения потребностей граждан РФ продуктами аграрного хозяйства. Эти задачи планируются реализовывать с помощью развития российского сельского хозяйства. Стоит отметить: изготовление молочной продукции – это целая объединяющая несколько секторов структура сельскохозяйственной отрасли, которая состоит из всех этапов технологии производства со стадии выращивания крупного рогатого скота и до стадии изготовления конечного продукта (Смирнова А.А., 2014; Ковалёв С.П., 2016; Градинара М.А. и Смертина Е.Н., 2017; Зволинский В.П. и Матвеева Н.И., 2019; Палагин А.В., 2020).

При этом попытки ускорить производственный процесс, несоблюдение требований, касающихся кормления, ухода, использования скота, а также негативное влияние внешних воздействий и ослабевающий уровень адаптации к данным факторам у животных, влекут за собой ухудшение компенсаторных и восстановительных реакций у особей, ухудшение общего состояния жизненно-важных процессов организма, появление целого набора патологий. Эти патологии, как правило, неразрывно связаны с большой вариативностью гомеостатических нарушений, появляющихся из-за развивающегося метаболического синдрома (МС), вызванного ослаблением важных функций печени (Алёхин Ю.Н., 2011-2016; Шабунин С.В., 2006-2018; Бивалькевич Н.В., 2014; Ковалёв С.П., Кузьминова Е.В., 2013-2021; Мерзленко Р.А., 2014; Ковалёв С.П., 2016 г.).

Играя ведущую роль в нормализации метаболических процессах, такой орган как печень, напрямую либо через другие жизненно-важные органы влияет абсолютно на все системы организма животных. Помимо этого, печень представляет собой самый важный элемент гомеостатического функционала – печень принимает участие в большинстве отклоняющихся от нормы (патологических) реакций организма, ослабляющих клетки паренхимы (гепатоциты). Такие процессы запускают крайне тяжелые повреждения органа (разрушение тканей, функциональные сбои, дистрофические отклонения), объясняемые появлением гепатозов различного типа.

В современном мире указанные патологии превосходят в процентном соотношении абсолютно все заболевания печени (гепатопатии) крупного рогатого скота как в плане количества выявлений, так и в плане охвата, а также по причиняемому производителям финансовому урону (Волкова Е.С., 2002; Кузьминова Е.В., 2013; Семенов М.П., 2016; Абрамов А.А., 2018-2020; Алёхин Ю.Н. и Шабунин С.В., 2009).

Вариативность причин подобного рода заболеваний означает, что их изучение и предотвращение должно затрагивать самые разные сегменты сельского хозяйства. Этот факт ставит в приоритет разработку гепатопротекторов нового поколения, которые смогли бы гарантировать обновление и защиту структуры клеток печени (гепатоцитов), а также связанные с питанием и весом нарушения, улучшить восстановление тканей (репарацию) и морфофункциональную систему органа (Кузьминова Е.В., 2013; Семенов М.П., 2017; Зыкова С.С., 2018). Так как печень способна регенерировать поврежденные ткани, препараты для лечения различного рода гепатопатий дают возможность и ослабить прогрессирующие мультифакторные заболевания (МФЗ) до уровня, не оказывающего негативного влияния на функционал печени, и гарантировать повышение защиты организма от возможности появления и развития нарушений обмена веществ у крупного рогатого скота (Добрунов В.А., 2017; Исакова М.Б., 2017; Алёхин Ю.Н. и Шабунин С.В., 2011).

Именно поэтому создание результативных лекарственных препаратов, нацеленных на восстановление гепатоцитов, представляет собой очень важный аспект фармакологии в ветеринарии, который может оказать положительное влияние на всю систему животноводческого хозяйства в Российской Федерации.

Степень разработанности проблемы. Многие признанные авторы (Уша Б.В., 1979; Алехин Ю.Н., 1990-2017; Шабунин С.В., 2006-2012; Зыкова С.С., 2018-2020; Душкин Е.В., 2007-2015; Кузьминова Е.В., Семененко М.П. и Абрамов А.А., 2018-2020) работали над выявлением и объяснением с точки зрения науки способов раннего диагностирования, устранения, а также предупреждения различных патологий печени, в том числе и гепатоза. Для снижения заболеваемости крупного рогатого скота, страдающего от гепатоза, ученые разработали лекарственные препараты, содержащие сорбенты, сложные липиды (фосфолипиды) растительного происхождения, а также аминокислотные элементы.

Самые современные работы специалистов (Семененко М.П., Кузьминова Е.В., 2009-2019; Калюжный И.И., 2013-2016; Тяпкина Е.В., 2014-2018; Мерзленко Р.А., 2012-2018) привели к прогрессивным результатам в вопросах исследования заболеваний печени незаразного происхождения, а также способов лечения данных нарушений у крупного рогатого скота с высокой производительностью молочной продукции. Стоит также отметить, что за сегодня специалисты ветеринарной медицины обращают все большее внимание на вопросы исследования действия комплексных лекарственных средств (инъекций), которые оказывают влияние на патогенез, защищают орган от вредоносных негативных воздействий, активизируют и нормализуют функциональную систему печени, а также обеспечивают сбалансированную фармакокоррекцию всех метаболических процессов.

Тем не менее, целый ряд аспектов, затрагивающих производство и применение подобных лекарственных средств, которые могут решить проблему роста заболеваемости, привести в порядок гомеостаз, функциональность и строение клеточной оболочки гепатоцита, замедлить окислительные реакции фосфолипидов (то есть воздействовать на важнейший этап развития той или иной гепатопатии), активировать необходимые протекторы, все еще остаются малоизученной сферой, требующей теоретического и практического углубления в тему.

Цель и задачи исследования. Основная цель настоящего исследования - разработать новый комплексный препарат «Гепатон-вет», изучить его безвредность, гепатотропные свойства и терапевтическую эффективность при гепатопатиях крупного рогатого скота.

Чтобы добиться вышеуказанной цели, поставлены следующие задачи настоящего исследования:

- создать дизайн нового комплексного гепатопротекторного препарата;
- разработать рецептуру препарата «Гепатон-вет» и оценить его безопасность;
- изучить гепатотропные свойства нового препарата на модели

экспериментального гепатоза;

- определить безопасность, терапевтическую и экономическую эффективность при гепатозе у крупного рогатого скота.

Научная новизна работы. На базе ряда экспериментальных методов впервые создано лекарственное средство с уникальным интегральным фармакологическим ответом, включающим в себя антитоксическое, антиоксидантное и регенерирующее действие; определены физические, химические, токсикологические и фармакологические свойства данного препарата. Кроме того, на практике обоснована его гепапротекторная активность при лечении различных нарушений работы печени у крупного рогатого скота. Описано и доказано его эффективное воздействие на функциональные и структурные показатели органа, на процесс обмена веществ, на окислительные реакции (антиоксидантные и детоксикационные свойства). В процессе работы описаны и представлены инструкции, касающиеся выявления, предотвращения и лечения различных нарушений работы печени у коров. На препарат получен патент (RU2742414C1, Препарат комплексный с гепапротекторной активностью крупного рогатого скота, опубликован в Государственном реестре изобретений и полезных моделей РФ 05.02.2021 г., Бюл.№4). Кроме того, предложено временное наставление по использованию лекарственного средства в ветеринарной практике (на базе проведенных экспериментов и их результатов).

Теоретическая и практическая значимость. Важность изучаемой тематики обосновывается недостаточным ее исследованием в теории и на практике в условиях

нынешнего положения животноводческой сферы. Кроме того, ветеринарная деятельность требует использования актуальных методик для усовершенствования процесса профилактики и лечения различных гепатопатий у животных в производственных масштабах. Получается, что увеличение количества страдающих от нарушений работы печени особей обосновывает всплеск внимания специалистов к вопросу профилактики и лечения гепатопатий, а также к созданию теоретических и практических методик предупреждения и прекращения развития указанных нарушений. Теоретические основы помогут выработать наиболее эффективные способы борьбы с гепатопатиями, что, несомненно, окажет положительное влияние на всю животноводческую сферу сельского хозяйства.

На базе изученных материалов и собственных выводов представлено лекарственное средство нового поколения, включающее целый ряд функциональных свойств, обеспечивающее гепатопротекторные эффекты, показавший положительные результаты в вопросе предупреждения и лечения гепатопатий у крупного рогатого скота, благотворно влияющее на метаболизм, а также гомеостаз.

Помимо прочего, по окончании работы предложены нормативные документы (проект-инструкция), в которых указаны особенности использования лекарственного средства, получены разрешения на клинические испытания согласно приказу Министерства сельского хозяйства РФ от 06.03.2018 г. № 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного средства для ветеринарного применения» у Комитета по ветеринарии Псковской области (разрешение № 01-12/430 от 13.05.2020 г.), а также у Управления Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (№ ФС-НВ-2/15883 от 03.06.2020 г.), подготовлено регистрационное досье.

Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», а также на кафедре анатомии, хирургии и внутренних незаразных болезней ФГБОУ ВО «Нижегородская ГСХА».

Методология и методы исследования. Методологическим базисом стали исследования российских и зарубежных специалистов в сфере фармакологического и токсикологического анализа гепатозащитных препаратов и их использования в процессе лечения нарушений работы печени различного происхождения у крупного рогатого скота. Настоящее исследование также содержит доказанные и проверенные способы изучения фармакологических и токсикологических параметров и результативности применения новых лекарственных средств (в том числе и указанного препарата).

В ходе изучения темы использовались физические, химические, биохимические, клинические, фармакологические, токсикологические, гистологические, гематологические, патоморфологические, а также экономические методы. Помимо всего прочего, указаны и статистические методы исследования, включающие использование современного программного обеспечения (обработка полученного цифрового материала с использованием вариационной статистики и применением критерия погрешности по Стьюденту на компьютере с использованием лицензированного программного обеспечения, применяемого в биологических и ветеринарных исследованиях).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- фармацевтическое исследование нового лекарственного препарата;
- практические исследования его токсико-фармакологических свойств;
- сведения о гепатопротекторной эффективности, полученные с помощью экспериментов;
- экономическая эффективность при применении нового лекарственного средства в процессе коррекции гепатопатий.

Степень достоверности и апробация результатов работы. В ходе исследовательской работы использовались современные методы исследования и специализированное

оборудование. Результаты получены различными независимыми методами. Полученные данные согласуются между собой и взаимно дополняют друг друга.

Результаты исследований доложены на следующих научных и научно-практических конференциях: Международной научно-практической конференции, посвящённой 105-летию ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I «Роль аграрной науки в развитии АПК РФ» (2017 г.); V Международном конгрессе ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», посвященному 145-летию со дня рождения профессора Савича Владимира Васильевича (Санкт-Петербург, 2019 г.); Международной научно-практической конференции «Перспективы развития отрасли и предприятий АПК: отечественный и международный опыт» (г. Омск, 2020 г.); национальной научно-практической конференции с международным участием «Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных, птиц и рыб» (г. Саратов, 2020 г.); IV Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные научно-технические средства и сельскохозяйственные проблемы» (г. Кемерово, 2020 г.); II Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции «Актуальные вопросы развития отраслей сельского хозяйства: теория и практика» (п. Рассвет 2020 г.); XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых «Инновационные тенденции развития российской науки» (г. Красноярск, 2020 г.); VI международной научно-практической конференции "Биотехнология: взгляд в будущее" (г. Ставрополь, 2020 г.); Международной научно-практической конференции "Экология и природопользования» (г. Магас, 2020 г.); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных "Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны" (Санкт-Петербург, 2020 г.); Всероссийской научной конференции «Современные проблемы естественных наук и медицины» (Йошкар-Ола, 2020 г.); Национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ (Санкт-Петербург, 2021 г.).

Личный вклад соискателя. Представленная диссертационная работа является результатом 4-х лет научных исследований автора. Личный вклад автора состоит в самостоятельной разработке концепции работы, постановке и выполнении теоретической и экспериментальной части, анализе и интерпретации полученных результатов. Некоторые исследования и публикации выполнены совместно с профессорско-преподавательским составом кафедры фармакологии и токсикологии, а также другими учёными, являющимися специалистами в области ветеринарной гепатологии, которые не возражают против использования в диссертационной работе материалов совместных исследований.

Публикации результатов исследований. Основные положения и выводы диссертационной работы изложены в 27 публикациях, пять из которых изданы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, две - в международной библиографической базе данных «Scopus».

Также по материалам диссертационной работы в соавторстве опубликованы методические рекомендации по фармакокоррекции гепатопатий различной этиологии у крупного рогатого скота.

На препарат получен и опубликован патент (RU2742414C1, Препарат комплексный с гепатопротекторной активностью крупного рогатого скота, опубликован в Государственном реестре изобретений и полезных моделей РФ 05.02.2021 г., Бюл. №4).

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 142 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, результаты собственных исследований, заключение, список использованной литературы, приложения.

Иллюстрационный материал диссертации включает 5 рисунков и 36 таблиц. Список использованной литературы включает 233 наименований, в том числе 32 иностранных источника.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследования

Исследования проводились с 2017 года по 2020 год в Федеральном государственном бюджетном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», кафедра токсикологии и фармакологии, а также в сельскохозяйственном производственном кооперативе Колхоза «Ленинский путь», Псковская обл., Пушкиногородский р-н.

Практическая основа данной научно-исследовательской работы состоит из детального описания механизма создания, а также выявления фармакологических и токсикологических функций гепатозащитного препарата «Гепатон-вет», лечебной результативности указанного лекарственного средства, касаемой предупреждения и терапии гепатозов животных (нетелей).

Центральным предметом изучения выступает «Гепатон-вет» (рабочее название - Гепатон) – многофункциональное ветеринарное лекарственное средство, которое имеет консистенцию эмульсии, светло-коричневый оттенок, а также особые вкусовые и обонятельные характеристики. Компонентами данного лекарственного средства выступают: метионин, урсодезоксихолиевая кислота (УДХК), Витамин Е (токоферола ацетат), экстракт расторопши пятнистой, сироп шиповника.

В экспериментальном подходе применялись клинические, токсико-фармакологические, количественные химические (гравиметрия), биохимические, морфологические, а также иные методологии анализа.

Для доклинических исследований использовались белые нелинейные крысы из питомника РАМН «Рапполово» Ленинградской области возрастом от 3 до 5 месяцев и массой тела 160–220 г., нелинейные мыши возрастом от 3 до 5 месяцев и массой тела 17–25 г., а также морские свинки и кролики.

Перед исследованием все животные были подвергнуты профилактическому карантинированию. Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла 7 дней. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках (заболеваемость и смертность). Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены в группы по принципу аналогов.

В комнате содержания животных поддерживались следующие условия окружающей среды: температура окружающего воздуха 18-24 градусов Цельсия; относительная влажность 50-60%; автоматическая смена 12-ти часового светового периода (06.00-18.00 – день, 18.00-06.00 –ночь); 100% вентиляция без рециркуляции со сменой воздуха 7-12 объемов комнаты в час.

Животных содержали в поликарбонатных клетках на подстиле площадью 2150 см². В качестве подстилки использовались опилки деревьев хвойных пород, стерилизованные в сушильном шкафу. Для кормления животных использовался комбикорм полнорационный для лабораторных животных ЛБК-120 (Тосненский комбикормовый завод), соответствующий ГОСТ 34566-2019. Профильтрованная водопроводная вода давалась в стандартных автоклавированных питьевых бутылочках.

Доклинический анализ данного лекарственного средства осуществлялся в виварии Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины» согласно «Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях», принятой в Страсбурге в 1987 году.

Непосредственно клинические исследования осуществлялись на крупном рогатом скоте на базе сельскохозяйственного производственного кооператива Колхоза «Ленинский путь», Псковская обл., Пушкиногородский р-н.

Анализ токсикологических свойств лекарственного средства «Гепатон-вет». Общие токсикологические параметры лекарственного средства были проанализированы согласно

«Методическим рекомендациям по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии», установленным отделом ветеринарии Российской академии сельскохозяйственных наук в 1998 году, а также «Научно-методологическими аспектами исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных», разработанными Дорожкиным В.И. и Смирновым А.М. в 2008 году.

Острая токсичность. Анализ токсикометрии указанного лекарственного средства был произведен экспериментально (интрагастральное введение подопытным грызунам). Критерии способности препарата вызывать гибель при однократном интрагастральном введении были оценены с помощью методики Кербера, разработанной в 1931 году. Лекарственное средство единожды вводилось внутрижелудочно лабораторным мышам и крысам посредством зонда с атравматичным концом в максимально возможных физиологических дозах.

Подострая и хроническая токсичность. Данный критерий выявляли в соответствии с рекомендациями по токсико-фармакологическому анализу новейших лекарственных средств для предупреждения и терапии неинфекционных заболеваний (Воронежский филиал Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии, 1998 год). Параметрами анализа указанного критерия на грызунах выступали: общие (клинические) показатели здоровья, количество погибших животных, масса грызунов на протяжении эксперимента, биохимические и морфологические исследования крови/., Кроме того, произведен анализ температуры тела (ректальные пробы), анализ состояния зрения, анализ физиологических показателей (методологии внезапной активизации двигательного аппарата, «открытого поля», анализ комплексного функционала центральной нервной системы, скачки АД, ЭКГ), несколько нагрузочных проб (например, с применением фенолсульфобензойной кислоты секрети почеч, а также гексобарбитала для проверки детоксицирующей функции печени).

Активность работы почек наблюдалась на подопытных крысах по объему мочи, выделяемой за сутки, по биохимическому составу мочи, а также по ее физико-химическим параметрам, которые состояли из анализа прозрачности, оттенка, запаха, степени густоты, а также объема по отношению к выявленным параметрам животных контрольной группы. Количество белковых элементов выявляли посредством процесса закипания с 20% 2-гидрокси-5-сульфобензойной кислоты, пробами Фуше и Адлера выявляли количество пигментов крови и желчи, а пробой Гайнса – количество углеводных соединений.

Нарушения эмбрионального развития под воздействием тератогенных факторов выявлялись в соответствии с «Методическими указаниями по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ».

У морских свинок проведением эпикутанной сенсibilизации выявлялось алергизирующее воздействие (гиперчувствительность к компонентам).

Гепатопротекторные свойства лекарственного средства «Гепатон-вет» выявлялся на различных типах прогрессирования заболеваний у животных, занятых в лабораторных экспериментах (n=50). Для экспериментальных проявления нарушений работы печени применялся дихлорэтан (крысам внутрижелудочно вводили один миллилитр раствора данного вещества (на голову) ежедневно в течение недели).

Анализ фармакологических и терапевтических свойств лекарственного «Гепатон-вет» осуществлялся посредством наблюдения за его воздействием на биохимические показатели крови и клинический статус животных, у которых были выявлены патологии системы метаболизма и заболевания печени (оценку проводили на нетелях).

Эксперименты в животноводческих хозяйствах осуществлялись согласно условиям, обязательным к исполнению при опытах с подборкой животных-аналогов, организации контрольных мер, наблюдению за идентичными условиями кормления и ухода за особями во время осуществления экспериментальной деятельности и сбора итоговых показателей.

Результативность лечения выявлялась по итогам наблюдений за клиническим состоянием нетелей, по биохимическим показателям крови, а также по ультразвуковому исследованию органа контрольных и экспериментальных особей.

Биохимические исследования в лабораторных условиях осуществлялась посредством применения автоматизированного аппарата «Vitalab Flexor Junior».

Если затрагивать вопросы прибыльности (экономической выгоды), то показатели вычислялись согласно «Методическим рекомендациям по определению общего экономического эффекта от использования результатов научно-исследовательских и опытно- конструкторских работ в Агропромышленном комплексе» от 2007 года.

Выявленные в процессе экспериментов количественные показатели проходили обработку с применением комплекса ПО «Statistica 6.0». Данные обозначаются как средний показатель «X», стандартная погрешность среднего показателя – «m». Достоверность различий между сериями выявляли посредством t- критерия Стьюдента.

2.2. Результаты исследования

2.2.1. Фармацевтическая разработка нового лекарственного средства

Исходя из агрегатного состояния подобранных компонентов, их физико-химических свойств и приоритетной формой дачи целесообразнее всего изготовить данную композицию в виде гетерогенной дисперсной системы (эмульсии) типа масло/вода, где масло расторопши выступает в роли эмульгатора, сироп шиповника и токоферола ацетат- липофильные основы эмульсии, метионин- растворимый компонент, урсодезоксихолиевая кислота- нерастворимое вещество, добавленное в препарат путём диспергирования.

Учитывая вышеизложенные факты, разную степень растворимости компонентов препарата и многокомпонентность задуманного средства были создана экспериментальная композиция гепатопротектора со следующим соотношением компонентов: урсодезоксихолиевая кислота- 1,5 г, масло расторопши пятнистой-51 г, метионин-2,25 г, токоферола ацетат-3000 МЕ, сироп шиповника- до 100 мл.

Получившаяся лекарственная форма соответствует ОФС.1.4.1.0017.15 Эмульсии [58]. Препарат представляет собой эмульсию темного цвета со светло-коричневым оттенком, со специфическим травяным запахом.

Согласно ОФС.1.4.1.0017.15 Эмульсии единственным обязательным нормативным показателем для пероральных эмульсий является рН препарата.

Измерение водородного показателя экспериментальных композиций проводили портативным высокоточным рН – метром ИВА-ТЕСТ с автоматической калибровкой. Значение рН испытуемого образца- 5,32 (слабокислая среда).

2.2.2. Токсикологическая оценка препарата «Гепатон-вет»

2.2.2.1. Изучение острой токсичности препарата

Под острой токсичностью понимаются возможные негативные эффекты от приёма фармакологической субстанции, которые отмечаются после единичного или повторного (в течение суток) применения.

Максимальная (исходя из физиологической потребности животных в жидкости) доза гепатопротектора не вызвала гибели животных. В ходе эксперимента установлено, что достоверные различия в динамике массы тела между группами опытных и контрольных животных отсутствуют.

В результате исследований LD₅₀ и LD₁₀₀ для препарата «Гепатон-вет» установлены не было, препарат классифицируется как малотоксичный, относится к четвёртому классу опасности по ГОСТ 12.1.007- 76 «Вредные вещества».

2.2.2.2. Изучение подострой и хронической токсичности препарата

Исследования на субхроническую и хроническую токсичность проводились с целью установления возможных негативных эффектов, которые возникают вследствие длительного использования лекарственного препарата.

Препарат «Гепатон-вет» при введении внутрь в течение 180 дней не вызывает у крыс летального исхода. Кроме того, принятие животными препарата не оказывает влияния на динамику роста массы и интенсивность приёма корма.

Функцию по обезвреживанию чужеродных веществ печени оценивали по продолжительности гексеналового сна. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние препарата «Гепатон-вет» на продолжительность гексеналового сна у белых крыс (n=30)

Сроки исследования	Продолжительность гексеналового сна (мин, М ± m)							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
До начала эксперимента	28,1 ± 1,6	27,2±2,3	26,2±2,4	25,6±1,8	32,2±2,5*	28,6±1,7*	31,3±3,2*	29,2±2,7*
Через 90 дней	30,1±1,7	29,4±2,3	25,2±2,0	27,1±2,3	21,2±1,3*	21,5±1,9*	20,9±1,5*	22,1±1,7*
Через 180 дней	26,1±2,4	31,3±3,2	28,8±2,5	29,0±2,1	20,4±1,8*	19,0±1,1*	19,6±1,3*	20,8±1,4*

* достоверное отличие от контроля (p < 0.05).

Из данных представленной таблицы следует, что исследуемое гепатопротекторное средство уменьшает продолжительность гексеналового сна через 90 и 180 дней после его применения в опытной группе по сравнению с группой контрольных крыс, что косвенно указывает на активацию детоксицирующей функции печени под действием лекарственной формы препарата «Гепатон-вет».

В ходе исследования оценивалось влияние препарата на параметры функционального состояния почек. Существенных изменений со стороны выделительной функции почек при введении препарата «Гепатон-вет» белым крысам не наблюдалось.

Достоверных изменений в структуре поведения животных в процессе исследования субхронической и хронической токсичности из всех экспериментальных групп не наблюдалось.

Введение препарата «Гепатон-вет» в течение 180 суток ни в одной из исследованных доз не влияло на порог возбудимости крыс.

Исследуемый нами препарат «Гепатон-вет» не оказывает существенного влияния на ряд функций нервной системы (в частности на подпороговую суммацию) и ряд показателей функционирования сердечно-сосудистой системы (ЧСС, АД и ряд показателей ЭКГ).

Гематологические исследования крови подопытных животных проводились до начала введения препарата и через 90 и 180 дней введения. Результаты исследования свидетельствуют о том, что в костном мозге крыс, получавших препарата «Гепатон-вет», происходило умеренное, но статистически достоверное увеличение общего количества клеток, а также клеток эритроцитарного ростка, лимфоцитов и мегакариоцитов по сравнению с таковыми показателями животных интактных контрольных групп. Патологических сдвигов костномозгового кроветворения не отмечалось.

Проведенными экспериментальными данными не установлено токсическое влияние препарата «Гепатон-вет» на течение беременности и роды у лабораторных крыс (таблица 2).

Таблица 2. Параметры оценки эмбриотоксического и тератогенного действия препарата «Гепатон-вет» ($M \pm m$; $n=10$)

Параметры	Контроль	Опыт
Эмбриотоксическое действие		
Среднее количество жёлтых тел на одну самку	10,3±0,8	10,4±0,4
Среднее количество мест имплантации на одну самку	10,1±0,5	10,2±0,3
Среднее количество живых эмбрионов на одну самку	9,6±0,3	9,5±0,5
Среднее количество нежизнеспособных эмбрионов на одну самку	0,4±0,2	0,4±0,3
Смертность эмбрионов, %	7,1±0,3	6,8±0,5
Гибель эмбрионов после имплантации, %	59,7±0,6	60,2±0,3
Гибель эмбрионов до имплантации, %	34,6±0,2	32,3±0,3
Выживаемость, %	91,1±0,2	92,3±0,4
Средняя масса одного эмбриона, мг	882,6±14,4	879,8±18,4
Средний размер тела эмбриона, мм	24,9±0,1	24,7±0,3
Тератогенное действие		
Число новорожденных на самку	9,3±0,8	9,4±0,7
Средний вес, мг	6014,5±112,3	6018,2±116,3
Средняя длина туловища, мм	44,3±0,4	43,3±0,9
Различные аномалии и врожденные уродства	Не выявлены	Не выявлены

Значимых различий в плодовитости крыс опытной и контрольной групп установлено не было. Естественные роды у самок наступали на 22-24 дни периода плодоношения. Крысята рождались живыми, отклонения в развитии, а также внешние аномалии в ходе осмотра не обнаружены. Существенных различий в размерах и реакции на внешние раздражители между крысятами опытной и контрольной групп установлено не было. Следовательно, препарат «Гепатон-вет» не оказывает эмбриотоксическое и тератогенное действие на организм опытных животных.

2.2.3. Изучение аллергизирующих свойств исследуемого препарата

Оценку аллергизирующего действия препарата «Гепатон-вет» проводили путем провокационных кожных проб на морских свинках методом накожных аппликаций.

В течение всего периода опыта за животными велись наблюдения, проводилось измерение толщины кожной складки на месте нанесения препарата, а также определялась местная температура кожи.

Результатами исследования сенсibilизирующего действия препарата «Гепатон-вет» как в период изучения препарата, так и после его прекращения, каких-либо изменений в клиническом статусе животных и на месте кожных аппликаций выявлено не было, упругость, эластичность и подвижность кожи животных не изменялась. При пальпации мест нанесения препарата болевая реакция не была выявлена, патологические изменения кожи отсутствовали.

Исходя из результатов клинических испытаний, ответная реакция была оценена как «отрицательная». Следовательно, препарат «Гепатон-вет» не обладает потенциальной аллергенной активностью.

2.2.4. Гепатозащитная активность исследуемого препарата

Моделирование токсического гепатита проводилось согласно методики по Хабриеву Р.У. с использованием дихлорэтана, препараты сравнения- «Эссенциале» и «Легалон». Количество животных в каждой группе (интактные, подвергшиеся отравлению дихлорэтаном, дихлорэтан + «Гепатон-вет», дихлорэтан + «Эссенциале», дихлорэтан + «Легалон») составляло 10 голов.

Клиническая картина в группе без лечения характеризовалась гиподинамией, снижением аппетита (уменьшение потребления корма и воды), заторможенностью, взъерошенностью шерсти, неопрятностью. Наблюдалась некоторая желтушность слизистых оболочек и склер, пальпаторно можно было определить увеличение размеров печени.

При оценке лечения препаратом «Гепатон-вет» и препаратами сравнения показано, что все препараты уменьшают признаки поражения печени, однако при применении «Гепатон-вет» большинство исследованных биохимических показателей возвращаются к физиологической норме.

На 21-е сутки после введения токсикантов производилось биохимическое исследование крови, при котором учитывались показатели антиоксидантной системы (диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов (КД) и малонового диальдегида (МДА), а также уровня эндогенной интоксикации (по содержанию МСМ). Результаты указаны в таблице 3.

Таблица 3. Влияние препарата «Гепатон» на степень липопероксидации при интоксикации дихлорэтаном ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Опытная (дихлорэтан «Гепатон»)	Негативный +контроль (Дихлорэтан)
ДК ₍₂₃₂₎ , опт.ед			
Начало опыта	0,16±0,02	0,56±0,03	0,73 ± 0,02
Конец опыта	0,22±0,03*	0,23±0,02*	0,47±0,02
КД ₍₂₇₃₎ , опт.ед			
Начало опыта	0,14±0,02	0,28±0,04	0,33±0,02
Конец опыта	0,18±0,03*	0,16±0,02	0,27±0,03
МДА ₍₅₃₇₎ , мкМ/л			
Начало опыта	1,57±0,09	2,01±0,02	2,44±0,03
Конец опыта	1,55±0,08	1,71±0,11*	2,27±0,11

* достоверное отличие от контроля ($p < 0.05$).

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что использование препарата «Гепатон-вет» при моделировании острого токсического гепатита позволило восстановить нарушенный гомеостаз организма лабораторных животных, структуру и целостность мембран гепатоцитов, ингибировать процессы перекисного окисления липидов как одного из звеньев патогенеза гепатитов, стимулировать антиоксидантную защиту и мощность эндогенной антиокислительной системы организма, желчеобразование и желчевыделение, а также активизировать репаративные процессы печеночной ткани на клеточном и внутриклеточном уровнях.

2.2.5. Фармакологические свойства препарата «Гепатон-вет»

Цель настоящих исследований - установление специфической активности, и лечебного эффекта препарата «Гепатон-вет».

Изучение фармакологической активности и лечебных свойств препарата «Гепатон-вет» проведено в СПК «Колхоз Ленинский путь» Пушкиногорского района Псковской области на нетелях 3-4 летнего возраста. Предварительно было проведено предварительное обследование животных для оценки их физиологического статуса и возможных нарушений функционального состояния работы печени.

В ходе проведения скрининговых исследований были выявлены животные (n=20) с морфо-функциональными нарушениями печени по типу жировой дистрофии. Диагноз был поставлен на основании клинико-биохимических симптомов

Применение препарата «Гепатон-вет» в течение 21 дня способствовало нормализации показателей белкового, жирового и пигментного обмена, являющихся индикатором морфо-функционального состояния печени, что свидетельствует о наличии у исследуемого препарата гепатопротективных свойств. Расчет экономической эффективности был проведен по результатам использования препарата «Гепатон-вет» для лечения дистрофий печени по жировому типу у нетелей на базе СПК «Колхоз Ленинский путь» Пушкиногорского района Псковской области. Для экономических расчетов была выбрана оптимальная схема терапии препаратом: «Гепатон-вет» – внутрь в дозе 100 мл 1 раз в день в течение 21 дня.

При расчетах использовали курс лекций «Экономическая эффективность применения современных средств в животноводстве, птицеводстве и звероводстве» (И.Н. Никитин, 2010). экономический эффект от применения препарата при лечении гепатоза у коров составил 10,2 руб. на один рубль затрат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа посвящена разработке и исследованию фармакотоксикологических и терапевтических свойств нового комплексного гепатопротекторного препарата «Гепатон-вет», разработанного на базе кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», в состав которого входят масло расторопши, урсодезоксихолиевая кислота, метионин, токоферола ацетат, сироп шиповника.

В результате нами были сделаны следующие **выводы**:

1) «Гепатон-вет» – лекарственный препарат с уникальным интегральным фармакологическим ответом, включающим в себя антитоксическое, антиоксидантное и регенерирующее действие, представленный в форме грубодисперсной системы (эмульсии) светло-коричневого цвета со специфическим травяным запахом.

2) Токсикометрическими показателями «Гепатон-вета», проведенными на различных видах лабораторных животных, установлено, что препарат относится к 4 классу опасности – вещества малоопасные (ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества»).

Длительное введение лабораторным животным исследуемого препарата не выявило патологических изменений основных системах органов.

Применение препарата «Гепатон-вет» не оказывает негативного влияния на функцию почек и мочевыводящих путей у лабораторных животных.

Препарат не обладает раздражающими, алергизирующими и кожно-резорбтивными свойствами, не проявляет эмбриотоксического и тератогенного действия, не влияет на течение беременности и роды лабораторных животных.

3) Гепатозащитная активность препарата, изученная на моделях острого токсического экспериментального гепатита, выявила выраженное гепатопротективное и антиоксидантное действие препарата организм животных, что подтверждалось результатами гистологическими исследованиями печени крыс, у которых отмечались регенерационные процессы паренхимы печени.

4) Фармакологическая и лечебная активность «Гепатон-вета», изученная на нетелях, показала что «Гепатон-вет» терапевтической дозе способен купировать развитие дистрофии печени по жировому типу, а так же нормализует белковый, жировой и пигментный обмен. Экономическая эффективность от применения препарата при терапии жирового гепатоза у коров составила 10,2 рубля на один рубль затрат. Исходя из этого, можно сделать вывод, что использование нового гепатопротекторного препарата не только обоснованно с точки зрения эффективности ветеринарных мероприятий, но и экономически выгодно.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ

Ветеринарной практике и животноводству рекомендуется разработанный и апробированный препарат с гепатопротекторной активностью «Гепатон-вет» (Патент № 2742414 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/198, А61К 31/355, А61К 31/575. Препарат комплексный с гепатопротекторной активностью для крупного рогатого скота : № 2020120624 : заявл. 16.06.2020 : опубл. 05.02.2021 / В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева, О. С. Попова, В. А. Барышев) для лечения жирового гепатоза. Препарат применяется для крупного рогатого скота в дозе 100 мл/голову в течение 21 дня.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полученные данные позволяют в дальнейшем проводить широкие производственные испытания исследуемого препарата других видах продуктивных и непродуктивных животных, а также исследовать лечебный эффект в отношении различных патологий гепатобилиарного тракта.

Перспективным является также дальнейшее совершенствование методов прижизненной диагностики гепатопатий различного генеза с дальнейшей высокоэффективной фармакокоррекцией обсуждаемых патологий.

Дальнейшее изучение механизмов действия гепатопротекторных средств позволит не только моделировать новые соединения с уникальным интегральным фармакологическим ответом, но и потенцировать уже известные лекарственные препараты

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Статьи в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ:

1. Андреева, Н. Л. Влияние Гепатона на ректальную температуру и длительность гексеналового сна / Н. Л. Андреева, **В. С. Понамарев**, М. С. Голодяева // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 44-47.
2. **Понамарев, В. С.** Влияние препарата "Гепатон " на реакции перекисного окисления липидов / В. С. Понамарев, О. С. Попова // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 112-115. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.2.112.
3. **Понамарев, В. С.** Влияние препарата "Гепатон" в сочетании с фитосорбционным комплексом на уровень эндогенной интоксикации / В. С. Понамарев, О. С. Попова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 3. – С. 124-125. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.3.124.
4. **Понамарев, В. С.** Влияние препарата с гепатопротекторной активностью "Гепатон" на показатели периферической крови лабораторных животных / **В. С. Понамарев** // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 116-121. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.2.116.
5. **Понамарев, В. С.** Исследование острой токсичности гепатопротектора "ГЕПАТОН" на грызунах / В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева, М. С. Голодяева // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 4. – С. 81-85.

Статьи, опубликованные в журналах, включенных в международные базы цитирования Scopus:

6. Kalyuzhny, I. Diagnosis of hepatopathy in Holstein cattle with metabolic disorders / I. Kalyuzhny, D. Markova, A. Yashin, A. Prusakov, **V. Ponomarev**, N. Andreeva // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 723 (2021). - С. 1-4.
7. Stepanov, I. Development and application of new methods of correction and prevention of metabolic diseases in holstein cattle/ I. Stepanov, I. Kalyuzhny, D. Markova, A. Yashin, A. Prusakov, **V. Ponomarev**, A. Lunegov // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 723 (2021). - С. 22-30.

Патенты:

8. Патент № 2742414 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/198, А61К 31/355, А61К 31/575. Препарат комплексный с гепатопротекторной активностью для крупного рогатого скота : № 2020120624 : заявл. 16.06.2020 : опубл. 05.02.2021 / **В. С. Понамарев**, Н. Л. Андреева, О. С. Попова, В. А. Барышев.

Методические рекомендации:

9. Фармакокоррекции гепатопатий различной этиологии у крупного рогатого скота : методические рекомендации / Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, **В.С. Понамарёв** [и др.]. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – 19 с.

Статьи, опубликованные в сборниках научных трудов и материалах конференций:

10. **Понамарев, В.С.** Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на суммационно-подпороговый показатель и сердечно-сосудистую деятельность / В. С. Понамарев, Е. С. Королева, А. В. Кострова, К. Д. Русакова // Перспективы развития отрасли и предприятий АПК: отечественный и международный опыт : Сборник материалов Международной научно-практической конференции, Омск, 2020. – С. 213-217.

11. **Понамарев, В.С.** Изучение реакции иммунных комплексов, развивающейся в ответ на введение препарата «Гепатон» лабораторным животным / В. С. Понамарев, Е. С. Королева, А. В. Кострова, К. Д. Русакова // Перспективы развития отрасли и предприятий АПК: отечественный и международный опыт : Сборник материалов Международной научно-практической конференции, Омск, 2020. – С. 218-220.
12. **Понамарев, В. С.** Изучение реакции непрямой дегрануляции тучных клеток при исследовании препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» / В. С. Понамарев, Е. С. Королева, А. В. Кострова // Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам : Сборник научных трудов по результатам работы V Международной молодежной научно-практической конференции, Вологда-Молочное, 23 апреля 2020 года. – Вологда-Молочное, 2020. – С. 117-120.
13. **Понамарев, В.С.** Изучение реакции общей анафилаксии при исследовании препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» / В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева, Е. С. Королева, А. В. Кострова // Актуальные вопросы развития отраслей сельского хозяйства: теория и практика : Материалы || Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции молодых ученых АПК, Рассвет, 12–15 мая 2020 года. – Ростов-на-Дону - Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2020. – С. 186-188. – DOI 10.34924/FRARC.2020.1.63932.
14. Кострова, А. В. Некоторые аспекты проверки безопасности гепатопротектора на растительной основе / А. В. Кострова, **В.С. Понамарев** // XXII Всероссийская научно-практическая конференция Нижневартковского государственного университета : Материалы конференции, Нижневартовск, 2020. – С. 25-28.
15. Кострова, А. В. Изучение алергизирующих свойств препарата «Гепатон» / А. В. Кострова, **В.С. Понамарев** // Инновационные тенденции развития российской науки: Материалы XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых, Красноярск, 08–09 апреля 2020 года. – Красноярск, 2020. – С. 75-76.
16. **Понамарев, В.С.** Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия препарата «Гепатон» / В. С. Понамарев // Инновационные тенденции развития российской науки : Материалы XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых, Красноярск, 08–09 апреля 2020 года. – Красноярск, 2020. – С. 85-86.
17. **Понамарев, В.С.** Раздражающее и кожно-резорбтивное действие препарата с гепатопротекторной активностью "Гепатон" / В. С. Понамарев // Актуальные научно-технические средства и сельскохозяйственные проблемы»: Материалы IV Национальной научно-практической конференции с международным участием, Кемерово, 2020. – С. 178-182.
18. **Понамарев, В.С.** Влияние препарата «Гепатон» на двигательную и исследовательскую активность лабораторных животных / В. С. Понамарев // Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных, птиц и рыб : Материалы Национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию зоотехнического факультета ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова, Саратов, 2020. – С. 106-110.
19. **Понамарев, В.С.** Морфометрические показатели экспериментальных животных при лечении препаратом "Гепатон" токсического поражения печени, вызванного дихлорэтаном / В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева, Е. С. Королева, А. В. Кострова // Биотехнология: взгляд в будущее, Ставрополь, 2020. – С. 16-18.
20. **Понамарев, В.С.** Биохимические показатели крови экспериментальных животных при лечении препаратом "Гепатон" и препаратами сравнения токсического поражения печени, вызванного дихлорэтаном / В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева, Е. С. Королева, А. В. Кострова // Биотехнология: взгляд в будущее, Ставрополь, 2020. – С. 19-21.
21. Андреева, Н. Л. Влияние препарата "Гепатон" на печеночный клиренс с использованием бромсульфалеина / Н. Л. Андреева, **В. С. Понамарев** // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 89-91.

22. Королева, Т. С. Влияние препарата "Гепатон" на показатель цитохрома P450 / Т. С. Королева, **В. С. Пономарев** // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 131-133.
23. Кострова, А. В. Влияние препарата "Гепатон" на показатель протромбинового времени / А. В. Кострова, **В. С. Пономарев** // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 133-136.
24. **Пономарев, В. С.** Влияние препарата "Гепатон" на показатели коагуляционной пробы / В. С. Пономарев // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 144-146.
25. Русакова, К. Д. Влияние препарата "Гепатон" на показатель цитохрома B5 / К. Д. Русакова, **В. С. Пономарев** // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 159-161.
26. **Пономарев, В. С.** Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на выживаемость, массу тела, потребление корма и воды у подопытных животных / **В. С. Пономарев**, Н. Л. Андреева, Е. С. Королева, А. В. Кострова // Современные проблемы естественных наук и медицины : Сборник статей Всероссийской научной конференции, Йошкар-Ола, 18–20 мая 2020 года. – Йошкар-Ола, 2020. – С. 445-448.
27. **Пономарев, В. С.** Влияние препарата «Гепатон» на параметры функционального состояния почек / В. С. Пономарев, Н. Л. Андреева, Е. С. Королева, А. В. Кострова // Современные проблемы естественных наук и медицины : Сборник статей Всероссийской научной конференции, Йошкар-Ола, 18–20 мая 2020 года. – Йошкар-Ола, 2020. – С. 448-453.