ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

На правах рукописи

Понамарёв Владимир Сергеевич

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА С ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Андреева Н.Л.

Санкт-Петербург, 2021 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 13
1.1. Основные функции печени 13
1.2. Этиология и патогенез заболеваний печени у крупного рогатого скота 15
1.3. Терапия и профилактика гепатопатий у крупного рогатого скота 24
1.4. Перспективные гепатопротективные соединения 29
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ 35
3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 40
3.1. Фармацевтическая разработка нового лекарственного средства 40
3.2. Токсикологическая оценка препарата «Гепатон-вет» 43
3.2.1. Изучение острой токсичности препарата 43
3.2.2. Изучение субхронической и хронической токсичности 46
3.2.2.1. Влияние препарата на параметры выживаемости, массы тела, потребления корма и воды 46
3.2.2.2. Влияние препарата на ректальную температуру и длительность гексеналового сна 49
3.2.2.3. Влияние препарата на параметры функционального состояния почек ... 51
3.2.2.4. Влияние препарата на офтальмологические показатели 55
3.2.2.5. Влияние препарата на двигательную и исследовательскую активность 57
3.2.2.6. Влияние препарата на сумационно-подпороговый показатель и сердечно-сосудистую деятельность 61
3.2.2.7. Влияние препарата на показатели периферической крови и характер миелограммы 65
3.2.2.8. Данные некропсии и гистологические исследования 70
3.2.2.9. Эмбриотоксическое и тератогенное действие препарата «Гепатон-вет» 72
3.3. Изучение аллергизирующих свойств исследуемого препарата 74
3.3.1. Реакция общей анафилаксии 74
3.3.2. Реакция непрямой дегрануляции тучных клеток 75
3.3.3. Реакция иммунных комплексов 76

3.3.4. Изучение аллергизирующих свойств препарата методом накожных аппликаций 78
3.4. Гепатозащитная активность препарата «Гепатон-вет» 78
3.5. Фармакологические свойства препарата «Гепатон-вет» 85
3.6. Экономическая эффективность «Гепатон-вет» при лечении гепатоза у крупного рогатого скота 88
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 95
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ 97
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ 98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 100
ПРИЛОЖЕНИЯ 134

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. 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, а также иными связанными с этим сегментом благами. Эти задачи планируется 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 [10, 21, 22, 24, 49, 56, 77].

При этом попытки ускорить производственный процесс, несоблюдение требований, касающихся кормежки, 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 вредоносных патологий. Эти патологии, как правило, неразрывно связаны с большой вариативностью гомеостатических нарушений, появляющихся из-за развивающегося метаболического синдрома (МС), вызванного ослаблением важных функций печени [9, 13, 30, 34, 51].

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, проблемы с питанием и весом – дистрофические отклонения), объясняемые появлением гепатозов различного типа[15, 32, 44, 64, 69, 72].

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 [11, 23, 36, 39, 45, 68, 81, 82].

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), снизить некротические, а также связанные с питанием и весом нарушения, улучшить восстановление тканей (репарацию) и морфофункциональную систему органа[78, 80, 89, 113, 178, 180, 207]. Так как печень способна регенерировать поврежденные ткани, препараты для лечения различного рода гепатопатий дают возможность и ослабить прогрессирующие МФЗ (мультифакторные заболевания) 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 [48, 66, 67, 73, 79, 88, 124, 132].

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, разработаны лекарственные препараты, содержащие сорбенты, сложные липиды (фосфолипиды) растительного происхождения, а также аминокислотные элементы[1, 8, 31, 53, 62, 63, 75, 76].

Наиболее 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 гепатопротекторной 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.) [161], 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 так же на кафедре анатомии, хирургии и внутренних незаразных болезней ФГБОУ ВО «Нижегородская ГСХА».

Методология и методы исследования. Методологическим базисом стали исследования российских и заграничных 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)[91, 92, 112].

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- фармацевтическое исследование нового лекарственного препарата;

- практические исследования его токсико-фармакологических свойств на лабораторных животных;

- сведения о гепатопротектерной эффективности, полученные с помощью экспериментов;

- экономическия эффективность при применении нового лекарственного средства в процессе коррекции гепатопатий крупного рогатого скота.

Апробация работы. 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» (г. Воронеж, ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 1-2 ноября 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, ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 22-24 мая 2019 г.); Международной научно-практической конференции «Перспективы развития отрасли и предприятий АПК: отечественный и международный опыт» (г. Омск, Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 30 марта 2020 г.); национальной научно-практической конференции с международным участием «Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных, птиц и рыб» (г. Саратов, Саратовский ГАУ, 13-15 мая 2020 г.); IV Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные научно-технические средства и сельскохозяйственные проблемы» (г. Кемерово, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, 25 июня 2020 г.); II Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции «Актуальные вопросы развития отраслей сельского хозяйства: теория и практика» (п. Рассвет, Южный федеральный университет, 12-15 мая 2020 г.); XXII всероссийской научно-практической конференции Нижневартовского государственного университета (г. Нижневартовск, Нижневартовский государственный университет, 6-7 апреля 2020 г.); XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых «Инновационные тенденции развития российской науки» (г. Красноярск, Красноярский государственный аграрный университет, 8-9 апреля 2020 г.); VI международной научно-практической конференции "Биотехнология: взгляд в будущее" (г. Ставрополь, Ставропольский государственный медицинский университет, 16 апреля 2020 г.); Международной научно-практической конференции "Экология и природопользования» (г. Магас,

Ингушский государственный университет, 21-23 октября 2020 г.); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных "Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны" (Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», 19-20 ноября 2020 г.); Всероссийской научной конференции «Современные проблемы естественных наук и медицины» (Йошкар-Ола, Марийский государственный университет, 18-20 мая 2020 г.); Национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ (Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», 25-29 января 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».

Так же 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 148 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключение, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, список используемых сокрыщений, 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.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Основные функции печени

В современном мире излишние нагрузки на системы внутренних органов у крупного рогатого скота, объяснимые нацеленностью на повышение количества производимых продуктов животноводства, ведут к сбоям в процессах обмена веществ. Такие нарушения зачастую не сопровождаются явной симптоматикой, однако они ведут к уменьшению производительности у заболевших особей (уменьшение молочной продукции, мясной продукции, субпродукции), ослаблению иммунной системы, репродуктивной способности, нездоровому и слабому потомству.

Так как печень состоит из паренхиматозных тканей, она становится базовым звеном системы обмена веществ у крупного рогатого скота, влияет на ответные реакции организма на внешние воздействия, а также на внутренние биологические и химические реакции, проходящие в организме животных[190, 191, 197].

Наиболее важным функционалом печени выступает получение и ранжирование поступающих из желудочно-кишечного полезных микроэлементов. Эти микроэлементы, находясь в клеточных структурах, подвергаются различным химическим реакциям, становясь или переходным, или завершенным продуктом метаболизма (например, аминокислотами, полисахаридами, сложными липидами и т.д.). Данные элементы посредством циркуляции жидких фракций соединительной ткани попадают в иные системы организма животных [137, 139]

Помимо этого, одной из важнейших опций органа является свойство секреции. То есть, именно печень ответственна за процесс синтеза белков крови: простых растворимых белков (альбуминов), глобулярных белков А и В групп, бесцветного белка (фибриногена), являющегося частью процесса свертываемости крови, изменчивых (то есть лабильных) белков, необходимых организму для

восстановительных функций, сложных белков (липопротеидов), выполняющих транспортные функции, и пр.

Печень обладает детоксикационным свойством – то есть, все вредоносные элементы и инородные компоненты (например, ксенобиотики, в группу которых входят и препараты, и гормональные структуры, и те или иные токсичные вещества) способны обращаться в частично или полностью безвредные соединения.

Не менее значимое свойство печени – ее выделительная, то есть экскреторная способность, позволяющая органу выводить желчные пигменты (билирубин), остаточные элементы гормональных соединений, мочевину, конечный продукт креатин-фосфатной реакции (креатинин), холестерол, находящийся в желчной жидкости. Диссимиляция (катаболизм) и анаболизм в печени являются предметом очень сложных биологических и химических взаимодействий, затрагивающих ее ткани, клетки и молекулярную структуру [16,18,25].

Указанные выше сведения подтверждают, что печень является важнейшим звеном системы метаболизма в организме животных [2,14,20,26,50,71,118,120].

Потребляемый животными корм проходит через ЖКТ, а затем переработанные метаболиты поступают в печень, которая запускает процессы ферментации, «отправляя» полученные микроэлементы в кровь.

Данный орган играет важнейшую роль в терморегуляция организма. При должной работе печень способствует тому, что все системы организма животного выдают корректные реакции на резкие скачки температуры внешней среды, препятствуя перегреву, либо переохлаждению. Такая функция базируется на регуляции основных свойств обмена веществ, а также на появлении изменений в процессах саморегуляции крови, касающихся и биохимических изменений, и изменений на клеточном уровне. Происходят или приток, или отток крови от кроветворных систем, а значит, и от печени тоже [12,18,29].

1.2. Этиология и патогенез заболеваний печени у крупного рогатого скота

В XXI веке нарушения метаболических процессов в организме животных, используемых на крупных комплексах, становятся острой проблемой нынешней сферы животноводства и ветеринарной медицины. В основном заболевания касаются ЖКТ, где печень – важнейшее звено процесса обмена веществ. Заболевания печени, согласно последним статистическим данным, составляют от 40% до 60% от общей неинфекционной патологии крупного рогатого скота. Наиболее часто встречаемым нарушением являются гепатозы различной этиологии. Самые опасные нарушения работы органа (например, инфекционные гепатиты, цирроз печени, заболевания, связанные с деятельностью паразитических форм гельминтов или кровепаразитов, холецистит) сегодня не являются первичной проблемой, благодаря перманентно прогрессирующим методам предупреждения, лечения и профилактики указанных заболеваний, а также работе над исключением инфекционного фактора[28, 130, 179, 189, 212].

Гепатозы – это общее наименование нарушений работы печени с прогрессирующими дегенеративными процессами структуры органа, которые распространены, в основном, у крупного рогатого скота молочного направления. Гепатозы возникают вследствие патологий метаболических процессов, зарождающихся в клеточных структурах печени и ведущих к проблемам должного функционирования клеточных структур при исключении воспалительных факторов [47,66,90,131].

Возникновение подобных нарушений чаще всего влечет за собой уменьшение показателя продуктивности коров, а также сигнализирует о возможном появлении острых заболеваний, связанных с метаболизмом. При наличии гепатозов показатель продуктивности падает, как правило, до 40%, в то время как животное теряет примерно 20% живой массы. Стоит отметить, что с диагнозом «гепатоз» выбраковывается до 30% поголовья [17,99,117,118, 179].

В соответствии с результатами работ известных ученых (Алехин Ю.Н.,2012; Батраков А.Я.,2015; Шабунина С.В.,2015; Семененко М.П.,2016) главными факторами возникновения подобных нарушений выступают: качество кормовых масс, в которых отсутствует должное соотношение полезных и необходимых организму животного веществ, недостаток в них тех или иных микроэлементов (БЖУ); несоблюдение правил и требований к содержанию и уходу за животными. Из-за указанных выше факторов наблюдается рост патологий, ведущих к появлению метаболического синдрома, а также к появлению вторичных и первичных гепатозов.

Но помимо внешних причин, ведущих к появлению таких гепатозов, важно обратить внимание и на внутренние причины, например: нарушения реакций обмена веществ на экзогенный, либо эндогенный инсулин (то есть инсулинорезистентность), метаболизм липидов, который влечет за собой увеличение показателя жирных кислот в крови, циркулирующих в печени, активизацию синтезирования липопротеинов низкой плотности и снижение синтезирования липопротеинов высокой плотности[215], снижение и неспособность организма окислять жирные кислоты в клеточных структурах, слишком активное синтезирование жирных кислот, нарушение процесса бета-окисления [214], метаболизация жирных кислот клетками печени, нарушения одной или нескольких функций печени, дисфункция синтеза белков [216], нарушение секреторной функции, недостаток белка в клеточных структурах органа [27, 192, 200] .Экзогенные причины возникновения указанных нарушений не так обширны: реакции жирных кислот с водой дают повышенное количество конечных продуктов, транспортируемых в клеточные структуры печени и желудочно-кишечного тракта [208]. Клетки печени теряют способность к белоксинтезирующей функции в отношении избытков жирных кислот, поэтому жировые элементы кумулируются в тканях органа, являясь дополнительной питательной средой для микроорганизмов [159].

Совокупность проявления заболевания можно охарактеризовать как группу факторов несвойственных организму реакций при слабо выраженной

симптоматике. Гепатозы, как правило, протекают долго и «скрытно», неявно [114, 115, 134, 176, 179]. При сбоях в работе органа печени все системы организма претерпевают острую нехватку полезных микроэлементов, снижение токсикологического функционала, проблемы с водно-электролитным обменом, а также с процессами метаболизма.

Специалистами подтверждено: степень влияния и происхождение указанных выше причин обуславливают выраженность того или иного вида дистрофического поражения органа. Обычно речь идет о белках или жирах [37, 52, 74]. При этом методологическая база доказала: чаще всего наблюдается смешанная форма подобных нарушений, то есть, затронуты и белки, и жиры [204].

Гепатозы чаще всего возникают примерно в течение месяца до и в течение месяца-двух после рождения потомства. Именно в течение указанного периода животным требуется больше полезных микроэлементов, чем обычно, а также больше энергетических ресурсов организма, которые обеспечивают здоровый процесс вскармливания и максимально полезный состав молока, предназначенного для потомства [218].

В экспериментальных работах Dinicolantonio J.J. et al. [205] указано следующее: дистрофические нарушения, связанные с жирами и имеющие явную симптоматику, у животных нередко появляются в период до родов, при этом у примерно половины крупного рогатого скота острые проявления подобной патологии наблюдаются в период 20 дней до и 20 дней после отела, означая появление жирового гепатоза [201, 213].

В процессе изучения молочных коров Воинова А.А. в 2015 году выявила гепатоз у практически четверти (23,3%) коров от общего количества, а острые симптомы заболевания, связанного с дистрофией, были выявлены у 3,7% животных. Попов Л.К. в исследовании 2013 года обращает внимание на следующий факт: диагностика особей, у которых наблюдаются нарушения мочеполовой системы, может обнаружить латентный гепатоз жиров. При этом максимальный уровень выявления гепатозов (около 84,6%) отмечается в период

четвертой-пятой лактации. Эти данные доказаны выводами патологоанатомических экспертиз [194, 223].

Подавляющее большинство (75%) коров в процессе диагностики и установки коагуляционной пробы (кадмиевая и осадочная) наблюдается реакция-плюс того или иного эквивалента. Данные показатели можно считать отдельным параметром выявления нарушений работы клеточных структур органа печени[224, 225, 226]. При этом у большинства животных (до 70%) по прошествии первых родов наблюдаются нарушения, обусловленные сбоями функционала органа, и к моменту следующего отела указанный показатель стремительно повышается к уровню в 92%[43, 85]. На 3 и последующие роды отмечается спад числа заболевших особей, который обусловлен исключением большей их части из общего количества молочных коров. Животные выбывают на фоне резкого уменьшения показателя производительности, а также плохого качества получаемого продукта.

Дифференциации строения и формы клеток печени у особей всех возрастных групп, безусловно, отличаются. Данный фактор объясняет несхожесть в процессах появления и прогрессирования патологий, имеющих совершенно отличную симптоматику у особей при первичных родах и особей при вторичных и последующих родах. Так как молодняк имеет более высокий уровень метаболизма, растворение клеток паренхимы печени отличается большей интенсивностью, нежели у взрослых коров [98].

Помимо всего прочего, в период вынашивания и в послеродовой период организм животного претерпевает процессы, связанные с работой гормонов, что влечет за собой изменения во всех структурах организма, во всех органах, изменения показателей количества НЖК (неэтерифицированных жирных кислот)[227, 228]. Число данных кислот к непосредственно отелу способно возрастать в разы [222]. Из-за нехватки энергетического ресурса подобные изменения несут в себе риск появления гепатозов. Следовательно, орган претерпевает перегрузки, связанные с притоком и оттоком крови. Вот почему НЖК в процессе циркуляции крови оказываются в печени и локализуются в ее

клеточных структурах. Такие процессы объясняют то, почему в период отела количество неэтерифицированных жирных кислот в органе увеличивается до критических показателей (в 10-13 раз) [162].

Выявленный рост НЖК в момент родов обуславливает их накопление в гепатоцитах сразу после отела (в течение буквально 1-2 часов), что ведет к увеличению количества жирового вещества в органе примерно на 6-7% от общего веса печени. Но стоит отметить: данные процессы у особей, которые демонстрировали абсолютно здоровые показатели и отсутствие проблем с метаболизмом [230], выступают совершенно объяснимым и нормальным явлением, в то время как неграмотно составленные кормовые массы и невыполнение требований по содержанию и уходу за животными, являющиеся причиной дистрофии (а точнее – ожирения), нередко обуславливают возникновение различных гепатопатий [209].

В клеточных структурах органа проходят синтетические процессы, которые включают и синтез кислот желчной жидкости, влияющий на функционал печени, то есть, в том числе на системы вывода билирубина и холестерола [170].

Транспортируемые в орган жирные кислоты вступают в реакции окисления и в конечном итоге распадаются на триалглицериды, входящие в липопротеины низкой плотности, а затем и вовсе посредством биологических изменений превращаются в потенциальный энергетический ресурс в организме животного [181].

Научные работы J.R. Aschenbach (2010) доказывают следующий тезис: количество сахара в крови коров в момент после родов заметно падает (иногда в разы). К примеру, животное с высокой продуктивностью, как правило, за 24 часа перерабатывает около трех-четырех килограммов углеводных веществ, обеспечивающих должнкю концентрацию лактозы (молочного сахара)[233]. Но так как процесс нарушен, набирает интенсивность глюконеогенез[198]. Из-за острого недостатка сахара в крови запускается процесс синтеза лактозы, который в свою очередь задействует ресурсы жиров в организме животного. И тогда возникают проблемы с процессом восстановления НЖК, которые влекут за собой

увеличение концентрации жиров в клетках печени. Следовательно, нарушается функционал гепатоцитов, что приводит к снижению способности клеток синтезировать глюкозу и иные необходимые организму вещества [220].

Появление и прогрессирование гепатозов является причиной разрывов химических связей белковых элементов цитоплазмы гепатоцитов и жировых компонентов, накапливаемых клетками. Такие нарушения запускают процесс некробиоза (необратимых изменений) с дальнейшим отмиранием клеточных структур [225].

Выявление нарушений работы печени у особей с высокой продуктивностью основывается на нескольких критериях: изучение истории болезни, внешний осмотр с пальпацией, забор крови на анализ, а также осуществление ряда обследований (забор тканей на анализ – биопсия, прокол тканей – пункция, УЗИ). [195]

Гепатозы, характеризующиеся дистрофией, в течение долгого периода способны протекать латентно, то есть, бессимптомно, либо быть схожими с проблемами системы метаболизма. Лишь в остром состоянии, которое характеризуется нарушениями функционала, а также органоидами клеточных структур, гепатоз проявляет ярко выраженную симптоматику[231, 232]. Симптомы, как правило, следующие: заметное ослабление должного аппетита, проблемы с жвачными механизмами, заметные проблемы с тонусом рубца, расширение перкуторных размеров органов, болевые ощущения при пальпационном осмотре. Животные начинают страдать от избытка веса, а также от уменьшения количества полезных минеральных веществ в костных тканях [116, 133].

Никулин И.А. и Душкин Е.В. относят увеличение перкуторных границ органа к наиболее значимому показателю наличия гепатозов печени. Здесь указанный фактор обуславливает расширение полей притупления печени, иногда переходящих через двенадцатую реберную дугу[65, 133, 134]. При этом ряд ученых (Хазимухаметова И.Д. (2010) утверждает: данная симптоматика носит

нестабильный, непостоянный характер, и потому на нее нередко влияет стадия и степень тяжести возникшего нарушения работы печени[189].

Сегодня специалисты в области ветеринарии для выявления гепатозов прибегают к проведению биохимических тестов (коллоидальные и осадочные пробы). Именно такая диагностика способна выявить проблемы с синтезом белковых элементов, обуславливающие наличие дистрофий, возникающих в гепатоцитах. Проблемы с синтезированием белка (а именно – уменьшение показателей синтезирования альбуминов) являются причиной сбоев в работе коллоидных процессов в крови. Самой оптимальной пробой в данном случае Ковалёнок Ю.К. (2020) называет цинк-сульфатный тест органа печени[93].

Крайне значимый вклад в выявлении нарушений работы печени у коров вносят тесты, проведенные в лабораториях, в лабораторных условиях, так как теоретические аспекты диагностики обычно применимы только к самым тяжелым стадиям развития гепатозов. В лабораторных условиях у заболевших особей диагностируется повышение количества ацетоновых (кетоновых) соединений в крови и урине, уменьшение количества белковых элементов, а также сахара в крови, ослабление буферной системы крови (истощение щелочного запаса). Также наблюдаются проблемы с терморегуляцией в организме, животные испытывают жар, иногда страдают от повышенного потоотделения.

Как считают Кузьминова Е.В. и Семененко М.П. (2013), животные с выявленным гепатозом страдают от острой формы нарушений нормального баланса белков в крови (диспротеинемии), являющейся следствием уменьшения показателя альбуминов, сопровождающегося повышением показателя γ-глобулинов. Они заключает: повышение количества гамма-глобулинов в случае аномального накопления жиров в клеточных структурах является следствием поражения РЭС (фагоцитирующих тканевых макрофагов, мононуклеаров), которое обусловлено скоплением в клеточных структурах органа недоокисленных элементов, либо токсичных веществ эндогенного происхождения.

В процессе поражения функционала клеточных структур в крови заболевших особей наблюдается увеличение ацетона (кетоновые тела). Их количество может

повышаться на 15-20% и далее. При этом референсный диапазон – от 4% до 6%. Кроме того, происходит и уменьшение показателей глюкозы в 2 раза[86].

Помимо всего прочего, у особей с гепатозами показатель желчного пигмента (билирубина) увеличивается на 16,2% (среднестатистический показатель). Число микро и макроэлементов, наоборот, уменьшается примерно в 1,3-1,7 раз (Mn, Mg), в 1,6-1,8 раз (Zn, Cu), бета-каротин уменьшается на диапазон от 11% до 53 % [97]. Повышается показатель аспартатаминотрансферазы (на 37,3%), а также аланинаминотрансферазы (на 60%) в крови.

Большинство исследователей в данной области установили: в процессе прогрессирования жирового гепатоза у самцов на усиленном кормлении наблюдается активизация перекисного окисления липидов[3, 5, 57, 141, 175, 202, 210].

При промышленных масштабах развитие подобного гепатоза обычно отслеживают на базе показателей прогрессирования синдрома нарушения целостности клеток печени (синдром цитолиза). Он характеризует концентрацию 2-х самых важных эндогенных элементов – аспартатаминотрансферазы, а также аланинаминотрансферазы. Цитолитический синдром обозначается специальным коэффициентом Ритиса. Выявление указанного параметра дает возможность оценить прогрессирование заболевания печени с довольно высокой точностью [119].

Карпенко Л.Ю. отмечает: анализ крови на биохимию у предполагаемо страдающих от нарушений работы печени особей – это совсем не повод для окончательного подтверждения данного заболевания[85]. На основании этого факта вышеуказанные ученые советуют воспользоваться ультразвуковым сканированием органа, чтобы наиболее точно поставить правильный диагноз. Именно данная методика даст возможность обнаружить свойства, присущие нарушениям работы печени. В число этих свойств, как правило, входит расширение метрических параметров органа (гепатомегалия), а также растяжение портальной триады и увеличение показателя плотности тканей. На УЗИ печени в подобных ситуациях наблюдается утончение просветов кровеносных сосудов

органа на фоне повышения концентрации жира в клеточном мешке, которое создает сжатие.

В сфере ветеринарии многие специалисты-гепатологи придерживаются мнения: чтобы достоверно выявить природу и тип гепатоза у животного(то есть исключая патологоанатомические манипуляции), необходимо воспользоваться процедурой биопсии, которая подразумевает гистологический анализ тканевых оболочек органа. Однако данное исследование нелегко провести в промышленных масштабах производства. Как правило, тканевые структуры органа можно изучить лишь после смерти животного или по завершении убоя больных животных (ветеринарно-санитарная экспертиза туш). В процессе гистологического анализа тканей больных особей, подвергшихся убою, нарушения клеточного метаболизма отмечаются у 80% особей [121, 123].

Этого же мнения придерживается и Ратных О.А. Он за указанные выше диагностические критерии предлагает принимать нарушения клеточного метаболизма любой части печени (и «сердцевины», и периферии), обращая при этом внимание на степень поражения клеточных структур. Если основа паренхиматозного органа не затронута изменениями, есть шанс нормализации системы функционирования клеток печени, так как при самых острых формах гепатозов велика вероятность развития энцефалопатии печени – коматозное состояние органа [165].

С помощью гистологического анализа тканей органа можно оценить степень нарушения клеточного метаболизма, основанного на поражении балок печеночных долек, как правило, находящихся в центральной части органа [166, 169]. Также к критериям добавляют обнаружение крупнокапельных и мелкокапельных липидных поражений в гепатоцитах, сопровождающихся нарушениями, связанными с белковыми элементами, являющимися последствием процесса слипания элементов белка во внутренних структурах гепатоцитов с явными разрушениями наноструктурных компонентов гепатоцита [186]. Калюжный И.И. в процессе патологоанатомических операций выявили

гепатомегалию органа, сопровождающуюся изменением его оттенка (желто-серый), структуры, массы, а также наличием на тканях органа слоя жиров[205].

Из вышеуказанного следует, что нарушения работы печени (в основном, связанные с липидными изменениями) негативно сказываются на процессе производства молочной продукции по причине отсеивания большого количества страдающих от гепатозов особей (в особенности через третий-четвертый отел), по причине невозможности иметь потомство, либо появления нежизнеспособного потомства от страдающих от нарушений работы печени особей, по причине спада показателей продуктивности животных и по причине снижения качественных показателей конечной продукции от больных особей.

Из-за обостряющейся ситуации, возникшей на фоне нарушений работы печени, необходимо создание новейших результативных диагностических, терапевтических и профилактических процедур и препаратов, нацеленных на указанные патологические поражения системы метаболизма.

1.3. Терапия и профилактика гепатопатий у крупного рогатого скота

Затрудненность диагностирования большинства нарушений работы органа означает снижение эффективности использования методов лечения гепатозов[177]. Вот почему терапевтическая коррекция у животных, у которых наблюдаются гепатозы, просто обязана базироваться на главных критериях, заключающихся в ликвидации наиболее опасных факторов риска, а также на результативном лечении, которое должно содержать фармако-биологическую корректировку всех степеней тяжести протекающих заболеваний органа[38]. Это значит, что, во-первых, требуется регуляция системы обмена веществ. Чтобы нормализовать данную систему, в корм для животных добавляются АМК, микронутриенты, витамины, а также различные антиоксиданты.

Несмотря на деструктивные процессы, затрагивающие до 75% органа, есть возможность добиться эффективных показателей регенерации печени с помощью правильно подобранного лечения выявленных гепатозов[87]. Но лечение должно

состоять из совокупных методик, имеющих целью не просто ликвидировать источники выявленных патологий, а еще гарантировать реализацию мер, направленных на восстановление обмена веществ у животных, восстановление затронутых патологией гепатоцитов, ликвидацию воспалений и отмирания тканей печени, сопровождающуюся перманентным наблюдением за функциональностью гепатобилиарных органов[94].

Главной задачей предупреждающих мер в случае гепатозов выступает ослабление действия токсичных веществ на клетки печени посредством использования лекарственных средств, имеющих особые качества – сорбция и антитоксикация, которые дают возможность результативно обнаружить и устранить токсичные вещества внешнего и внутреннего происхождения[129].

Центральную роль в процессе реализации предупреждающих мер играет лечение, основанное на диетических принципах. Оно гарантирует комплексное питание молочным особям высококачественными кормовыми массами, в которых соблюдается правильный баланс полезных элементов, учитывающий возраст, а также общее состояние здоровья высокопродуктивных животных. Однако тут важно учесть: кормовые массы не должны содержать вредоносные, некачественные элементы. Кроме того, в их состав должен быть включен преобладающий углеводистый компонент. Коровам необходимо видоизменять график кормления, повышая его частоту до пяти-шести приемов с перманентной подачей воды [173].

Использование калиевого гумата положительно влияет на лечение гепатозов у молодых особей. Данный компонент, добавляемый в кормовую массу в соотношении десять миллиграмм на килограмм веса животного ежедневно на протяжении месяца, обеспечивает улучшение свойств крови, циркулирующей в сосудах (гематокрит – до 10,5%, гемоглобин – до 9,2%), и кровеносных клеточных структур (тромбоциты – до 19%, эритроцитов – до 9%). Использование калиевого гумата обеспечивает приведение в норму гомеостаза посредством повышения показателей совокупности всех белковых фракций (до 8%), сахара в

крови (до 8%), мочевины (до 15,5%), жиров, холистеролов, С-Витамина (от 16% до 18%), уменьшения концентрации креатинина.

Питание животных во время от завершения лактации до отела и некоторое время по завершении родов кормом, содержащим RPC (защищенный холин), воздействует на уменьшение накопительной способности липидов в органе. Этот фактор положительно влияет на состояние организма и степень продуктивности. Кроме того, он уменьшает возможность появления нарушений ЖКТ и мочеполовой системы в период отела. Степень продуктивности в данном случае повышается на 10%[219].

Введение раствора на основе воды и микроэлементов серебра посредством перорального метода (Шамсутдинов И.Р.,2015) воздействует на синтетический функционал белка в органе, а также на образование мочевины, повышая количество альбуминов на 55%, а также уменьшая показатели мочевины на 45%[193].

Метаболизм коров также видоизменяется под действием пробиотиков. Как показали исследования Хазимухаметовой И.Ф. (2010), применение лекарственных средств «Люцевит» и «Ветом» животным, у которых обнаружены гепатопатологии, привело к активизации регенеративной функции в гепатоцитах, к выработке особой имунной системы, а также к нормализации процессов метаболизма. Использование указанных лекарственных средств в течение десяти суток сказалось на повышении показателей в циркулирующей в сосудах крови количества гемоглобина – до четверти от изначального показателя. Кроме того, в крови увеличилась концентрация белкового элемента, углеводов, липидов, АсАТ и АлАТ [199]. На сегодняшний день самыми результативными компонентами лечения гепатопатологий выступают ЭФ (эссенциальные фосфолипиды). Они представляют собой природные продукты метаболизма, которые блокируют процессы высокой концентрации жиров в тканевых структурах, а также обеспечивают нормализацию процесса потребления энергоресурсов и кислорода гепатоцитами.

Данная группа лекарственных средств, предназначенных для ветеринарии, включает в себя гепато-защитный препарат «Гепавет» (витаминно-минеральный премикс), базирующийся на работе ЭФ, которые производят из лецитинов. Использование указанного препарата на поросятках приводит к нормализации количества белков в крови, повышению показателя альбуминов (от 13% до 15%), уменьшению показателя глобулинов (от 7% до 9%) и уменьшению показателей аланинаминотрансферазы – от 54% до 57% и аспартатаминотрансферазы – от 50% до 52%.

В целях предупреждения и лечения гепатозов применяют лекарственные средства, изготовленные на базе цианокабаламина, напрямую воздействующие на ассимиляцию в клеточных структурах, на синтез белковых элементов, оптимизируя функционал органа посредством нормализации аденозинтрифосфат-аденозиндрифосфат взаимодействий. В12 нормализует синтез крови, воздействует на выработку АЦХ, уменьшает концентрацию холистерола [184].

Благоприятный эффект отмечен и в процессе использования лекарственного средства «Катозал» (США), базисом которого выступает бутофан. Данный препарат необходимо вводить в период от завершения лактации до последующего отела в/м инъекцией в количестве десять миллилитров установленными индивидуально циклами.

Чтобы стабилизировать поврежденный функционал органа, рекомендуется использование лекарственного средства «Гепатон-ветик» за два месяца и месяц перед родами в количестве 80 миллилитров единожды в день в пятидневный период, или же в комбинации с сапропелем. Использование данного средства увеличивает показатели гемоглобина – до 9,4%, уменьшает количество лейкоцитов – до 21%, расширяет фракции альбуминов – до 24%, сахара – до 34%, снижает показатели холестерина – до 9%, жиров – до 16%, мочевины – до 10,5% [164].

Стоит также обратить внимание на «Ларикарвит» – лекарственное средство, созданное исследователями Государственной сельскохозяйственной академии Белгорода в сотрудничестве со специалистами закрытого акционерного общества «Петрохим». Данный препарат содержит А-Витамин, D3-Витамин, Е-

Витамин, каротиновые компоненты, хлорофилл, антиоксидантный состав лиственницы. Применение указанного лекарственного средства повышает показатели белковых элементов на 12,5%, уменьшает показатели щелочной фосфатазы до 5,2%, аланинаминотрансферазы – до 27%, аспартатаминотрансферазы – до 11% [135].

Учеными из НИВИ (г. Краснодар) создан «Ликверол» – лекарственный препарат, вводимый посредством инъекций. В его состав входят бутандиовая кислота, ниацин, а также ДГК (дигидрокверцетин) и ДМСО (диметилсульфоксид). Данное лекарственное средство показывает положительные результаты в предупреждении и лечении гепатопатологий молочных коров, оптимизируя как общее здоровье особей, так и процессы обмена веществ в организме животных[63].

Если обнаружены проблемы с метаболизмом у особей, разводимых для производства молочной продукции, можно обратить внимание на лекарственное средство «Кальфосет». В его составе присутствуют глюконат Ca, хлорид Mg, а также глицерофосфат Ca. Использование указанного лекарственного средства в комбинации с еще одним лекарственным средством – «Мультивитамином» (разработан Зухрабовым М.Г. в 2012 году) – положительно сказывается на взаимодействии кальция и фосфора в организме животных, а также нормализует метаболизм белков и углеводов [136].

В широком ассортименте гепатозащитных лекарственных средств также важно отметить сочетающее в себе ряд полезных компонентов средство (изготовитель – Российская Федерация, общество с ограниченной ответственностью «Api-San»), содержащее L-аргинин, L-орнитин и L-цитруллин, а также дополнительные полезные элементы. Защитные функции данного препарата активны благодаря содержащимся в нем аминокислотам: например, бетаин стимулирует процессы передачи метильной группы в гепатоцитах, а также выработку сложных липидов; L-аргинин нормализует процесс обмена веществ в клеточных структурах, контролируя активность различных ферментов и углеводов; L-орнитин ведет к уменьшению аммиачной концентрации и в то же

время нормализует синтезирующую функцию белковых и гормональных элементов (инсулин и СТГ), L-цитруллин играет важную роль в активности и ликвидации мочевины[221].

Важно уточнить: зачастую непростые, а также многофакторные схемы прогрессирования нарушений работы печени нуждаются в создании и применении целостного спектра предупреждения, лечения заболеваний подобной категории.

1.4. Перспективные гепатопротективные соединения

При нацеленном на повышение количественных показателей механизме организации производства продукции животного происхождения крайне возрастает риск развития неинфекционных патологий. Данные патологии представляют собой поражения, затрагивающие систему метаболизма у животных, нарушающие процессы обмена веществ. Появляющиеся по причине неправильного питания, а также ухода за животными, данные патологии характеризуются долговременным и непрерывным прогрессированием, которое или не имеет явной симптоматики или же имеет слишком общую симптоматику. Подобные заболевания напрямую влияют на прибыльность не только локального производства, но и всей сферы производства продукции животного происхождения в целом. Вот почему разработка лекарственных средств, дающих возможность улучшить состояние метаболизма при различных патологиях у крупного рогатого скота и увеличить шансы на стабильную продуктивность и поддержание нормального функционирования всех систем организма животных, – это крайне значимая и необходимая мера [95, 100, 103].

Базисом механизма усовершенствования российской токсико-фармакологической сферы ветеринарии является и решение вопросов, связанных с изготовлением лекарственных препаратов из натуральных компонентов, которые имеют как можно меньше побочных эффектов, комплексно воздействуют на различные заболевания, а также обладают приемлемой стоимостью [111].

Данная группа соединений включает гуминовые компоненты – особые молекулярные строения, имеющие большой молекулярный вес и появляющиеся при растворении в воде органических соединений организмов, завершающих жизненный цикл. Элементами подобных лекарственных средств иногда выступают группы гумусовых кислот, гуминовые кислоты, их солевые соединения, угольные вещества, а также отдельные компоненты угля. Если говорить о практической составляющей ветеринарной медицины и производства продуктов животного происхождения, гуминовые вещества, как правило, применяются как средства выведения токсинов (энтеросорбенты), как средства, поддерживающие иммунитет (иммуномодуляторы), как средства, нормализующие систему метаболизма[7, 61].

При производстве продукции животного происхождения большое количество примесей к кормовым массам, которые изготавливаются на базе натуральных фульвовых, а также гуминовых кислот: «Лигфол», «ЭСТ-1» (энтеросорбент), «Гуминт», «Ферростим-200», «Гумивал» [65, 103, 105]. «Гумивал» представляет собой примесь к кормовым массам, которая появляется в процессе естественного превращения лигнина в гуминовые соединения. Препарат воздействует на общий метаболизм животных, а также на степень устойчивость организма к повреждениям (неспецифическая резистентность). Кроме того, препарат способен снижать уровень кортизола за счет улучшения работы надпочечников.

«Гуминат» состоит из ряда Na-солей гуминовых соединений. Такой состав позволяет блокировать развитие язв в ЖКТ. Помимо всего прочего, данные вещества позволяют стимулировать процесс клеточного захвата твердых соединений (фагоцитоз), показатель антибактериального барьера (лизоцим) в крови, выведение токсинов из организма, системы биосинтеза белка, находящегося в клетках печени [103].

Использование лекарственного средства «Гумадапт» хорошо сказывается на общем состоянии здоровья особей, увеличивает устойчивость их организма к различным поражениям.

Препарат «ЭСТ-1» (энтеросорбент) изготавливается из торфа низкой степени разложения (сфагновый) и имеет явное свойство поглощения (сорбция) вредоносных микроорганизмов, а также синтезируемых ими соединений, различным металлам (в основном – тяжелым), токсинам всех этиологий (воспроизводимых организмом животных или же попадающих в организм животных извне) и так далее. Благодаря активному свойству поглощения (сорбция здесь вдвое и более выше, нежели показатели других популярных препаратов – «Зоосорб», «Полифепан», АУ), данное лекарственное средство обладает результативной терапевтической направленностью, которая борется с заболеваниями ЖКТ у крупного рогатого скота.

«Лигфол» представляет собой лекарственное средство, содержащее гуминовые кислоты. Его главная задача – активизация функционала гормона кортизола, а также адаптивности организма посредством иммуно-антиоксидантных свойств содержащихся в препарате элементов. Лекарственное средство необходимо вводить методом внутривенной инфузии в обход ЖКТ. Оно нормализует имунный функционал клеточной структуры, работу фагоцитов, а также работу гормона кортизола (стресс-корректорное свойство). Кроме того, лекарственное средство обладает и гепатопротекторным действием, влияя на клеточную структуру в процессе ее окисления (окислительный стресс).

«Ферростим-200» представляет собой лекарственное средство, главным компонентом которого выступает Fe. Кроме того, оно содержит целый ряд аминокислот, фульвовых кислот, гуминовых соединений и смесь БАВ. Препарат применяется в целях предупреждения и лечения анемии, связанной с нехваткой железа в организме особей.

Указанная выше информация подтверждает необходимость дальнейшей разработки и применения препаратов на базе гуминовых элементов, так как подобные разработки являются экологически чистыми, приемлемыми по ценовому сегменту, антитоксичными для организма животных, а также многофункциональными в вопросах предупреждения и лечения различных патологий [112].

Использование различных трав, а также препаратов, производимых на основе полезных растений, практиковалось с очень давних пор. Но только в конце XX и в нашем веке число целебных средств, изготовленных с добавлением элементов растительного происхождения, возросло в разы.

В ветеринарной медицине концентраты, настои, экстрактные компоненты применяются не реже, нежели в практике медицины.

При этом гуманитарная практика насчитывает десятилетия работы над созданием и использованием лекарственных средств, в состав которых входят фосфолипиды, для предупреждения и терапии различных патологий сердечно-сосудистой системы, патологий печени, для нормализации функции транспортировки полезных компонентов ко всем системам и структурам организма животных[134]. Из-за широкого спектра возможностей и свойств фосфолипидов, а также лекарственные средства, содержащие фосфолипиды, можно успешно использовать и в ветеринарной практике.

На сегодняшний день разработан целый ряд комплексных гепатозащитных лекарственных средств для животных («Гепавитол», «Гепатиале-форте», «Гепатовет», «Гепатолюкс»). Они содержат ЭФЛ, которые синтезируются из различных растений. Самыми популярными и востребованными сегодня считаются лекарственные средства, в состав которых входит расторопша пятнистая (лат. Silybum marianum)[33]. Подобные лекарственные средства обеспечивают комплексную терапию организма животных за счет своих гепатозащитных защитных свойств, а также за счет положительного воздействия на систему ЖКТ [59, 101, 102, 138, 167, 183, 187].

Когда речь заходит о гепатопротектерной функции ЭФЛ в отношении гепатоцитов, важно принять во внимание: система работы подобных препаратов состоит в нормализации функционирования РНК-полимеразы [40], а также синтезирования белковых элементов в рибосомах клеток печени. Кроме того, эти лекарственные средства обладают активным антиоксидантным свойством, которое благодаря флаваноидам биопроисхождения, являющихся растительными

компонентами, могут блокировать окислительные реакции жиров и затормаживать прогрессирование различных дистрофий, наблюдаемых в гепатоцитах [109].

Важно также учесть: большинство гепатозащитных лекарственных средств и соединений, выполняющих гепатозащитный функционал, могут оказывать положительное воздействие на механизмы перекисного окисления липидов посредством замедления первичных и вторичных веществ липпероксидации, содержащихся в гепатоцитах, объясняющих прогрессирование различных патологий печени[183].

В группу БАВ, изготавливаемых из растений и имеющих гепатозащитную функцию, также включены сапонины (сложные, не содержащие азота, органические соединения из гликозидов, то есть глицирризиновая кислота). Сегодня данные вещества, добываемые из корневых систем лакрицы, применяются в лечении гепатита хронической стадии [14]. Кроме того, эти соединения используются для лечения воспалительных процессов в легких, в тонком кишечнике, ЖКТ у животных. Однако в виде гепатозащитного средства корень солодки не используется.

Соединения, ингибирующие токсины, а также процессы окисления, представляют собой продукты растительного происхождения, содержащие различные фенолы. К таковым относят: астрагал эспарцетовый, календулу, зубчатку позднюю и маакию амурскую. Подобные препараты – это многофункциональные нормализаторы клеточных мембран, которые имеют гепатопротекторные свойства, способны снимать спазмы, блокировать развитие воспалительных процессов [37].

Соединения растительного происхождения (например, соки редьки, артишок, отруби риса, чесночный концентрат, морковный концентрат на водной основе, подсолнечные и соевые семена) – это тоже своего рода вещества-антиокислители. Также в некоторых источниках можно найти информацию о гепато-защитных свойствах растений: женьшень, клевер люпиновый, лимонник китайский, полынь горькая, тысячелистник азиатский, люцерна посевная, чистотела.

Подводя итоги всей вышеуказанной информации, взятой из литературных источников, не остается никаких сомнений: создание новейшего многофункционального гепатопротекторного препарата для отрасли российского сельского хозяйства – крайне важная и востребованная сегодня задача.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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.

Организацией ряда экспериментальных и клинических диагностик, требующих выполнения в лабораторных условиях, занимались: Понамарёв В.С., Андреева Н.Л., Лунегов А.М., Попова О.С.

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.

Предклинический анализ данного лекарственного средства осуществлялся в виварии Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургского государственного университет ветеринарной медицины» согласно «Европейской Конвенцией по защите позвоночных

животных, используемых в экспериментальных и других научных целях», принятой в Страсбурге в 1987 году [70].

Непосредственно клинический анализ осуществлен 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 функции 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 [126], а также «Научно-методологическими аспектами исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных» [35, 42, 46].

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 помещении для 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% вентилирование без рециркуляции со сменой воздуха 7-12 объемов комнаты в час[182].

Животных содержали в поликарбонатных клетках на подстиле площадью 2150 $см^2$. В качестве подстилки использовались опилки деревьев нехвойных пород, стерилизованные в сухожаровом 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[54].

Острая токсичность. Анализ токсикометрии указанного лекарственного средства был произведен экспериментально (интрагастеральное введение подопытным грызунам). Критерии способности препарата вызывать гибель при однократном интрагастеральном 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 заранее рассчитанных дозах[83, 84. 128, 171].

Подострая и хроничекая 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 фенолсульфофталеина секреции почек, а также гексобарбитала для проверки детоксицирующей функции печени)[128, 171].

.

Активность работы почек наблюдалась на подопытных крысах по объему мочи, выделяемой за сутки, по биохимическому анализу мочи, а также по ее физико-химическим параметрам, которые состояли из анализа прозрачности, оттенка, обонятельных характеристик, степени густоты, а также объема по отношению к выявленным параметрам контрольных особей. Количество белковых элементов выявляли посредством процесса закипания с 20% 2-гидрокси-5-сульфобензойной кислоты, пробы Фуше и Адлера помогли выявить количество пигментов крови и желчи, а проба Гайнса – количество углеводных соединений[122, 171].

У морских свинок проведением эпикутанной сенсибилизации выявлялось аллергизирующее воздействие (гиперчувствительность к компонентам)[4, 110, 163, 188].

Нарушения эмбрионального развития под воздействием тератогенных факторов выявлялись в соответствии с «Методическими указаниями по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ» [6, 41, 58, 160, 164, 168].

Гепатопротекторные свойства лекарственного средства «Гепатон-вет» выявлялся на различных типах прогрессирования заболеваний у животных, занятых в лабораторных экспериментах. Для экспериментальных проявления нарушений работы печени применялся дихлорэтан (крысам внутрижелуочно вводили один миллилитр раствора данного вещества (голову) ежедневно в течение недели) [128, 140, 164].

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)[185, 196, 211].

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[217, 223].

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 [125].

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 [91, 92].

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Фармацевтическая разработка нового лекарственного средства

Фармацевтическая разработка – это совокупность экспериментальных последовательностей, которая позволяет с научной точки зрения рассмотреть и обосновать количественную и качественную структуру лекарственного препарата в определённой лекарственной форме с учётом особенностей производственных операций и ревизии их исполнения, выбора упаковочных материалов, а также на исследование физико-химических, биологических и микробиологических параметров.

Разработка нового лекарственного препарата имеет в качестве отправной точки отбор веществ, действующих на определённые клетки-мишени для достижения определённого эффекта.

При моделировании новой композиции комплексного гепатопротекторного препарата был проведен подбор оптимального качественного и количественного состава, включающего основное действующее вещество и вспомогательные вещества, способные обладать потенцирующим действием, повышая фармакологическую активность самого препарата.

В качестве основного действующего вещества было выбрано масло расторопши пятнистой.

Расторопша пятнистая - травянистое растение из рода Расторопша семейства Астровые. Однолетнее или двулетнее колючее растение высотой до 1,5 м. Основными активными веществами являются растительные полифенолы (силибинин, силикристин, силидианин).

Наиболее целесообразно использовать масло расторопши, получаемое путём отжима из семян. Масло расторопши содержит до 5 % силимарина (сумма флавоноидов и флавонолигнанов расторопши).

Биологически активные вещества расторопши имеют способность к связыванию со свободными радикалами в печени, что приводит к снижению токсичности последних. Ингибирование процесса перекисного окисления приводит к сохранению функциональных структур органа. В поврежденных

структурно-функциональных единицах печени индуцирует синтезирование структурных и функциональных полипептидов и сложных липидов (что обосновывается специфической активацией РНК-полимеразы), повышает устойчивость клеточных мембран, форсирует регенерацию гепатоцитов.

К вспомогательным веществам, входящим в состав препарата были отнесены следующие субстанции:

Урсодезоксихолиевая кислота способна оказывать цитопротекторное действие на гепатоциты и холангиоциты. В результате её воздействия циркуляцию желчных кислот уменьшается количество близких к желчным потенциально токсичных гидрофобных органических кислот.

Метионин является регулятором нитрогенного баланса организма. Содержит динамичную метильную группу, играет ведущую роль в процессах метилирования, регулирующих образование холина, адреналина, креатина и др. биологически важных соединений, обезвреживание токсичных продуктов, образование фосфолипидов. Тормозит отложение в печени нейтрального жира, оказывает липотропный эффект (удаление из печени избытка жира).

Токоферола ацетат участвует в биосинтезе гема и белков, пролиферации клеток, тканевом дыхании и других процессах клеточного метаболизма печени.

Сироп шиповника способствует повышению неспецифической резистентности организма, усилению регенерации тканей, уменьшению проницаемости сосудов, принимает участие в углеводном и минеральном обмене, обладает желчегонными свойствами. Фармакологическое действие обусловлено наличием аскорбиновой кислоты и других веществ (каротиноидов, флавоноидов, органических кислот), входящих в его состав.

Таким образом, все используемые компоненты обладают гепатопротекторным и антиоксидантным действиями, что позволяет форсировать регенерационные процессы в печени и значительно повышает эффективность фармакокоррекции гепатопатий различного генеза.

Согласно исследованиям Коновалова А.В. (2018 г.), гепатопротективную функцию обеспечивает включение в рацион 400 мг/кг (200 г/голову) жмыха

расторопши в сутки [96, 105]. Так как литературные данные свидетельствуют о содержании в масле расторопши действующих веществ (флавоноиды и флавонолигнаны) в 4 раза больше, чем в жмыхе, то для создания одной дозы композиции было решено использовать 51 г (100 мг/кг) масла расторопши пятнистой.

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.

Дозы таких веществ, как урсодезоксихолиевая кислота, метионин и токоферола ацетат подбирались исходя из имеющихся литературных данных, в т.ч. с использованием зарубежной литературы [40, 60, 127, 174, 203, 206, 229].

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), 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.

Получившаяся лекарственная форма соответствует ОФС.1.4.1.0017.15 Эмульсии [55, 137]. Препарат представляет собой эмульсию темного цвета со светло-коричневым оттенком, со специфическим травяным запахом.

Согласно ОФС.1.4.1.0017.15 Эмульсии [55, 137] единственным обязательным нормативным показателем для пероральных эмульсий является pH препарата.

Измерение водородного показателя экспериментальной композиции проводили портативным высокоточным pH – метром ИВА-ТЕСТ с

автоматической калибровкой. Значение pH испытуемого образца- 5,32 (слабокислая среда).

3.2. Токсикологическая оценка препарата «Гепатон-вет»

3.2.1. 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. Фиксирование характеристик острой токсикометрии проводят для установления переносимости различных доз препарата и определения границ токсических или летальных доз.

Подопытным животным (мышам и крысам) препарат вводился внутрижелудочно в возрастающей дозе. Для достижения высокой концентрации препарата «Гепатон-вет» его введение повторялось каждые 3 часа в течение суток. Максимальная суточная доза (исходя из физиологической потребности данных животных в жидкости) гепатопротектора составляла 20 мл на голову для мышей и 50 мл на голову для крыс. Грызунам из контрольной группы вводили равные объемы бидистиллированной воды. Количество животных в каждой группе- 6 голов.

За время всей проведения исследования подопытные животные были клинически здоровы. По данным из таблицы 1 видно, что максимальная (исходя из физиологической потребности животных в жидкости) доза гепатопротектора не вызвала гибели животных. Из таблиц 2,3 установлено, что достоверных различий в динамике массы тела между группами опытных и контрольных животных не выявлено.

Таблица 1. Результаты исследования токсикологического эффекта препарата Гепатон-вет при внутрижелудочном введении

Мыши-самцы					
Группа животных	Группа №1	Группа №2	Группа№3	Группа №4	Группа №5
Доза мл/кг	4	8	12	16	20
Токсикологический эффект, пало/всего голов	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Мыши-самки					
Доза мл/кг	4	8	12	16	20
Токсикологический эффект, пало/всего голов	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Крысы-самцы					
Доза мл/кг	10	20	30	40	50
Токсикологический эффект, пало/всего голов	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Крысы-самки					
Доза мл/кг	10	20	30	40	50
Токсикологический эффект, пало/всего голов	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

Таблица 2.Динамика массы тела мышей (г, M±m) после введения препарата Гепатон-вет (г, M±m)

Время наблюдения	Исследуемые группы мышей			
	Контроль		Опыт	
	♂	♀	♂	♀
До начала эксперимента	18,5±0,6	18,9±0,2	21,4±0,2	19,3±0,2
2-й день	18,1±0,5	18,3±0,5	20,3±0,5	17,5±0,7
7-й день	19,2±0,6	19,0±0,1	19,3±0,4	20,8±0,6
14-й день	22.3±0,7	20,6±0,5	21,2±0,3	21,0±0,5

Таблица 3.Динамика массы тела крыс после введения препарата Гепатон-вет (г, M ± m)

Время наблюдения	Исследуемые группы крыс			
	Контроль		Опыт	
	♂	♀	♂	♀
До начала эксперимента	174 ± 3	174 ± 5	169 ± 4	163 ± 5
2-й день	169 ± 3	170 ± 3	166 ± 3*	162 ± 3*
7-й день	173 ± 5	175 ± 6	177 ± 5*	174 ± 5*
14-й день	187 ± 4	185 ± 6	186 ± 4*	183 ± 4*

* достоверное отличие от контроля (p< 0.05).

В ходе анализа данных достоверных различий в динамике массы тела между опытными и контрольными животными не было выявлено.

Животные всех экспериментальных групп были подвергнуты эвтаназии согласно принципам биоэтики через 14 дней.

При макроскопическом исследовании влияния пути введения на состояние внутренних органов выявлено не было.Массовые коэффициенты внутренних органов подопытных животных, которым был задан исследованный препарат, а также животных группы контроля, приведены в таблицах 4 (мыши) и 5 (крысы). Статистически достоверных вариаций относительной массы внутренних органов не отмечается. Названия органов приведены согласно Международной ветеринарной анатомической номенклатуре.

Таблица 4. Коэффициенты органов у белых мышей (г/кг веса тела) после использования препарата «Гепатон-вет»

Исследуемый орган	Группа животных			
	Контроль		Препарат «Гепатон-вет»	
	♂	♀	♂	♀
Cordis	3.4±0.4	3.8±0.2	3.5±0.1	3.9±0.1
Pulmones et trachea	6.7±0.2	6.2±0.2	6.8±0.2	6.8±0.3
Thymus	0.92±0.11	1.08±0.10	0.95±0.08	1.07±0.11
Hepar	38.3±2.9	37.2±2.9	38.5±3.1	38.9±3.0
Lien	3.82±0.39	3.91±0.40	3.60±0.40	3.93±0.40
Renis	10.0±1.1	11.0±0.7	11.0±0.5	9.7±0.6
Glandulae suprarenales	0.19±0.03	0.18±0.04	0.16±0.04	0.15±0.03

Продолжение таблицы 4

Encephalon	16.1±2.2	18.1±1.7	15.8±1.7	16.6±1.5
Organa genitalia	4.1±0.3	0.28±0.05	3.8±0.09	0.27±0.04

Таблица 5. Коэффициенты органов у белых крыс (г/кг веса тела) после использования препарата «Гепатон-вет»

Исследуемый орган	Группа животных			
	Контроль		Препарат «Гепатон-вет»	
	♂	♀	♂	♀
Cordis	4.5±0.3	4.0±0.5	4.0±0.1	4.2±0.5
Pulmones et trachea	6.3±0.1	6.3±0.8	7.1±0.4	6.5±0.8
Thymus	1.4±0.3	1.4±0.1	1.4±0.3	1.3±0.2
Hepar	28.0±1.5	30.2±2.1	30.9±2.5	28.4±1.8
Lien	5.4±0.2	5.1±0.3	4.9±0.4	5.7±0.5
Renis	8.1±0.2	6.8±0.4	7.2±0.3	6.9±0.2
Glandulae suprarenales	0.13±0.02	0.12±0.02	0.16±0.04	0.16±0.03
Encephalon	8.3±0.5	8.5±0.5	8.3±0.09	8.4±0.4
Organa genitalia	7.28±0.2	0.32±0.03	7.25±0.43	0.35±0.07

В результате исследований LD_{50} и LD_{100} для препарата «Гепатон-вет» установлены не было, препарат классифицируется как малотоксичный, относится к четвёртому классу опасности по ГОСТ 12.1.007- 76 «Вредные вещества».

3.2.2. Изучение субхронической и хронической токсичности

Исследования на субхроническую и хроническую токсичность проводится с целью установления возможных негативных эффектов, которые возникают вследствие длительного использования лекарственного препарата. Продолжительность проведения исследований находится в прямой зависимости от протоколов применения ЛС в лечебных целях.

3.2.2.1. Влияние препарата на параметры выживаемости, массы тела, потребления корма и воды

При проведении описанных доклинических испытаний препарат вводился перорально нелинейным крысам, однократная доза составляла 0,5 мл/кг

(рассчитанная терапевтическая доза для крысы). Максимальная доза составляла 10 мл/кг, ввести большую дозу технически не представлялось возможным. Частота введения – 1 раз в день ежедневно, на протяжении 180 дней. Нами были созданы 4 группы лабораторных животных, каждая из которых состояла из 30 самок и самцов нелинейных крыс (интактные, контроль, терапевтическая и максимальные дозы). Общая продолжительность исследования составляла 180 дней. В ходе эксперимента нами не наблюдалась гибель подопытных животных. Это свидетельствует о низкой способности препарата «Гепатон-вет» к кумуляции и развитию привыкания. В течение 180 дней перорального однократного введения препарата было изучено его влияние на динамику массы тела белых крыс, потребление ими корма и воды. Полученные результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6. Исследование влияния введения внутрь препарата «Гепатон-вет» на массу подопытных животных (крыс) (г, M±m)

Стадия эксперимента (дни)	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
До начала исследования	141±3	142±1	151±2	131±1	151±3	137±3	134±1	141±1
7 день	151±2	151±3	154±2	152±3	145±2	163±1	153±3	152±2
30 день	192±3	183±2	185±4	164±2	204±1	202±2	172±5	174±3
60 день	204±8	184±1	186±3	172±3	212±2	191±1	181±2	181±4
90 день	226±6	206±2	205±4	213±3	213±3	213±3	232±3	193±4
120 день	235±5	221±3	224±3	215±4	234±6	212±2	233±1	232±4
150 день	253±3	235±4	253±4	236±3	233±3	234±2	244±3	232±5
180 день	257±6	241±2	251±3	242±3	241±2	253±3	232±2	234±5

По данным таблицы 6, масса животных, получавших исследуемый препарат, увеличивалась равномерно.

Учёт влияния приёма препарата на аппетит и жажду проводился с использованием обменной клетки фирмы «Tecniplast Gazzada» по стандартным методикам. Результаты учетов указаны в таблице 7, из данных которой видно, что животные всех групп потребляли корм с одинаковой интенсивностью.

Таблица 7. Исследование влияния введения внутрь препарата «Гепатон-вет» на потребление корма подопытными животными (крысами) (г, M±m)

Сроки исследования (дни)	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
До начала исследования	20,3±0,3	20,7±0,2	19,5±0,5	21,2±0,3	21,3±0,3	20,0±1,1	22,0±0,1	21,0±1,1
7 сутки	20,5±1,2	20,4±1,3	20,9±1,5	20.7±2.0	19,7±1,1	20,3±1,2	19,2±1,3	19,1±1,5
30 сутки	32,5±1,5	30,5±1,1	28,9±1,5	30,5±1,1	29,8±1,5	28,0±1,9	33,1±2,6	32,8±2,0
60 сутки	30,2±2,1	32,4±1,9	30,2±1,5	31,2±1,7	29,2±1,9	30,6±2,9	31,0±1,4	31,6±2,0
90 сутки	30,3±2,2	30,1±1,4	29,1±1,9	28,9±1,4	28,4±3,1	28,9±2,8	28,4±2,5	32,3±0,6
120 сутки	31,6±1,7	32,2±1,5	31,3±1,9	31,1±1,1	30,5±1,7	29,1±1,2	30,5±1,1	30,5±1,9
150 сутки	31,6±2,2	30,4±2,1	28,6±1,4	29,9±2,4	31,0±1,8	29,3±1,6	32,8±2,6	31,4±2,4
180 сутки	31,1±1,3	29,8±1,4	32,3±1,4	29,2±1,4	29,4±1,9	30,3±2,0	29,6±1,6	30,1±2,7

Комплексный препарат «Гепатон-вет» при введении внутрь в разовой дозе и её превышениях не оказывает влияния на динамику роста массы тела крыс и интенсивность приёма корма.

Таблица 8. Оценка влияния введения внутрь препарата «Гепатон-вет» на потребление воды крысами (мл/сут, M ± m)

Сроки исследования (дни)	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
До начала исследования	19±2	21±2	20±1	18±2	21±4	20±2	20±1	18±3
7 сутки	19±1	18±1	19±2	18±3	20±2	19±2	22±2	19±1

Продолжение таблицы 8

30 сутки	21±1	22±1	20±4	21±3	23±2	22±1	21±2	21±3
60 сутки	27±1	26±1	27±1	28±2	29±2	29±2	30±3	30±3
90 сутки	28±2	27±2	30±1	24±1	27±2	27±3	28±1	27±2
120 сутки	27±2	28±2	29±2	27±2	25±2	29±2	27±1	27±2
150 сутки	25±1	24±1	25±4	26±3	24±2	26±2	26±3	25±3
180 сутки	24±2	25±3	26±1	25±3	25±2	24±3	25±3	23±1

Среди лабораторных крыс контрольной группы было отмечено некоторое повышение потребления воды, которое, однако, не существенно отличалось от потребления воды контрольной группой животных.

Перечисленные выше факты свидетельствуют об успешном прохождении лекарственным препаратом «Гепатон-вет» данного этапа доклинических испытаний.

3.2.2.2. Влияние препарата на ректальную температуру и длительность гексеналового сна

Функцию по обезвреживанию чужеродных веществ печени оценивали по продолжительности гексеналового сна. Животных взвешивали и внутрибрюшинно вводили раствор гексенала в количестве 90 мг/кг, в качестве растворителя выступал физиологический раствор. Продолжительность сна в ходе эксперимента фиксировалась трижды: до использования препарата, через 90 и 180 дней после его начала.

Ректальная температура подопытных животных измерялась с помощью электрического медицинского термометра ТПЭМ-1 трехкратно: до начала эксперимента, через 90 и 180 дней от начала применения «Гепатон-вета».

Данные измерения ректальной температуры крыс представлены в таблице 9.

Таблица 9. Влияние препарата «Гепатон-вет» на температуру тела белых крыс (n=30)

Сроки исследования	Температура тела (°С, M ±m)							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
До начала эксперимента	36,2±0,1	36,3±0,2	35,9±0,1	36,5±0,2	36,5±0,1	35,4±0,2	35,7±0,1	36,7±0,1
Через 90 дней	36,4±0,1	36,5±0,1	36,6±0,1	36,7±0,1	36,7±0,1	36,7±0,2	36,4±0,2	36,1±0,3
Через 180 дней	36,5±0,1	36,4±0,2	36,3±0,1	35,9±0,2	36,3±0,2	36,4±0,2	36,6±0,2	36,1±0,2

Полученные результаты при измерении ректальной температуры тела крыс свидетельствуют об отсутствии достоверных различий показаний у животных из опытных и контрольной групп. Температура тела на протяжении всего эксперимента находилась в пределах физиологической нормы.

Для оценки детоксицирующей функции печени оценивали продолжительность гексеналового сна. Данные по времени сна представлены в таблице 10.

Таблица 10. Влияние препарата «Гепатон-вет» на продолжительность гексеналового сна у белых крыс (n=30)

Сроки исследования	Продолжительность гексеналового сна (мин, M ±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

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».

Проведенные экспериментальные исследования по оценки влияния лекарственной формы нового гепатопротектора «Гепатон-вет» показали, что препарат в лабораторных условиях, применяемый на крысах, не изменяет температуры тела животных, сохраняя гомеостаз организма в норме. Следует отметить, что продолжительность гексеналового сна у крыс опытных групп сокращалась после применения испытуемого препарата, по сравнению с животными контрольных групп. Учитывая исследуемые нами показатели, можно сделать вывод о благоприятном воздействии гепатопротектора «Гепатон-вет» на организм и возможности его применения без негативного воздействия.

3.2.2.3. Влияние препарата на параметры функционального состояния почек

Эксперименты выполнялись на белых нелинейных крысах возрастом 2,5-3 месяца, массой 150-160 г., количество крыс- 80 (40 самок и 40 самцов). Лабораторные исследования были проведены до начала исследования, а также на 90-й и на 180-й день введения препарата (терапевтическая и максимальная доза. Согласно протоколу проведения доклинических исследований влияния препарата на функциональное состояние почек, исследовались такие параметры, как: удельный вес мочи, pH, микроскопия осадка мочи, количества белка и глюкозы в моче, а также наличие кетоновых тел и желчных пигментов.

Анализы мочи и оценка функциональной активности почек по секреции фенол-красного проведены в фоне и через 90 и 180 дней после начала введения препарата. Полученные данные представлены в таблицах 11, 12 и 13.

Таблица 11. Результаты анализа мочи у белых крыс при исследовании подострой и хронической токсичности препарата «Гепатон-вет» до начала исследования (M ± m, n=10)

Исследуемые показатели	Группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
p[H]	5.7± 0.08	5.9± 0.1	5.8± 0.1	6.0± 0.1	5.6± 0.1	5.7± 0.1	6.4± 0.1	5.6± 0.1
Specific gravity, g/ml	1.03 ±0.001	1.02 ±0.003	1.01 ±0.001	1.02 ±0.002	1.02 ±0.002	1.02 ±0.001	1.09 ±0.002	1.09 ±0.003
D-Glucose, g/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
BR	-	-	-	-	-	-	-	-
Ketone bodies	-	-	-	-	-	-	-	-
Protein, g/l	2.9±0.1	3.0±0.1	3.1±0.1	3.1±0.1	2.9±0.2	3.0±0.3	3.1±0.1	3.1±0.1
WBCs	0	0	0	0	0	0	0	0
RBCs	0	0	0	0	0	0	0	0
Colour	От светло-желтого до желтого							
Transparence	В основном прозрачная							

Таблица 12. Результаты анализа мочи у белых крыс при исследовании подострой и хронической токсичностипрепарата «Гепатон-вет» после 90 дней применения (M ± m. n=10)

Показатели	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
p[H]	5.8±0.07	6.2±0.08	5.6±0.08	6.5±0.1	6.1±0.1	5.6±0.1	6.6±0.1	6.2±0.07
Specific gravity, g/ml	1.02± 0.004	1.01± 0.003	1.01± 0.005	1.01± 0.002	1.02± 0.004	1.01± 0.002	1.02± 0.001	1.02± 0.003
D-Glucose, g/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
BR	-	-	-	-	-	-	-	-
Ketone bodies	-	-	-	-	-	-	-	-
Protein, g/l	3.1±0.1	3.3±0.1	3.0±0.1	3.4±0.1	3.2±0.1	2.8±0.1	3.4±0.1	3.1±0.2
WBCs	0	0	0	0	0	0	0	0
RBCs	0	0	0	0	0	0	0	0
Colour	От светло-желтого до желтого							
Transparence	В основном прозрачная							

Таблица 13. Результаты анализа мочи у белых крыс при исследовании подострой и хронической токсичности препарата «Гепатон-вет» после 180 дней применения (M ± m. n=10)

Показатели	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
p[H]	6.2±0.2	6.0±0.3	6.3±0.6	5.9±0.1	6.4±0.1	6.1±0.3	6.0±0.2	6.3±0.1
Specific gravity, g/ml	1.0 ±0.002	1.01 ±0.003	1.01 ±0.003	1.0 ±0.004	0.99 ±0.003	1.01 ±0.001	1.02 ±0.001	1.01 ±0.003
D-Glucose, g/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
BR	-	-	-	-	-	-	-	-
Ketone bodies	-	-	-	-	-	-	-	-
Protein, g/l	3.1±0.1	3.0±0.2	3.3±0.1	2.9±0.2	3.2±0.1	3.4±0.2	3.3±0.1	2.9±0.1
WBCs	0	0	0	0	0	0	0	0
RBCs	0	0	0	0	0	0	0	0
Colour	От светло-желтого до желтого							
Transparence	В основном прозрачная							

Как видно из таблиц, существенных изменений со стороны выделительной функции почек при введении препарата «Гепатон-вет» белым крысам не наблюдалось. Влияние исследуемого препарата на секреторную функцию указано в таблице 14.

Таблица 14. Оценка влияния препарата «Гепатон-вет» на секреторную функцию почек белых крыс (количество выделенной краски в мг/100 г веса, M ± m. n=10)

Сроки исследования (дни)	Исследуемая группа							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Фон	0,14 ±0,005	0,10 ±0,003	0.1 , ±0,004	0,12 ±0.004	0,089 ±0,01	0,089 ±0.006	0,15 ±0,005	0,12 ±0.005
90 день	0,089 ±0,004	0,11 ±0,004	0,076 ±0,006	0,14 ±0,005	0,084 ±0,005	0,104 ±0,001	0,100 ±0,004	0,082 ±0,002
180 день	0,18 ±0,005	0.105 ±0,004	0,103 ±0,004	0,105 ±0,01	0,105 ±0,010	0,18 ±0,005	0,114 ±0,010	0,117 ±0,005

Влияния не секреторную функцию отмечено не было. Таким образом, введение препарата «Гепатон-вет» как в терапевтических, так и в максимальных дозах не влияет на функциональность выделительной системы.

3.2.2.4. Влияние препарата на офтальмологические показатели

При проведении описанных ниже доклинических испытаний препарата «Гепатон-вет» нами были использованы лабораторные нелинейные крысы обоих полов, имевшие массу от 180 до 200г. Препарат вводился перорально. Одна доза составляла 0,5 мл/кг (рассчитанная терапевтическая доза для крысы). Максимальная доза составляла 10 мл/кг, ввести большую дозу технически невозможно. Частота введения – 1 раз в день ежедневно, на протяжении 180 дней. Нами были созданы 4 группы лабораторных животных: 1 группа содержала в себе 30 самцов и 30 самок – интактные животные; 2 группа — также 30 самцов и 30 самок – контрольные животные; 3 группа — 30 самцов и 30 самок – терапевтическая доза; 4 группа — 30 самцов, 30 самок – максимально допустимая доза. Общее количество животных — 240. Общая продолжительность наблюдения — 180 дней.

Во время офтальмологического обследования животных оценивали состояние слизистых оболочек, наличие правильных роговичных рефлексов, измеряли величину зрачка и ширину глазной щели. В течение 180-дневного эксперимента у животных контрольной и опытных групп отечности или гиперемии слизистых нами отмечено не было, кроме случаев незначительных травматических повреждений, отмеченных в картах ежедневного наблюдения. В таблице 15 представлены результаты измерения величины зрачка и ширины глазной щели во время эксперимента.

Таблица 15. Оценка влияния препарата «Гепатон-вет» на величину зрачка и ширину глазной щели у белых крыс (мм, M±m)

Показатели	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
До исследования								
Величина правого зрачка	1,01± 0,08	1,08± 0,03	1,08± 0,03	0,99± 0,05	1,15± 0,02	1,06± 0,03	1,08± 0,01	1,19± 0,03
Величина левого зрачка	1,10± 0,11	1,10± 0,05	1,16± 0,09	1,07± 0,09	1,17± 0,03	1,14± 0,07	1,18± 0,06	1,12± 0,06
Ширина глазной щели справа	2,58± 0,23	2,61±0, 16	2,80± 0,19	2,53± 0,16	2,45± 0,12	2,96± 0,19	2,95± 0,15	2,85± 0,17
Ширина глазной щели слева	2,66± 0,15	2,59± 0,28	2,56± 0,19	2,56± 0,23	2,85± 0,13	2,97± 0,14	2,65± 0,16	2,78± 0,15
90 дней								
Величина правого зрачка	1,10± 0,03	1,06± 0,03	1,10± 0,03	1,06± 0,03	1,14± 0,04	1,11± 0,04	1,18± 0,02	1,14± 0,03
Величина левого зрачка	1,21± 0,06	1,14± 0,05	1,21± 0,06	1,14± 0,05	1,14± 0,03	1,19± 0,07	1,09± 0,07	1,16± 0,08

Продолжение таблицы 15

Ширина глазной щели справа	2,84± 0,17	2,60± 0,15	2,84± 0,17	2,60± 0,15	2,73± 0,13	2,70± 0,21	2,92± 0,15	2,79± 0,17
Ширина глазной щели слева	2,70± 0,20	2,70± 0,23	2,70± 0,20	2,70± 0,23	2,70± 0,14	2,82± 0,16	2,84± 0,16	2,78± 0,15
180 дней								
Величина правого зрачка	1,11± 0,02	1,07± 0,08	1,13± 0,01	1,16± 0,03	1,09± 0,03	1,20± 0,03	1,08± 0,03	1,09± 0,03
Величина левого зрачка	1,13± 0,10	1,12± 0,10	1,18± 0,08	1,16± 0,07	1,17± 0,04	1,21± 0,07	1,10± 0,08	1,13± 0,08
Ширина глазной щели справа	2,78± 0,21	2,57± 0,26	2,92± 0,20	2,66± 0,21	2,78± 0,17	2,95± 0,25	2,80± 0,20	2,67± 0,21
Ширина глазной щели слева	2,86± 0,23	2,62± 0,22	2,93± 0,19	2,64± 0,22	2,61± 0,15	2,67± 0,15	2,83± 0,19	2,60± 0,22

По данным таблицы видно, что указанные параметры практически не менялись в течение всего периода наблюдения ни у животных контрольной группы, ни у животных опытных групп.

3.2.2.5. Влияние препарата на двигательную и исследовательскую активность

Открытое поле. Использованная аппаратура: прямоугольная камера с деревянными боковыми и задней стенками и передней стеклянной стенкой (60х60х60 см). Поля камеры приподняты и разделены на 9 квадратов с отверстиями для регистрации исследовательской активности. Над камерой размещен источник света. Характер и количество движений отмечает регистратор. Процедура: регистрируют 6 компонентов поведения в течение 4-х минут наблюдения: латентный период выхода, вертикальную и горизонтальную активность, количество заглядываний в норки, груминг. Тестирование проводят в

фоне и после окончания введения. Для определения выраженности эффекта используют отношение количества движений в опыте и контроле.

Исследование спонтанной двигательной активности (СДА). Аппаратура: автоматическая система регистрации движений. Процедура: крысу помещают на 5 минут в камеру для получения фоновых данных. В течение последующих 30 минут регистрируют СДА за каждый 5-минутный интервал времени. Анализ результатов проводят путем сравнения числа движений за 30 минут по отношению к фону в опытных и контрольной группах животных. Тестирование проводят в фоне и после окончания введения.

На рисунках 1 и 2 представлены данные по влиянию препарата «Гепатон-вет» на спонтанную двигательную активность крыс (СДА). Крысы по одной помещались в регистрационную камеру автоматического регистратора Coulburn Instruments, где за каждые 5 минут на протяжении 35 минут у них регистрировалось количество движений.

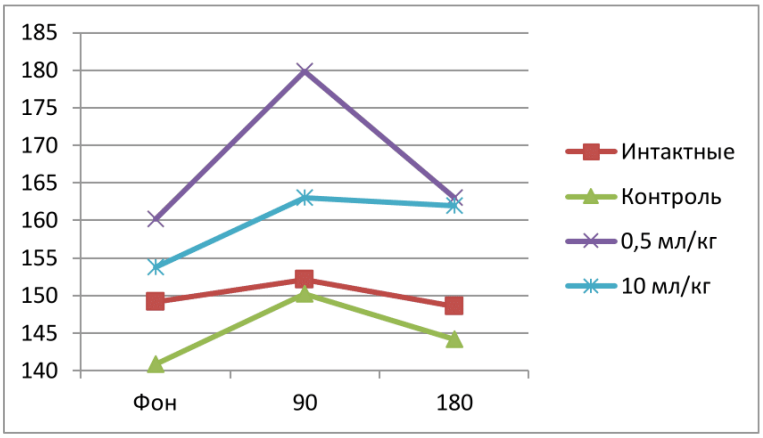


Рис. 1 – Влияние препарата «Гепатон-вет» на СДА самцов белых крыс

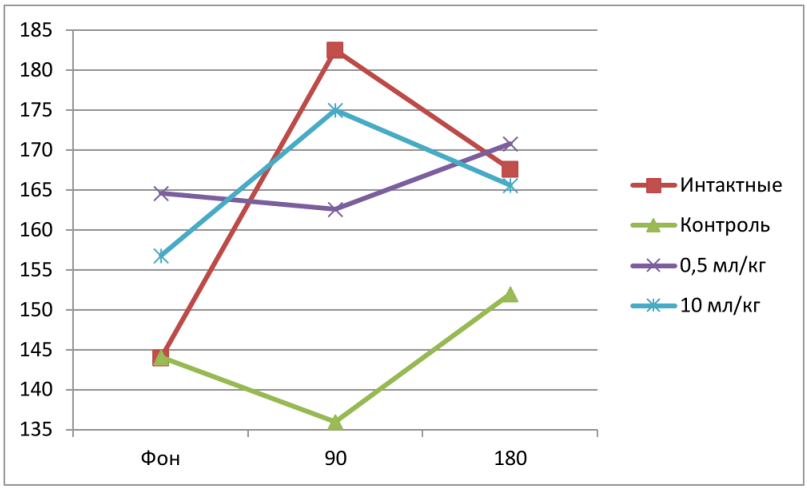


Рис. 2 – Влияние препарата «Гепатон-вет» на СДА самок белых крыс

Как видно из графиков, у самцов при введении 0.5 мл/кг препарата отмечена тенденция к увеличению СДА через 90 и 180 дней после начала введения по сравнению с животными контрольной группы. При введении 10 мл/кг препарата имелась тенденция к увеличению СДА крыс по сравнению с животными контрольной группы.Однако, выявленная тенденция к увеличению СДА, ни в одном случае не была статистически значимой. Данные по влиянию препарата «Гепатон-вет» на структуру поведения крыс в «открытом поле» представлены в таблице 16.

Таблица 16. Изучение влияния препарата «Гепатон-вет» на структуру поведения белых крыс (M±m)

Время наблюдения (мин)	День регистрации					
	Самцы			Самки		
	До начала исследования	90-й день	180-й день	До начала исследования	90-й день	180-й день
Интактные						
Период покоя, сек	107±15	122±12	120±7	60±8	98±13	90±8
Горизонтальные движения	1,2±0,2	0,3±0,1	1,1±0,3	3,2±0,6	0,8±0,1	1,6±0,2
Вертикальные движения	2,9±0,6	1,4±0,5	1,6±0,2	5,9±0,8	4,0±0,9	1,7±0,2
Заглядывания	2,2±0,1	0,5±0,1	1,8±0,3	3,5±0,5	3,2±0,5	0,5±0,1
Уход	0	1,4±0,1	0	0,7±0,2	9,1±0,4	0
Болюсы	2,3±0,2	2,4±0,6	1,8±0,3	1,5±0,1	3,2±0,3	1,7±0,2

Продолжение таблицы 16

Контроль						
Период покоя, сек	107±18	112±16	112±7	57±9	93±15	81±10
Горизонтальные движения	1,1±0,2	0,3±0,1	0,8±0,2	3,5±0,7	0,7±0,1	1,5±0,2
Вертикальные движения	2,66±0,8	1,3±0,3	1,6±0,2	6,1±0,8	3,7±1,1	1,7±0,2
Заглядывания	2,4±0,1	0,4±0,1	1,7±0,3	4,0±0,6	3,7±0,8	0,5±0,1
Уход	0	1,3±0,1	0	0,6±0,3	8,8±0,4	0
Болюсы	2,5±0,3	2,9±0,6	1,7±0,4	1,6±0,2	3,0±0,4	1,7±0,2
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0,5 мл/кг						
Период покоя, сек	96±15	124±12	96±17	86±16	77±10	84±8
Горизонтальные движения	0,5±0,1	0	0	1,2±0,3	0,3±0,05	0,6±0,1
Вертикальные движения	1,8±0,4	0,7±0,2	0,5±0,1	3,8±1,0	0,9±0,2	1,2±0,2
Заглядывания	1,8±0,5	0,5±0,1	0,6±0,2	0,8±0,2	0,7±0,1	0,3±0,1
Уход	0	0	0	0,9±0,2	0,5±0,1	0
Болюсы	1,9±0,4	2,7±0,5	3,1±0,8	0,6±0,1	1,6±0,3	3,8±0,6
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг						
Период покоя, сек	84±22	52±8	92±16	103±12	62±12	117±13
Горизонтальные движения	2,6±0,6	0,4±0,2	0	1,5±0,2	3,3±0,8	0
Вертикальные движения	3,2±0,6	0,5±0,2	0,5±0,1	3,4±0,3	1,3±0,3	0,8±0,1
Заглядывания	1,8±0,4	0,6±0,3	0,7±0,1	2,6±0,6	2,2±0,3	1,4±0,2
Уход	0,8±0,1	1,0±0,1	0,5±0,1	0	0,4±0,1	0,3±0,1
Болюсы	1,9±0,2	1,8±0,4	2,8±0,9	0,8±0,1	2,8±0,7	2,6±0,3

Как видно из представленных данных, достоверных изменений в структуре поведения животных из всех экспериментальных групп не наблюдалось. Отмечалось характерное для животных, вторично помещаемых в ситуацию «открытого поля», изменение поведенческого рисунка в основном за счет удлинения латентного периода, носившего также недостоверный характер.

3.2.2.6. Влияние препарата на сумационно-подпороговый показатель и сердечно-сосудистую деятельность

Для исследования влияния препарата «Гепатон-вет» на суммацию подпороговых показателей нами была проведена серия физиологических исследований, которая включала в себя такие опыты, как открытое поле, определение спонтанной двигательной активности (СДА), исследование суммационной способности ЦНС.

Опыты типа «открытое поле» и определение СДА указаны в предыдущем параграфе.

Кроме того нами было определено влияние препарата «Гепатон-вет» на сердечно-сосудистую деятельность путём регистрации ЭКГ и артериального давления. Эксперименты проводились на ненаркотизированных животных. Использованная аппаратура: Полиграф RM-6000 (Япония), «Регистратор артериального давления» (Италия). Процедура: крыс помещают в специальные пеналы. ЭКГ и артериальное давление (АД) регистрируют спустя несколько минут при стабилизации показателей. ЭКГ регистрируют во 2-ом стандартном отведении. АД регистрируют на хвосте крысы с помощью пьезоэлектрического датчика и манжетки соответствующего размера. До измерения АД животное на несколько минут помещают на термостатированную пластинку, обеспечивающую поддержание температуры в клетке в пределах 26–27°С.

Данные по влиянию препарата «Гепатон-вет» на суммацию подпороговых импульсов представлены в таблице 17.

Таблица 17. Изучение влияния препарата «Гепатон-вет» на суммацию подпороговых импульсов

Группы исследуемых животных	Пол	День наблюдения		
		До начала исследований	90-й	180-й
Интактные	♂	11,3±0,80,5	10,8±0,7	13,0±0,6
	♀	8,7±1,0	10,6±0,8	9,5±0,9
Контроль	♂	10,9±1,0	10,4±0,8	12,9±0,7
	♀	8,3±1,1	10,3±0,9	8,8±1,2

Продолжение таблицы 17

Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг	♂	9,9±1,1	9,9±0,9	11,8±1,5
	♀	9,2±0,4	9,5±0,5	11,1±2,0
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	♂	9,4±0,8	9,8±0,4	11,7±1,5
	♀	11,9±0,5	10,1±5	9,1±0,7

Из данных таблицы видно, что введение препарата «Гепатон-вет» в течение 180 суток ни в одной из исследованных доз не влияло на порог возбудимости крыс.

Кроме того были проведены исследования по влиянию препарата на систолическое артериальное давление, результаты которых представлены в таблице 18.

Таблица 18. Оценка влияния препарата «Гепатон-вет» на систолическое артериальное давление у белых крыс (мм рт. ст., M ± м)

Группы исследуемых животныз	Пол	День наблюдения		
		До начала исследования	90-й	180-й
Интактные	♂	121,9±5,5	109,0±3,0	114,6±3,8
	♀	122,2±4,4	122,1±3,2	118,6±5,0
Контроль	♂	120,5±8,6	108,0±5,0	110,0±3,0
	♀	132,1±5,6	98,9±2,4*	98,3±2,0*
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг	♂	114,7±2,3	104,9±3,8	113,7±2,8
	♀	126,2±5,5	107,0±5,0*	102,7±4,0*
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	♂	119,0±6,4	114,2±2,2	116,1±3,9
	♀	129,4±4,6	98,9±1,4*	106,6±0,7*

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

По данным таблицы видно, что у самок, в отличие от самцов, во всех экспериментальных группах, включая контрольную, наблюдалось снижение АД по отношению к фоновым данным, отмеченное при тестировании через 90 и 180 дней после введения. Отмеченные изменения связаны, вероятнее всего, с

сезонными колебаниями величины АД и большей реактивностью самок, нежели самцов.

Дополнительно нами были проведены исследования влияния препарата «Гепатон-вет» на частоту сердечных сокращений и характер электрокардиограммы, результаты которых отражены в таблицах 19, 20 и 21.

Таблица 19. Изучение влияния препарата «Гепатон-вет» на ЧСС и характер ЭКГ крыс до начала эксперимента

Исследуемые показатели	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ЧСС, уд/мин	423±10	401±15	428±9	408±17	462±21	424±33	436±26	424±35
P, мВ	0.07±0.01	0.16±0.03	0.08±0.01	0.13±0.02	0.10±0.02	0.10±0.01	0.07±0.01	0.08±0.02
R, мВ	0.58±0.06	0.60±0.09	0.62±0.04	0.64±0.08	0.59±0.11	0.67±0.10	0.64±0.09	0.67±0.13
S, мВ	0.04±0.02	0.03±0.01	0.03±0.02	0.03±0.01	0.08±0.01	0.05±0.02	0.07±0.02	0.04±0.02
T, мВ	0.16±0.02	0.17±0.02	0.15±0.02	0.18±0.02	0.14±0.02	0.19±0.01	0.14±0.03	0.17±0.01
PQ, мс	46.5±1.2	46.3±1.3	47.3±1.0	45.1±0.9	43.1±2.0	50.2±2.2	43.6±1.1	49.2±2.2
QT, мс	52.9±1.9	58.8±2.9	52.0±2.0	57.5±3.1	58.4±3.1	61.2±1.0	60.9±3.2	58.3±3.1

Таблица 20. Оценка влияния препарата «Гепатон-вет» на ЧСС и характер ЭКГ крыс спустя 90 дней

Иссле-дуемые показат-ели	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ЧСС, уд/мин	455±23	407±16	461±22	415±17	411±24	427±12	472±6	403±13
P, мВ	0.11±0.01	0.09±0.01	0.10±0.01	0.08±0.01	0.11±0.02	0.10±0.01	0.08±0.01	0.10±0.02
R, мВ	0.52±0.05	0.57±0.06	0.56±0.05	0.67±0.08	0.71±0.08	0.60±0.06	0.55±0.05	0.56±0.11

Продолжение таблицы 20

S, мВ	0.08± 0.02	0.05± 0.02	0.08± 0.03	0.04± 0.03	0.06±0.02	0.05±0.02	0.06±0.02	0.4±0.03
T, мВ	0.17± 0.0	0.18± 0.02	0.15± 0.01	0.19± 0.02	0.14±0.03	0.17±0.01	0.13±0.02	0.17±0.02
PQ, мс	48.1± 1.2	45.2± 1.2	49.2± 1.0	45.6±1.1	46.9±1.1	48.5±1.0	46.1±2.2	42.2±2.1
QT, мс	55.7± 4.2	65.8± 3.4	57.5± 4.5	67.4±3.0	59.9±3.1	65.5±4.5	61.3±3.1	61.7±3.0

Таблица 21. Оценка влияния препарата «Гепатон-вет» на ЧСС и характер ЭКГ крыс спустя 180 дней

Иссле-дуемые показат-ели	Исследуемые группы							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ЧСС, уд/мин	425±12	416±35	430±14	422±34	439±34	429±35	399±11	441±13
P, мВ	0.09± 0.02	0.12± 0.03	0.08± 0.01	0.11± 0.03	0.08± 0.01	0.07± 0.01	0.06± 0.01	0.09±1
R, мВ	0.57± 0.06	0.46± 0.02	0.61± 0.08	0.49± 0.02	0.71± 0.10	0.63± 0.10	0.55± 0.10	0.59± 0.04
S, мВ	0.08± 0.03	0.08± 0.02	0.07± 0.03	0.06± 0.02	0.09± 0.03	0.07± 0.02	0.08± 0.02	0.07± 0.02
T, мВ	0.20± 0.03	0.15± 0.02	0.18± 0.01	0.13± 0.02	0.12± 0.01	0.16± 0.04	0.10± 0.01	0.17± 0.03
PQ, мс	41.1±1.3	43.0±0.9	41.7±1.1	42.7±1.1	41.0± 1.0	47.8±1.0	48.4±1.1	46.1±1.0
QT, мс	56.4±2.1	56.5±3.7	57.5±1.9	57.9±3.9	59.4± 2.1	63.8±5.3	64.6±2.0	64.2±2.1

Из представленных в таблицах данных следует, что исследуемый препарат не вызвал изменений как ЧСС, так и характера ЭКГ.

Таким образом, из приведенных выше данных, мы можем сделать вывод, что исследуемый нами препарат «Гепатон-вет» не оказывает существенного влияние на ряд функций нервной системы (в частности на подпороговую суммацию) и ряд показателей функционирования сердечно-сосудистой системы (ЧСС, АД и ряд показателей ЭКГ).

3.2.2.7. Влияние препарата на показатели периферической крови и характер миелограммы

Гематологические исследования проводились до начала введения препарата и через 90 и 180 дней введения. Кровь получали пункцией хвостовой вены или (в конце исследования) после одномоментного гильотинирования.

За время всей экспериментальной части исследования грызуны были клинически здоровы: поведение и общее состояние во всех группах животных были схожими и соответствовали половозрастным особенностям.

Полученные данные по влиянию препарата на характер периферической крови представлены в таблицах 22-26.

Таблица 22. Показатели периферической крови у лабораторных животных (крыс) до начала исследования (M ±m)

Показатели крови	Группы животных							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Hgb, г/дл	12,7±0,4	11,7±0,4	12,4±0,4	12,0±0,4	12,7±0,3	12,2±0,4	10,7±0,3	11,8±0,5
Гематокритное число (HCT), %	47,6±2,1	44,8±1,8	47,4±2,1	44,5±1,9	49,3±2,2	44,9±2,1	46,6±2,5	47,0±1,5
RDC, 10^{12}/л	6,3±0,2	7,2±0,1	6,4±0,2	7,2±0,1	5,8±0,1	6,2±0,1	6,9±0,3	6,7±0,1
MCH, пг	16,9±0,5	19,1±0,3	16,8±0,5	19,2±0,3	17,2±0,4	17,4±0,4	18,5±0,4	17,6±0,6
MCV, мкм^3	78,4±0,4	73,8±0,4	78,3±0,4	73,7±0,4	78,3±0,8	73,2±0,5	77,2±0,6	70,7±0,7
MCHC, %	26,1±0,5	25,1±0,4	26,0±0,5	25,1±0,4	27,9±0,5	27,4±0,5	26,9±0,3	25,4±0,5
Реакция оседания эритроцитов (ESR), мм/ч	5,4±0,4	4,8±0,5	5,3±0,4	4,9±0,5	5,1±0,7	4,7±0,5	4,9±0,4	5,3±0,5
PLT, 10^9/л	660±13	596±17	659±14	593±16	598±14	666±21	626±25	644±14
RTC, ‰	21,3±1,0	21,5±0,7	21,4±1,0	21,4±0,7	21,1±0,6	21,8±0,8	21,7±0,9	24,1±1,1
WBC, 10^9/л	7,3±0,2	6,8±0,1	7,1±0,2	6,8±0,1	6,8±0,3	7,3±0,2	7,0±0,1	6,9±0,1

Продолжение таблицы 22

Палочкоядерные гранулоциты, %	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,4±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,6±0,1	0,3±0,1
Нейтрофильные гранулоциты, %	12,4±1,2	11,1±0,1	12,5±1,2	11,3±0,8	12,9±0,9	12,2±1,0	13,0±1,3	13,3±1,3
BAS, %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
EOS, %	2,4±0,3	1,1±0,1	2,4±0,3	1,1±0,1	2,1±0,1	2,5±0,3	3,1±0,5	2,4±0,2
MON, %	2,8±0,3	2,9±0,6	2,7±0,3	2,3±0,4	3,0±0,3	2,5±0,3	2,4±0,4	2,8±0,6
LYM, %	59,1±1,4	61,0±0,9	59,3±1,5	62,4±1,0	59,4±1,3	59,6±1,0	58,0±1,4	55,4±1,8
Плазмоциты, %	1,1±0,2	0,9±0,2	1,2±0,3	1,2±0,2	1,2±0,4	1,2±0,2	1,3±0,3	1,5±0,3
Т свертывания крови, сек	51,5±2,1	56,5±2,1	50,5±1,9	56,0±2,4	48,6±1,8	54,6±2,5	52,5±1,7	50,7±1,9
Начало ретракции и фибринолиза, сек	694±29	700±27	693±30	720±31	661±27	692±53	682±23	643±21
Скорость ретракции и фибринолиза, отн. ед	4,6±0,1	4,9±0,4	4,7±0,1	4,6±0,1	4,6±0,1	4,3±0,1	4,4±0,1	4,9±0,1
Начало свертывания крови, сек	27,6±1,1	23,2±1,0	28,5±0,7	23,4±0,9	25,2±0,9	26,1±0,7	26,1±0,7	23,8±0,9
Окончание свертывания крови, сек	79,1±1,8	79,7±2,3	79,0±1,8	79,4±2,4	73,8±1,9	80,7±2,1	78,6±1,7	74,5±1,6
Скорость свертывания крови, отн. ед.	1,5±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1	1,6±0,1	1,6±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1

* — достоверные отличия от контроля и фона ($p<0.05$)

Таблица 23. Показатели периферической крови у лабораторных животных (крыс) спустя 90 дней после начала исследования (M ±m)

Показатели крови	Группы животных							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Hgb, г/дл	10,8±0,2	11,1±0,3	10,7±0,2	11,3±0,3	13,0±0,5*	14,5±0,1*	13,0±0,5*	13,3±0,2*

Продолжение таблицы 23

Гематокритное число (HCT), %	47,8±1,1	48,5±2,1	48,4±1,0	48,7±2,1	55,3±2,1	44,0±2,8	50,9±1,0	49,8±3,0
RDC, 10^{12}/л	6,5±0,1	6,1±0,2	6,6±0,1	6,2±0,1	7,2±0,1*	8,9±0,1*	8,1±0,1*	8,9±0,4*
MCH, пг	16,9±0,8	18,5±0,4	17,3±0,6	18,6±0,4	22,1±0,4	16,4±0,1	20,7±0,2	17,2±0,7
MCV, мкм^3	74,0±0,8	73,6±0,7	74,3±0,9	73,8±0,7	80,0±1,0	76,5±0,7	77,8±0,8	73,5±0,9
MCHC, %	25,9±0,5	25,1±0,2	26,2±0,4	25,2±0,1	25,8±0,1	24,3±0,1	27,5±0,4	27,5±0,3
Реакция оседания эритроцитов(ESR), мм/ч	4,7±0,6	5,0±0,6	4,8±0,6	5,1±0,6	4,4±0,6	4,7±0,5	4,9±0,6	5,1±0,5
PLT, 10^9/л	574±13	630±16	575±13	640±19	715±16*	727±21*	706±30*	692±14*
RTC, ‰	23±0,9	22,1±1,0	22,9±0,9	22,2±1,0	21,7±0,6	22,6±1,0	22,3±0,5	21,5±0,8
WBC, 10^9/л	7,2±0,1	8,2±0,2	7,3±0,1	8,3±0,2	6,9±0,2	6,7±0,1	6,7±0,2	6,8±0,2
Палочкоядерные гранулоциты, %	0,3±0,01	0,3±0,0	0,2±0,1	0,2±0,0	0,4±0,1	0,4±0,1	0,3±0,1	0,7±0,1
Нейтрофильные гранулоциты, %	13,4±1,6	13,8±1,8	11,9±1,3	13,8±1,5	11,7±0,9	12,8±1,1	9,9±0,6	14,4±1,5
BAS, %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
EOS, %	4,2±0,5	2,5±0,6	4,3±0,5	2,5±0,6	2,3±0,4	3,2±0,4	2,4±0,3	3,9±0,3
MON, %	4,2±0,5	4,0±0,7	4,2±0,5	4,4±0,8	3,0±0,5	4,2±0,9	3,5±0,2	3,0±0,8
LYM, %	54±1,3	56,4±1,5	55,1±1,6	56,6±2,4	59,6±1,0*	55,8±1,6	60,6±0,9*	55,5±1,9
Плазмоциты, %	1,0±0,1	1,0±0,2	1,4±0,3	1,1±0,3	1,3±0,3	1,1±0,3	1,0±0,2	1,0±0,3
Т свертывания крови, сек	43,8±3,5	43,0±2,9	43,4±2,5	43,2±2,2	45,5±1,9	40,7±1,5	45,9±3,5	45,0±2,1
Скорость ретракции и фибринолиза, отн. ед	4,5±0,1	4,5±0,1	4,74±0,1	4,7±0,1	5,1±0,1	4,9±0,1	4,7±0,1	4,1±0,1
Начало ретракции и фибринолиза, сек	672±24	665±24	674±23	672±26	643±18	648±18	675±21	691±25
Начало свертывания крови, сек	27,6±1,6	28,7±1,0	28,1±1,6	29,2±0,9	27,2±1,0	27,4±0,9	25,7±1,2	27,6±0,8
Окончание свертывания крови, сек	71,4±2,5	71,7±2,4	71,5±2,5	72,4±2,1	72,7±1,3	68,1±1,4	71,6±2,9	72,6±1,8
Скорость свертывания крови, отн. ед.	1,7±0,1	1,4±0,1	1,6±0,1	1,6±0,1	1,9±0,1	1,6±0,1	1,5±0,1	1,8±0,1

* — достоверные отличия от контроля и фона ($p<0.05$)

Таблица 24. Показатели периферической крови у лабораторных животных (крыс) спустя 180 дней после начала исследования (M ±m)

Показатели крови	Группы животных							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Hgb, г/дл	12,5±0,1	11,8±0,3	12,4±0,1	12,0±0,2	13,6±0,1*	13,5±0,3*	13,4±0,3*	13,9±0,1*
Гематокритное число (HCT), %	50,8±1,0	54,0±1,3	50,7±1,0	54,6±1,0	51,6±1,9	48,8±1,0	52,6±1,9	51,3±1,9
RDC, 10^{12}/л	6,4±0,3	5,9±0,2	6,2±0,1	6,1±0,1	7,6±0,1*	8,1±0,1*	8,2±0,1*	7,6±0,2*
MCH, пг	19,2±1,0	19,0±0,3	20,1±0,3	19,2±0,3	18,6±0,2	18,8±0,3	19,0±0,6	17,4±0,7
MCV, мкм^3	79,5±0,7	73,9±0,8	78,9±1,0	74,0±0,7	77,1±1,0	75,9±1,1	77,0±1,3	80,2±0,6
MCHC, %	26,3±0,3	24,4±0,7	26,1±0,2	24,8±0,5	26,6±0,3	27,0±0,2	27,7±0,1	23,9±0,2
Реакция оседания эритроцитов(ESR), мм/ч	5,1±0,9	4,3±0,5	4,9±0,8	4,4±0,5	4,6±0,6	4,9±0,6	4,8±0,6	4,5±0,7
PLT, 10^9/л	668±31	608±24	648±18	610±23	724±13*	786±21*	707±17*	709±30*
RTC, ‰	25,0±1,2	22,4±0,9	24,2±1,2	22,6±0,8	22,5±0,8	24,1±1,0	21,7±1,1	24,9±1,1
WBC, 10^9/л	7,6±0,1	6,4±0,4	7,5±0,1	6,5±0,3	6,4±0,2	8,0±0,2	6,7±0,1	7,5±0,3
Палочкоядерные гранулоциты, %	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,5±0,2	0,3±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1
Нейтрофильные гранулоциты, %	16,0±1,7	15,2±1,3	13,5±1,3	13,4±1,1	9,6±0,5*	14,1±1,3	9,3±0,5*	14,3±1,2
BAS, %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
EOS, %	2,1±0,2	2,0±0,2	2,1±0,2	2,2±0,3	2,1±0,3	2,4±0,4	2,6±0,2	1,9±0,3
MON, %	4,2±0,6	3,2±0,4	3,6±0,6	3,4±0,4	3,9±0,6	3,1±0,1	4,6±0,2	2,7±0,4
LYM, %	51,6±2,3	55,6±0,9	55,1±1,7	56,9±1,1	60,3±1,0*	55,0±1,5	60,3±0,9*	54,7±1,8
Плазмоциты, %	0,7±0,1	1,2±0,1	1,2±0,3	1,2±0,2	1,0±0,5	1,0±0,2	1,1±0,2	1,1±0,2
Т свертывания крови, сек	52,1±3,1	49,4±1,5	52,5±1,7	48,7±1,1	53,8±2,6	49,3±2,2	49,5±1,5	51,9±2,2
Скорость свертывания крови, отн. ед.	1,9±0,1	1,4±0,1	1,82±0,1	1,6±0,1	1,72±0,1	1,7±0,1	1,73±0,1	1,6±0,1

Продолжение таблицы 24

Начало ретракции и фибринолиза, сек	734±21	666±20	740±25	670±19	714±27	691±26	654±20	752±15
Скорость ретракции и фибринолиза, отн. ед	4,0±0,2	4,4±0,2	4,2±0,1	4,6±0,1	4,4±0,1	4,6±0,1	4,6±0,1	4,7±0,1
Начало свертывания крови, сек	24,7±1,1	27,0±1,5	24,9±1,2	27,9±1,3	26,1±0,9	27,8±0,7	28,7±1,4	25,0±0,7
Окончание свертывания крови, сек	76,9±2,1	76,4±1,7	77,4±1,4	76,6±1,6	79,9±2,4	77,1±2,4	78,2±1,9	76,9±2,2

* — достоверные отличия от контроля и фона ($p<0.05$)

Влияния препарата на показатели периферической крови не отмечено.

При проведении микроскопии мазков лимфоциты имеют сильно сморщенное ядро с конденсатами хроматина, изредка присутствует выраженная зернистость ярко-пурпурного цвета при применении азура. Большая часть клеток сегментоядерной формы имеет, едва заметную зернистость, что является вариантом нормы. Ядра эозинофильных клеток округлой формы, а ядра эозинофилов и нейтрофилов кольцеобразны. Моноциты имеют сильное различие от лимфоцитов которые слегка больше примерно двух эритроцитов, обладают ядром бобовидной формы большого размера, а также широкую протоплазматическую кайму, которая окрашивается в синий или фиолетовый цвет и обладает грануляцией. Кровяные пластинки обнаруживаются в виде ограниченными группами. Отмечается, что на 90 и 180 сутки исследования наблюдалось посредственное, но значимое увеличение количества гемоглобина, абсолютного количества эритроцитов, фрагментарное абсолютное и относительное увеличение количества лимфоцитов и тромбоцитов периферической крови. Патологические изменения не фиксировалось.

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.

3.2.2.8. Данные некропсии и гистологические исследования

Животные всех экспериментальных групп были подвергнуты эвтаназии с соблюдением принципов биоэтики.

При макроскопическом исследовании видовых и половых отличий, а также влияния пути введения на состояние внутренних органов не установлено, архитектоника внутренних систем органов сохранена (рис.3), морфофункциональное состояние печени сохранено, патологий не выявлено (рис. 4).

Рис. 3. Нормальная архитектоника органов на вскрытии

Снаружи печень имеет соединительнотканную капсулу. Отходящие от капсулы тяжи соединительной ткани делят паренхиму печени на дольки. Классические печеночные дольки крыс имеют форму шестигранных призм, они не имеют чётких границ. В междольковой ткани у рёбер долек находятся триады

– междольковая вена, междольковая артерия, желчный проток. Желчный проток выстлан кубическим эпителием. В центре дольки находится центральная вена, от которой расходятся печёночные балки. Печёночные балки образованы гепатоцитами. Гепатоциты крысы имеют неправильную многоугольную форму и составляют 60% всех клеточных элементов печени. Многие из них в норме содержат два или больше ядер. Внутри долек находятся синусоидные капилляры.

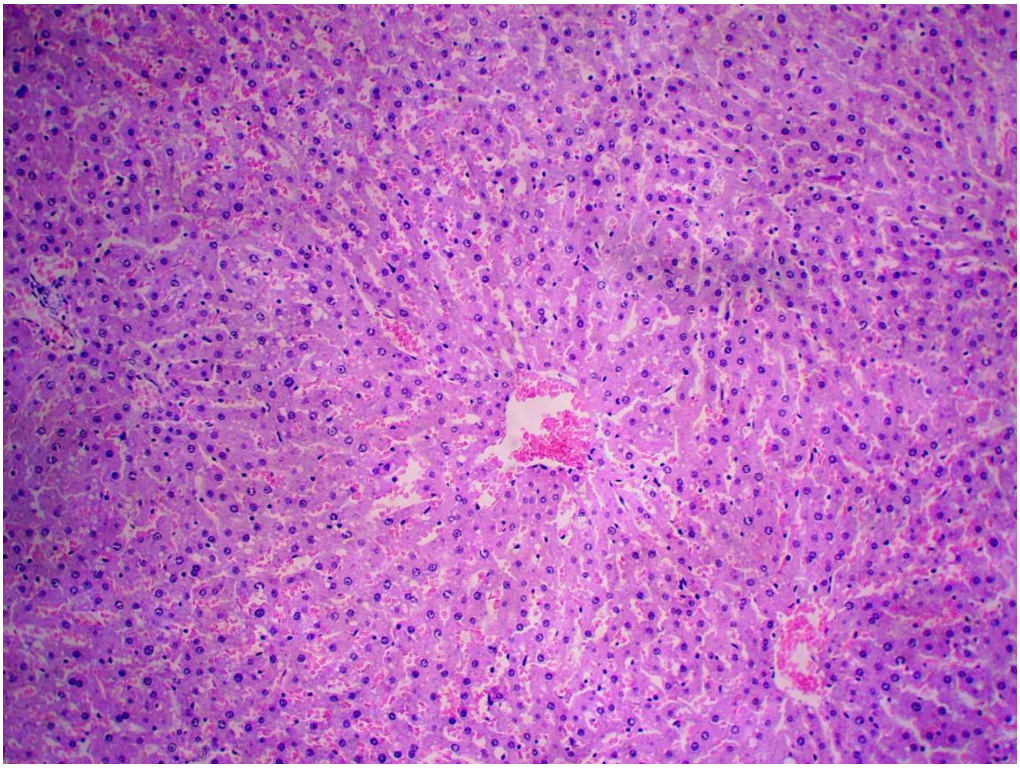


Рис. 4. Гистологический срез печени крысы
(Окрашивание: гематоксилин и эозин; увеличение Х100)

В гистосрезах печени интактных крыс наблюдается умеренное кровенаполнение синусоидных капилляров, центральных вен и портальных трактов (рисунок 4). Балочно-радиарное строение печёночных долек чётко прослеживается. Портальные тракты не расширены без признаков склероза и воспаления.

3.2.2.9. Эмбриотоксическое и тератогенное действие препарата «Гепатон-вет»

В процессе проверки безвредности новых фармакологических средств важное значение имеют испытания по их воздействию на репродуктивную систему животных, а также возможное развитие эмбриотоксических и тератогенных отдаленных последствий применение данных средств. Эмбриотоксическое действие препарата оценивали на самках белых лабораторных крыс, достигших физиологической зрелости со средней массой тела 170-200 грамм. Заранее, с помощью вагинальных мазков был исследован эстральный цикл для установления эструса. Далее, животные были разделены на две группы – контрольную и опытную по 10 особей в каждой. Затем было произведено спаривание самок как опытной, так и контрольной групп с самцами (из расчета 1 самец на 2 самки). При спаривании фиксировали степень оплодотворяемостимости самок по группам. Плодотворность осеменения (беременность) устанавливали по наличию сперматозоидов в мазках из влагалища опытных крыс.

«Гепатон-вет» самкам вводили внутрь с помощью атравматического зонда в дозе 10 мл/кг в период имплантации (пятый день беременности) и в период органогенеза (десятый день беременности).

Для оценки эмбриотоксического действия препарата пять беременных самок из каждой группы на 17-19 день плодоношения были подвергнуты эвтаназии в соответствии с принципами биоэтики. При патологоанатомическом осмотре были проведены исследования матки, плаценты и плодов (количество сосудов плода, распределение плодов в рогах матки), количество желтых тел в яичниках, а также количество живых и мертвых эмбрионов. У крыс, оставшихся в опыте до момента естественных родов, была определена продолжительность беременности, количество, вес, длина тела крысят и их развитие (увеличение длины и прибавка в весе за определенный временной промежуток, раскрытие глаз, начало самостоятельного движения по клетке и поедания пищи), а также выживаемость крысят и соотношение самцов и самок в помете.

Параметрами оценки токсического воздействия препарата на репродуктивную систему лабораторных животных являлись показатели гибели зародышей на пред- и постимплантационных стадиях развития (эмбриотоксический эффект), наличие аномалий развития внутренних органов и скелета (тератогенный эффект), масса зародышей, степень плодовитости крыс(таблица 25).

Таблица 25. Параметры оценки эмбриотоксического и тератогенного действия препарата «Гепатон-вет» (M±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

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

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.

3.3. Изучение аллергизирующих свойств исследуемого препарата

3.3.1. Реакция общей анафилаксии

Для оценки потенциального развития анафилаксии внутрь подопытным крысам задавался препарат «Гепатон-вет» в дозах 0.5 и 5.0 мл/кг в течение 5 дней, контрольной группе задавался изотонический раствор натрия хлорида в том же объёме. Через 21 день после окончания введения препарата всем всем группам была задача разрешающая доза исследуемого препарата. Оценку реакции проводили в индексах по Weigle .

Полученные результаты представлены в таблице 26.

Таблица 26. Оценка реакции общей анафилаксии (индексы по Weigle) у крыс после введения препарата «Гепатон-вет»

Исследуемые группы	Пол	Порядковые номера животных									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Контроль	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	♀	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	♀	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	♀	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Ни у одного животного признаки анафилаксии не выявлены.

3.3.2. Реакция непрямой дегрануляции тучных клеток

Для проведения исследований были сформированы три группы лабораторных животных по принципу, аналогичному предыдущему исследованию.

В качестве лабораторных животных в эксперименте использовались морские свинки. Срок эксперимента- 10 дней. Полученные показатели представлены в таблице 27.

Таблица 27. Реакция дегрануляции тучных клеток крыс в присутствии сывороток морских свинок после получения препарата «Гепатон-вет».

Экспериментальные группы	Пол	Порядковые номера животных									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Контроль	♂	0,12	0,10	0,12	0,15	0,13	0,11	0,15	0,11	0,14	0,12
	♀	0,14	0,16	0,14	0,12	0,11	0,12	0,10	0,13	0,14	0,10
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг	♂	0,11	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,10	0,14	0,12	0,10
	♀	0,12	0,14	0,12	0,13	0,13	0,12	0,11	0,10	0,12	0,13
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10 мл/кг	♂	0,16	0,11	0,13	0,14	0,12	0,14	0,13	0,10	0,11	0,12
	♀	0,18	0,13	0,13	0,16	0,14	0,15	0,15	0,11	0,12	0,10

Так как ни у одного животного значение не превысило 0,2; реакция считается отрицательной.

Полученные данные, обработанные статистически, представлены в таблице 28.

Таблица 28. Сравнение показателей дегрануляции тучных клеток в опытных и контрольных группах

Экспериментальные группы	Пол	ПДТК (M±m)	t-критерий Стьюдента	Вероятность (p)
Контроль	♂	0,14±0,01	-	-
	♀	0,13±0,02	-	-
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 0.5 мл/кг	♂	0,15±0,01	0,79	>0,05
	♀	0,14±0,02	0,14	>0,05
Препарат «Гепатон-вет» в дозе 10.0 мл/кг	♂	0,13±0,01	0,61	>0,05
	♀	0,16±0,02	1,28	>0,05

Таким образом, достоверных отличий в средних значениях ПДТК в не выявлено.

3.3.3. Реакция иммунных комплексов

Для исследования сенсибилизирующих свойств в качестве лабораторных животных были выбраны морские свинки, поскольку данный вид животных в интересующем нас эксперименте показывает наибольшую чувствительность. Нами были созданы три группы клинически здоровых, половозрелых одновозрастных животных, каждая из которых включала в себя 6 самок и 6 самцов (поскольку чувствительность самцов и самок к одному и тому же препарату может отличаться). Средняя масса всех особей составляла 263 грамма, разброс по массе не превышал 10%. Три группы включали в себя две опытные группы и одну контрольную. Перед началом эксперимента все животных прошли карантин в течение 14 дней и за сутки до эксперимента голодную диету (для стандартизации). В качестве корма животные получали полноценные сбалансированные гранулированные корма.

Сенсибилизацию морских свинок осуществляли путем подкожного введения препарата «Гепатон-вет» в дозах 0.5 и 10.0 мл/кг в течение 5 дней. Через 10 суток после последнего введения внутрикожно вводили разрешающую дозу препарата. Эту дозу определяли на интактных животных и наибольшим разведением препарата, не вызывающим видимых изменений в коже через час после внутрикожной инъекции. В контроле вводили такое же разведения растворителя — физиологического раствора. Полученные результаты представлены в таблице 29. Учет реакции проводили визуально начиная с 30 мин после введения разрешающей дозы. На этом сроке никаких проявлений на коже обнаружено не было. Никаких признаков реакции не было обнаружено спустя 1, 4 и 24 часа после ее постановки.

Таблица 29. Результаты реакции иммунных комплексов у опытных и контрольных групп морских свинок после введения разрешающей дозы препарата «Гепатон-вет»

Исследуемые группы	Пол	Порядковые номера животных					
		1	2	3	4	5	6
Через 1 час							
Контроль	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0.5 мл/кг	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10.0 мл/кг	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Через 4 часа							
Контроль	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0.5 мл/кг	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10.0 мл/кг	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Через 24 часа							
Контроль	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
0.5 мл/кг	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
10.0 мл/кг	Самец	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Самка	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Примечание: в числителе — результат реакции в опыте, в знаменателе — результат в контроле.

Учитывая отсутствие показателей реакции в опыте и контроле на всех сроках наблюдения, можно придти к выводу, что при применении препарат «Гепатон-вет» не обладает аллергенными свойствами, выявляемыми в реакции иммунных комплексов.

3.3.4. Изучение аллергизирующих свойств препарата методом накожных аппликаций

Оценку аллергизирующего действия препарата «Гепатон-вет» проводили путем провокационных кожных проб на морских свинках методом накожных аппликаций. Перед началом опыта была проведена сенсибилизация животных путем многократного нанесения препарата на кожу, для чего на выстриженный участок (2×2 см) с левой задней трети спины 10 морским свинкам ежедневно по 20 раз наносилось по 3 капли препарата «Гепатон-вет». С правой стороны на такой же участок кожи наносилось по 3 капли раствора препарата на протяжение 2 недель по 5 раз в неделю с 4-часовой экспозицией, после чего препарат удалялся стерильным ватным тампоном. После выдержки инкубационного периода (14 дней) на свежевыстриженный участок кожи наносилась разрешающая доза препарата (0,5 мл).

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 сенсибилизирующего 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.

3.4. Гепатозащитная активность препарата «Гепатон-вет»

Моделирования 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.

Эффективность гепатопротекторных свойств исследуемого препарата определялась клинической картиной, динамикой массы тела, относительной массой печени, содержанием билирубина, трансаминаз, фосфатаз, церулоплазмина, общего белка, липидов сыворотки крови, содержанием гликогена, глутатиона, SH-групп, цитохромов в печени, нагрузочными пробами (гексеналовый тест, бромсульфоалеиновая проба) и гистологической картиной печени, определяемых стандартными методиками.

Кровь для биохимических исследований получали пункцией хвостовой вены крыс. Активность АЛТ, АСТ, ЩФ, КФ, ЛДГ, тимоловую пробу, содержание общего белка, липидов, глюкозы, холестерина, билирубина сыворотки крови определяли с помощью общепринятых алгоритмов.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по Стьюденту- Фишеру. Морфометрические показатели эспериментальных животных представлены в таблице 30.

Таблица 30. Морфометрические показатели экспериментальных животных при лечении препаратом «Гепатон-вет» и препаратами сравнения токсического поражения печени, вызванного отравлением дихлорэтаном (20 день эксперимента), (M ± m)

Учитываемые показатели	Исследуемые группы				
	Контроль (интактные животные)	Дихлорэтан	Дихлорэтан + «Гепатон-вет»	Дихлорэтан +«Эссенциале»	Дихлорэтан +«Легалон»
Масса тела, г	193 ± 10	172 ± 10*	187 ± 15	183 ± 10	176 ± 10*
Относительная масса печени, г/кг массы тела	26.9 ± 1.1	45.5 ± 2.0*	32.5 ± 1.3	35.2 ± 1.1*	38.0 ± 1.6*

*— достоверное отличие от контроля (p< 0,05)

В группе животных, к которым не применялась фармакокоррекция, к 20 дню гибель животных составила 40%, в группе с «Легалоном» -10%, а в группах с «Гепатон-ветом» и «Эссенциале» летальности не наблюдалось.

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 создании экспериментальной модели гепатита путем интоксикации животных дихлорэтаном были получены достоверные показатели снижения массы тела и увеличения относительной массы печени. По сравнению с лечением Легалоном, применение препарата «Гепатон-вет» позволило вернуть массу тела и относительную массу печени к показателям нормы.

Результаты гистологических исследований представлены на рисунке 5.

У интактных крыс печень снаружи имеет соединительнотканную капсулу. Отходящие от капсулы тяжи соединительной ткани делят паренхиму печени на дольки. Классические печеночные дольки крыс имеют форму шестигранных призм, они не имеют чётких границ. В междольковой ткани у рёбер долек находятся триады – междольковая вена, междольковая артерия, желчный проток. Желчный проток выстлан кубическим эпителием. В центре дольки находится центральная вена, от которой расходятся печёночные балки. Печёночные балки образованы гепатоцитами. Гепатоциты крысы имеют неправильную многоугольную форму и составляют 60% всех клеточных элементов печени. Многие из них в норме содержат два или больше ядер. Внутри долек находятся синусоидные капилляры.

В гистосрезах печени интактных крыс наблюдается умеренное кровенаполнение синусоидных капилляров, центральных вен и портальных трактов. Балочно-радиарное строение печёночных долек чётко прослеживается. Портальные тракты не расширены без признаков склероза и воспаления.

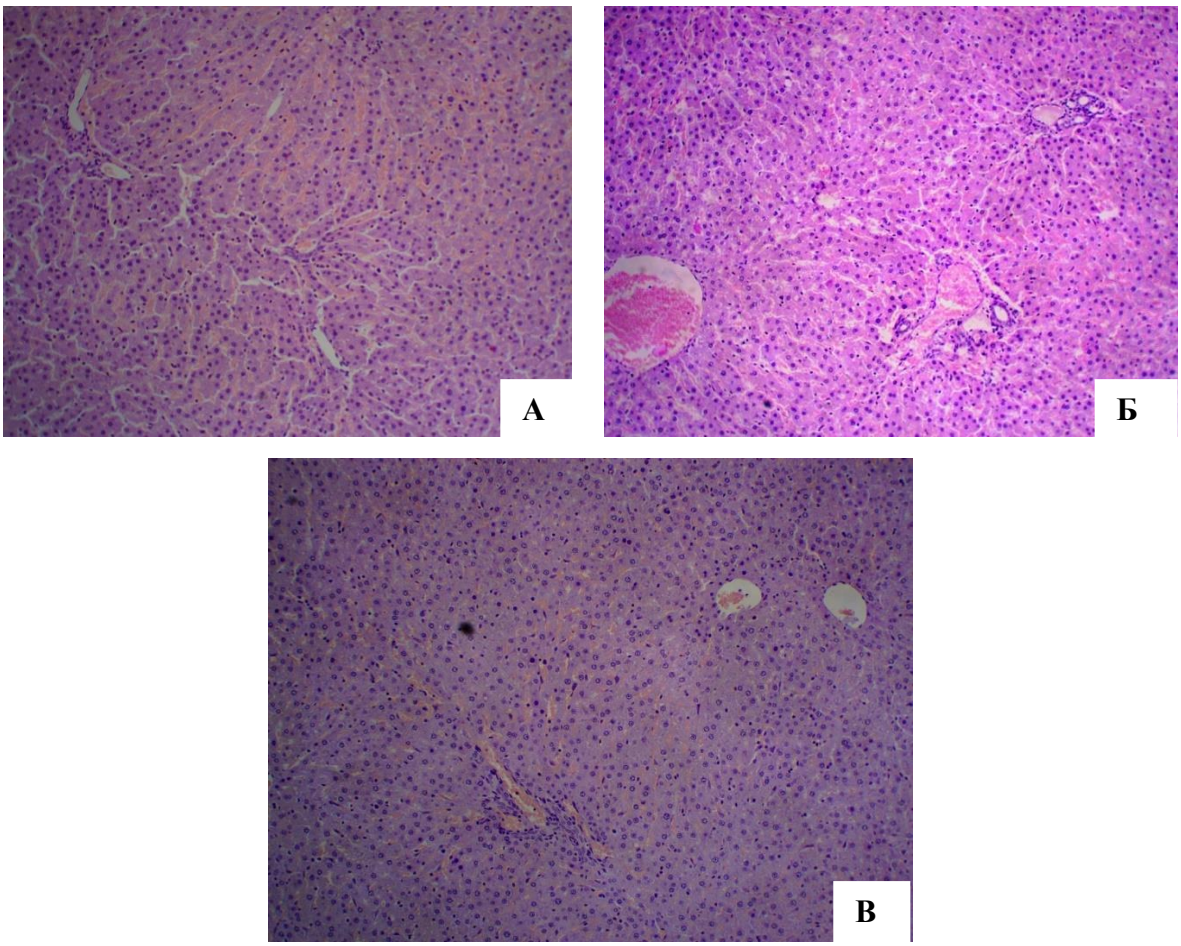


Рис. 5. Печень крыс с признаками острого токсического поражения (без лечения (а), печень крыс контрольной группы (патологий не выявлено) (б), печень крыс группы с лечением препараты «Гепатон-вет» (регенеративные процессы) (в). (Окрашивание: гематоксилин и эозин; увеличение Х100)

У группы крыс без лечения в гистологических срезах печени крыс наблюдается выраженное капиллярное полнокровие с эритростазами. Центральные вены и портальные тракты имеют различную степень кровенаполнения (от умеренного до выраженного полнокровия). Часть гепатоцитов находится в состоянии белковой зернистой и мелко- и крупно-капельной жировой дистрофии. Балочно-радиарное строение долек стирается на фоне мостовидных некрозов. В строме умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация. Капсула печени не утолщена

У крыс при лечени препаратом «Гепатон-вет» в гистологических срезах наблюдается неравномерно выраженное капиллярно-венозное полнокровие с эритростазами. Полнокровие центральных вен и вен портальных трактов Балочно-радиарное строение печёночных долек сохранено, но начинает стираться. В строме ряда печёночных долек очаговая умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация с единичными сегментоядерными лейкоцитами. Капсула печени не утолщена.

При поражении дихлорэтаном в крови подопытных животных отмечались явные биохимические сдвиги, свидетельствующие о поражении печени: повышение активности трансаминазы, фосфатазы, лактатдегидрогеназы, снижение содержания в сыворотке крови общего белка, липидов, резерва сульфгидрильных групп крови, повышение уровней билирубина и церулоплазмина, значительно замедлялась экскреция бромсульфалеина.

Таблица 31. Биохимические показатели крови экспериментальных животных при лечении препаратом «Гепатон-вет» и препаратами сравнения токсического поражения печени, вызванного отравлением дихлорэтаном (20 день эксперимента), (M ± m)

Показатели	Экспериментальные группы				
	Контроль (интактные животные)	Дихлорэтан	Дихлорэтан + «Гепатон-вет»	Дихлорэтан +«Эссенциале»	Дихлорэтан +«Легалон»
Total protein, g/l	64 ± 2	38 ± 4*	57 ± 5	56 ± 2	49 ± 3*
Total lipids, g/l	3.7 ± 0.3	2.8 ± 0.2*	3.6 ± 0.1	3.0 ± 0.3	2.9 ± 0.3
d-Glucose, mmole/l	4.8 ± 0.3	3.2 ± 0.5*	4.8 ± 0.5	4.6 ± 0.6	4.2 ± 0.2
Cholesterol, mmole/l	1.69 ± 0.43	1.83 ± 0.37	1.72 ± 0.23	1.65±0.35	1.65±0.22
BR, mole/l	2.9±0.2	6.3±0.3*	3.2±0.1	3.1±0.4	3.9 ±0.2*
ALT, mcKatal/l	0.20±0.02	1.65±0.08*	0.35±0.04*	0.32±0.06*	0.51±0.07*
AcAm, mcKatal/l	0.60±0.05	1.01±0.02*	0.69±0.06	0.53±0.01	0.66±0.08

Продолжение таблицы 31

ALKP, mcKatal/l	0.69±0.20	2.09±0.23*	0.71±0.17	0.94±0.14*	0.84±0.10
CPK, mcKatal/l	0.73±0.11	1.92±0.19*	0.75±0.13	0.72±0.12	0.99±0.11*
LDH, mmole/hour/l	4.92±0.31	10.42±1.37	6.85±0.36*	6.00±0.43*	7.58±0.45*
Тимоловая проба, ед. помутнения	1.41±0.15	5.69±0.22*	1.51±0.12	1.57±0.15	2.95±0.18*
–SH-группы, мкмоль/100 мл	1609±91	360 ± 19*	962 ± 50*	502 ± 40*	338 ± 81*
Церулоплазмин, мг/л	416 ± 9	839 ±58*	463 ± 29	453 ± 38	692 ± 87*
ХЭ, мкмоль/г/мин	2.4 ± 0.1	1.6± 0.2*	2.3± 0.2	2.5 ±0.1	1.7 ± 0.2*
Бромсульфалеин, на 10-й минуте после введения, мг%	14.18±1.1	35.8± 2.3*	16.4±1.7	23.3±1.5*	26.7±1.7*

*— достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$)

При оценке лечения препаратом «Гепатон-вет» и препаратами сравнения показано, что все препараты уменьшают признаки поражения печени, однако при применении «Гепатон-вета» большинство исследованных биохимические показатели практически вернулось к норме.

При интоксикации дихлорэтаном, в самой печени уменьшались запасы гликогена, восстановленного глутатиона, уровни детоксицирующих цитохромов. Поражение печени подтверждалось снижением ее функциональной активности: в 2 раза возрастала длительность гексеналового сна. По сравнению с лечением Легалоном, применение Эссенциале и «Гепатон-вет» обеспечило практически полное восстановление функциональной активности печени, нормализацию уровня восстановленного глутатиона, а также улучшение показателей детоксицирующих цитохромов.

Таблица 32. Печёночные показатели крови показатели экспериментальных животных при лечении препаратом «Гепатон-вет» и препаратами сравнения (20 день эксперимента), (M±m)

Показатели	Экспериментальные группы				
	Контроль (интактные животные)	Дихлорэтан	Дихлорэтан + «Гепатон-вет»	Дихлорэтан +«Эссенциале»	Дихлорэтан +«Легалон»
GSH, mg%	170 ± 15	80 ± 10*	170 ± 11	150 ± 5	140 ± 10*
Glycogen, мг%	2400±100	850±80*	1900±140	1400 ±194*	1200±148*
ЦитохромP_{450}, ммоль/мг белка *10^4	1.24 ± 0.03	0.95±0.07*	1.15 ± 0.06	1.05±0.08*	1.01±0.11*
ЦитохромB_5, ммоль/мг белка *10^4	0.84 ± 0.03	0.56±0.02*	0.59±0.08*	0.63±0.06	0.59±0.05*
Гексеналовый сон, мин	23.8 ±1.5	45.8 ± 2.5*	27.7 ±1.3	25.8 ±1.4	34.3 ±1.0*

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

На 21-е сутки после введения токсикантов производился забор крови для проведения биохимического исследования, при котором учитывались показатели антиоксидантной системы (диеновых коньюгатов (ДК), кетодиенов (КД) и малонового диальдегида (МДА), а также уровня эндогенной интоксикации (по содержанию МСМ). Результаты указаны в таблице 33.

Таблица 33. Влияние препарата «Гепатон» на степень липопероксидации при интоксикации дихлорэтаном (M±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

Продолжение таблицы 33

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

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что использование «Гепатона» 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.

3.5. 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=21) с морфо-функциональными нарушениями печени по типу жировой

дистрофии. Диагноз был поставлен на основании клинико-биохимических симптомов (Алёхин Ю.Н.,2009) [18].

В процессе исследования были сформированы 2 группы по 10 животных каждая (по принципу аналогов): контрольная (в течение 21 дня перорально задавался физиологический раствор 1 раз в день по 100 мл) и опытная (в течение 21 дня перорально задавался препарат «Гепатон-вет» 1 раз в день по 100 мл). В ходе эксперимента препарат «Гепатон-вет» подтвердил свою безопасность при использовании на целевых животных. Для проведения исследования 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.).

У целевых животных на протяжении всего периода фармакокоррекции исследовались показатели белкового (табл. 33), жирового (табл. 34), и пигментного (табл. 35) обмена.

Таблица 34. Влияние препарата «Гепатон-вет» на показатели белкового обмена, связанного с нарушением функции печени, у нетелей (M±m; n=10)

Показатели	Интактные животные	Группа	Период фармакокоррекции			
			До начала эксперимента	7-ые сутки	14-ые сутки	21-ые сутки
Total protein, g/l	82,34±1,18	Контрольная	86,21 ±1,32	86,62 ±0,87	86,74 ±0,72	87,11 ±0,62
		Опытная	86,65 ±1,15	85,62 ±0,54*	84,23 ±0,51*	83,78 ±0,41*
Albumins, %	41,74±1,12	Контрольная	34,91 ±1,16	34,37 ±1,21	33,65 ±1,18	33,42 ±1,11
		Опытная	34,74 ±1,09	36,52 ±1,12*	37,41 ±1,28*	38,23 ±1,31*
α- globulins, %	14,25±0,43	Контрольная	11,22 ±0,32	11,37 ±0,26	11,24 ±0,41	11,52 ±0,43

Продолжение таблицы 34

		Опытная	11,37 ±0,53	12,06 ±0,36*	13,28 ±0,31*	14,01 ±0,37*
β- globulins, %	12,11±0,53	Контрольная	17,21 ±0,83	17,52 ±0,97	17,67 ±0,85	17,45 ±1,01
		Опытная	17,32 ±0,77	16,39 ±0,93*	15,74 ±0,82*	15,12 ±0,24*
AST, ед/л	142,36 ±5,14	Контрольная	168,14 ±6,61	137,36 ±5,14	139,14 ±6,39	138,43 ±4,12
		Опытная	166,23 ±5,19	122,61 ±5,52*	102,93 ±4,37*	96,71 ±3,65*
ALT, ед/л	46,27 ±2,62	Контрольная	52,14 ±1,53	51,74 ±1,38	51,48 ±2,12	50,52 ±2,42
		Опытная	51,63 ±1,23	45,38 ±2,62*	40,24 ±1,26*	37,86 ±2,43*

Примечание: *- достоверное отличие от контроля (p< 0.05).

Таблица 35. Влияние препарата «Гепатон-вет» на динамику показателей обмена липидных соединений в сыворотке крови нетелей (M±m; n=10)

Показатели	Интактные животные	Группа	Период фармакокоррекции			
			До начала эксперимента	7-ые сутки	14-ые сутки	21-ые сутки
Total lipids, g/l	5,11 ±0,06	Контрольная	6,11 ±0,03	6,07 ±0,06	6,09 ±0,03	6,1 ±0,04
		Опытная	6,02 ±0,04	5,82 ±0,07*	5,31 ±0,03*	5,16 ±0,06*
Cholesterol, mmole/l	2,72±0,04	Контрольная	4,51 ±0,07	4,48 ±0,09	4,52 ±0,06	4,5 ±0,07
		Опытная	4,62 ±0,04	4,12 ±0,04*	3,91 ±0,04*	3,72 ±0,05*

Примечание: * - достоверное отличие от контроля (p< 0.05).

Таблица 36. Влияние препарата «Гепатон-вет» на динамику обмена билирубина в сыворотке крови нетелей (M±m; n=10)

Показатели	Интактные животные	Группа	Период фармакокоррекции			
			До начала эксперимента	7-ые сутки	14-ые сутки	21-ые сутки
BR, mcmole/l	3,62 ±0,02	Контрольная	5,12	5,09	5,11	5,09
			±0,04	±0,03	±0,05	±0,07
		Опытная	5,04	4,11	3,75	3,61
			±0,02	±0,03*	±0,02*	±0,06*

Примечание: *- достоверное отличие от контроля (p< 0.05).

Как видно из представленных таблиц, 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.

3.6. Экономическая эффективность «Гепатон-вет» при лечении гепатоза у крупного рогатого скота

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).

Экономическая эффективность (Эр) применения препарата коровам представляет собой отношение экономического эффекта (Ээ) к ветеринарным затратам (Зв). Для определение экономических показателей сравнение проводилось между 2 группами животных, больных жировым гепатозом. Первая группа помимо стандартного симптоматического лечения получала «Гепатон-вет», второй (контрольной) группе новый гепатопротектор не применялся.

Экономический эффект рассчитывается по формуле:

Ээ = Дс – Зв, где:

Дс – стоимость продукции, полученной дополнительно в результате применения «Гепатон-вета, руб.;

Зв – ветеринарные затраты, руб.

Стоимость продукции, полученной дополнительно, рассчитывают по формуле:

Дс = А х Ц х (Впо – Впб), где:

Впо – количество продукции, полученной от животных опытной группы (в расчете на одно животное), руб.;

Впб – количество продукции, полученной от животных контрольной группы (в расчете на одно животное), руб.;

А – количество животных в группе, голов;

Ц – цена реализации единицы продукции, руб.

Ветеринарные затраты (Зв) представляют собой совокупность всех расходов, связанных с проведением ветеринарных мероприятий, и определяются по формуле:

Зв = Зм + Зот + Оот, где:

Зм – материальные затраты (стоимость применяемых препаратов), руб.;

Зот – затраты на оплату труда, руб.;

Оот – отчисления от оплаты труда, руб.

За период исследований в опытной группе было израсходовано 21 л препарата «Гепатон-вет» (100 мл на животное х 21приём х 10 коров).

Стоимость 1 литра препарата составила 79,5 рублей. Итого: 79,5 х 21 л = 1669,5 рублей.

Таким образом, материальные затраты с учетом затрат на оплату труда и отчисления от оплаты труда составили:

Зв = 1669,5 + 1356,0 = 3025,5 руб.;

где 1356 = Зот + Оот;

Стоимость молока, которое потенциально можно получить дополнительно за счет применения препарата «Гепатон-вет», составила:

Дс = 10 х 21,0 х (1675,0 – 1513,0) = 34020,0 руб.;

Экономический эффект от применения препарата составил: Ээ = 34020,0 – 3025,5 =30994,5.

Экономическая эффективность на 1 рубль затрат равна: Эр =34020,0 : 3025,5 = 10,2руб.;

Таким образом, экономический эффект от применения препарата при лечении гепатоза у коров составил 10,2 руб. на один рубль затрат.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Заболевания печени занимают лидирующие позиции в промышленном животноводстве, что приводит к колоссальному экономическому ущербу. У крупного рогатого скота в условиях крупных комплексах до 60% поголовья страдают гепатопатиями различных форм, что приводит к снижению продуктивности, нарушению воспроизводительной функции, а в последствии- к выбраковке[15, 28, 72].

При этом в фармакоиндустрии постоянно идёт поиск новых композиций, обладающих как гепатопротекторной, так и антидисбиозной активностью, отличающихся как методами получения (биотехнологические, синтетические), так и механизмом действия[212, 230].

В России и в зарубежных странах широкое применение находят комплексные препараты, обладающие гепатопротекторным эффектом, однако зачастую их использование в промышленном животноводстве не достаточно эффективно, либо экономически нецелесообразно, что стимулирует проведение поисковых исследований новый веществ с заданными параметрами и их комбинации[131, 183].

При моделировании новой композиции комплексного гепатопротекторного препарата был проведен подбор оптимального качественного и количественного состава с уникальным интегральным фармацевтическим ответом, обладающего потенцирующим действием, повышая фармакологическую активность самого препарата.

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.

Дозы таких веществ, как урсодезоксихолиевая кислота, метионин и токоферола ацетат подбирались исходя из имеющихся литературных данных, в т.ч. с использованием зарубежной литературы [40, 60, 127, 174, 203, 206, 229].

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), 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.

Получившаяся лекарственная форма соответствует ОФС.1.4.1.0017.15 Эмульсии [55, 137]. Препарат представляет собой эмульсию темного цвета со светло-коричневым оттенком, со специфическим травяным запахом.

Согласно ОФС.1.4.1.0017.15 Эмульсии [55, 137] единственным обязательным нормативным показателем для пероральных эмульсий является pH препарата.

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

По результатам оценки острой токсичности LD_{50} и LD_{100} для препарата «Гепатон-вет» установлены не было, препарат классифицируется как малотоксичный, относится к четвёртому классу опасности по ГОСТ 12.1.007- 76 «Вредные вещества».

Длительное (субхроническое- 90 дней и хроническое- 180 дней) введение лабораторным животным исследуемого препарата не выявило патологических изменений в основных системах органов лабораторных животных.

В ходе экспериментов было выявлено, что исследуемый препарат не обладает раздражающими, аллергизирующими и кожно-резорбтивными

свойствами, не проявляет эмбриотоксического и тератогенного действия, не влияет на течение беременности и роды лабораторных животных.

Моделирования 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.

Эффективность гепатопротекторных свойств исследуемого препарата определялась клинической картиной, динамикой массы тела, относительной массой печени, содержанием билирубина, трансаминаз, фосфатаз, церулоплазмина, общего белка, липидов сыворотки крови, содержанием гликогена, глутатиона, SH-групп, цитохромов в печени, нагрузочными пробами (гексеналовый тест, бромсульфоалеиновая проба) и гистологической картиной печени, определяемых стандартными методиками.

Кровь для биохимических исследований получали пункцией хвостовой вены крыс. Активность АЛТ, АСТ, ЩФ, КФ, ЛДГ, тимоловую пробу, содержание общего белка, липидов, глюкозы, холестерина, билирубина сыворотки крови определяли с помощью общепринятых алгоритмов.

При создании экспериментальной модели гепатита путем интоксикации животных дихлорэтаном были получены достоверные показатели снижения массы тела и увеличения относительной массы печени. По сравнению с лечением Легалоном, применение препарата «Гепатон-вет» позволило вернуть массу тела и относительную массу печени к показателям нормы.

Гистологические исследования подтвердили цитопротективное и регенеративное свойства исследуемого препарата.

При оценке лечения препаратом «Гепатон-вет» и препаратами сравнения показано, что все препараты уменьшают признаки поражения печени, однако при применении «Гепатон-вета» большинство исследованных биохимические показатели практически вернулось к норме.

При интоксикации дихлорэтаном, в самой печени уменьшались запасы гликогена, восстановленного глутатиона, уровни детоксицирующих цитохромов. Поражение печени подтверждалось снижением ее функциональной активности: в 2 раза возрастала длительность гексеналового сна. По сравнению с лечением Легалоном, применение Эссенциале и «Гепатон-вет» обеспечило практически полное восстановление функциональной активности печени, нормализацию уровня восстановленного глутатиона, а также улучшение показателей детоксицирующих цитохромов.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что использование «Гепатона» 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.

Исследования фармакологической и лечебной активности препарата «Гепатон-вет, изученная на нетелях с клинико-биохимическими признаками жирового гепатоза, 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.

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, аллергизирующими 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) Исследование фармакологической и лечебной активность «Гепатон-вета», изученная на нетелях с клинико-биохимическими признаками жирового гепатоза, 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 активность «Гепатон-вет» (Патент № 2742414 C1 Российская Федерация, МПК A61K 31/198, A61K 31/355, A61K 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.

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

BAS – базофилы

BR – общий биллирубин

EOS – эозинофилы

GSH – восстановленный глутатион

Hgb – гемоглобин

LD50/100 – средняя доза вещества, вызывающая гибель половины/всех членов испытуемой группы

LYM – лимфоциты

MON – моноциты

MCV – средний объём эритроцита

MCH – цветовой показатель

MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците

PLT – тромбоциты

RBCs – эритроциты

RDC – гематокрит

RTC – ретикулоциты

WBCs – лейкоциты

АЛТ, **ALT** – аланинаминотрансфераза

АСТ, **AcAm**, **AST** – аспартатаминотрансфераза

КФ, **CPK** – креатинкиназа

ЛДГ, **LDH** – лактатдегидрогеназа

ХЭ – холинэстераза

ЩФ, **ALKP** – щелочная фосфатаза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов, А.А. Биофлаваноиды растений как источник получения гепатопротекторных препаратов в ветеринарии / А.А. Абрамов // В сборнике: Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Материалы XI Всероссийской конференции молодых ученых (29-30 ноября 2017 г.). – Краснодар: КубГАУ, 2017. – С. 94-95;

2. Абрамов, А.А. Влияние нового гепатопротекторного средства на метаболические функции печени / А.А. Абрамов, А.Н. Трошин, Е.П. Долгов // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2018. – № 3(30). – С. 30-32;

3. Абрамов, А.А. Изменение антиоксидантного статуса организма молочных коров под влиянием комплексного инъекционного гепатопротектора / А.А. Абрамов, М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, Е.В. Тяпкина, Е.П. Долгов // Новости науки в АПК. Выпуск материалов VII Международной конференции «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса». Ставрополь, 2019. – №3(12). – С. 153-156;

4. Абрамов, А.А. Изучение раздражающих и аллергизирующих свойств препарата бетатиосол-L /А.А. Абрамов, М.П. Семененко, С.И. Кононенко // Научное обеспечение устойчивого развития агропромышленного комплекса горных и предгорных территорий. Материалы международной научно-практической конференции посвященной 100-летию Горского ГАУ. 29-30 ноября,2018. – Ч.1. – С. 208-210;

5. Абрамов, А.А. Изучение уровня среднемолекулярных пептидов в сыво- ротке крови лабораторных крыс при фармакотерапии острого токсического гепатита / А.А. Абрамов, М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, В.А. Гринь // Сборник научных трудов ФГБНУ КНЦЗВ по материалам научно- практической конференции «Научные основы повышения продуктивности и здоровья сельскохозяйственных животных». Краснодар, 2019. Вы- пуск 8. – Т 2. – С.232-237;

6. Абрамов, А.А. Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия препарата Бетатиосол-L в эксперименте на лабораторных животных /

А.А. Абрамов, Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко // Наука, образование и инновации для АПК: состояние, проблемы и перспективы: Материалы V Международной научно-практической конференции, посвященной 25-летию образования Майкопского государственного технологического университета. Майкоп, 2018. – С. 160-162;

7. Абрамов, А.А. Исследование стерильности нового инъекционного гепатопротекторного препарата /А.А. Абрамов // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2018. – Т.7;

8. Абрамов, А.А. Перспективы использования солянки холмовой при заболеваниях печени у сельскохозяйственных животных / А.А. Абрамов, А.Н. Трошин, Е.В. Тяпкина // Теория и практика современной аграрной науки: Сб. Националной (всероссийской) научной конференции. – Новосибирск: ИЦ «Золотой колос», 2018. – С. 389-392;

9. Абрамов, А.А. Применение растительных гепатопротекторов в современ- ной ветеринарии / А.А. Абрамов, А.Н. Трошин, Д.В. Антипова // В сборнике: Инновации в повышении продуктивности сельскохозяйственных животных. Материалы международной научно-практич/ конференции, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ, 2017. – С. 07-13;

10. Абрамов, А.А., Трошин А.Н. Обоснование необходимости разработки липосомальных и ниосомальных форм гепатопротекторных препаратов// Молодой ученый, 2017. – №4. – С. 269-271;

11. Абрамов, А.А.Фармакологическая регуляция метаболических функций печени новыми гепатопротекторными средствами / А.А. Абрамов, М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова Е.П. Долгов // Новости науки в АПК. Выпуск материалов VI Международной конференции «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса». Ставрополь, 2018. – Т.I. – № 2(11). – С. 226-230;

12. Алехин, Ю. Н. Болезни печени у высокопродуктивных коров (диагностика, профилактика и терапия) / Ю. Н. Алехин // Ветеринария, 2011. – № 6.– С. 3-7;

13. Алехин, Ю. Н. Диагностика эндогенной интоксикации / Ю. Н. Алехин // Теоретические и практические аспекты возникновения и развития болезней животных и защита их здоровья в современных условиях : Материалы международной конференции, посвященной 30-летию Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, 03–04 октября 2000 года. – Воронеж: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, 2000. – С. 16-17.

14. Алехин, Ю. Н. Диагностическое значение интегральных показателей эндогенной интоксикации / Ю. Н. Алехин // Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных : Материалы Международного координационного совещания, Воронеж, 19–23 мая 1997 года. – Воронеж: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, 1997. – С. 45-46.

15. Алехин, Ю. Н. Становление функций преджелудков у телят с патологией печени / Ю. Н. Алехин // Ветеринария, 2012. –№ 10. – С. 44-47;

16. Алехин, Ю. Н. Становление функций преджелудков у телят с патологией печени / Ю. Н. Алехин // Ветеринария. – 2012. – № 10. – С. 44-47.

17. Алехин, Ю. Н. Функциональное состояние печени при асфиксии у новорожденных телят / Ю. Н. Алехин // Теоретические и практические аспекты возникновения и развития болезней животных и защита их здоровья в современных условиях : Материалы международной конференции, посвященной 30-летию Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, 03–04 октября 2000 года. – Воронеж: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, 2000. – С. 17-19.

18. Алехин, Ю.Н. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и терапии гепатопатий у крупного рогатого скота / Ю. Н. Алехин, С. В. Шабунин, М. И. Рецкий [и др.]. – Воронеж : Типография "Скоропечатня", 2009. – 88 с.

19. 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.

20. 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.

21. Андреева, Н. Л. Импортозамещение ветеринарных препаратов (необходимость, алгоритм разработки, регламентация) / Н. Л. Андреева, В. Д. Соколов, А. М. Лунегов // Международный вестник ветеринарии. – 2016. – № 1. – С. 12-17.

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

23. Андреева, С.Д., Шестакова, А.Н., Сапожников, А.Ф. Анатомо-физиологическая характеристика и методы исследования печени у животных / Издательство: Вятская государственная сельскохозяйственная академия (Киров), 2012. – 112 с.;

24. Антипова, Д.В. Применение в животноводстве препаратов на основе природного сырья / Д.В. Антипова, А.А. Абрамов, И.С. Жолобова // В сборнике: Инновации в повышении продуктивности сельскохозяйственных животных. Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ . 2017. С. 13-19;

25. Аскаров, Х. А. Состояние микроциркуляции внутренних органов и реологически свойства крови при сочетанных поражениях печени и поджелудочной железы : специальность 14.00.16 : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Аскаров Худоёр Адхамович. – Ташкент, 1996. – 20 с.

26. Байматов, В. Н. Морфофункциональная диагностика заболеваний печени у животных / В. Н. Байматов // Современные вопросы ветеринарной медицины и биологии : Сборник научных трудов по материалам Первой международной конференции. 70 лет Башкирскому государственному аграрному университету, Уфа, 21–22 ноября 2000 года / Башкирский государственный ордена Трудового Красного Знамени аграрный университет. – Уфа: Башкирский государственный аграрный университет, 2000. – С. 23-25.

27. Бакиров, А.Б. Преодоление гепатотоксичности стойких органических загрязнителей: роль антиоксидантов пиримидиновой структуры / А.Б. Бакиров, В.А. Мышкин, Э.Ф.Репина и соавт. // Гигиена труда и медицинская экология, 2016. – №3 (52).– С. 3-18;

28. Баринов, Н. Д. Фармакологическая профилактика кетоза у молочных ко- ров / Н.Д. Баринов, И.И. Калюжный // Ветеринарный врач, 2014. – № 4. – С. 34-40;

29. Батраков, А.Я. Профилактика и лечение массовых незаразных болезней у крупного рогатого скота / А.Я. Батраков, Т.К. Донская, С.В. Винникова [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2015. – № 4. – С. 118-121;

30. Бахта, А. А. Взаимосвязь белкового обмена и состояния печени у коз зааненской породы в зависимости от месяца сукозности / А. А. Бахта, Л. Ю. Карпенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 112-114.

31. Баширова, Э. М. Терапевтическая эффективность пробиотика Ветом 1.1 при гепатозе коров / Э. М. Баширова, И. Ф. Хазимухаметова // Ученые записки

Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, 2010. – Т. 203. – С. 30-35;

32. Башкатов, С.А. Сравнительное изучение фармакологических эффектов фитосборов, рекомендуемых для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей / С.А. Башкатов, Р.Г. Фархутдинов, Л.Т. Гильмутдинова, Е.А. Маракаева. – Фундаментальные исследования, 2015. – № 1-5. С. 903-907;

33. Башкирова, Е.В. Изучение фармакодинамических параметров лекарственной формы на основе флаволигнанов расторопши пятнистой (Silybum marianum (L) Gaerth) /Е.В. Башкирова, С.Н. Путина, А.А. Волков и др. //Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова». – 2014. – № 2 – С. 6-10;

34. Белоновская, О.С. Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния : учебно-методическое пособие / О. С. Белоновская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – 116 с.

35. Белоусов, Д. Ю., Зырянов, С. К., Колбин, А. С. Управление клиническими исследованиями. 1-е изд. М.: Буки Веди: Издательство ОКИ, 2017. — 676 с.;

36. Белугин, Н. В. Гепатозы у высокопродуктивных коров, их лечение и профилактика / Н. В. Белугин, Н. А. Писаренко, А. В. Конобейский [и др.] // Вестник АПК Ставрополья, 2014. – № 2 (14). – С. 112-116;

37. Бузлама, А.В., Чернов, Ю.Н.,Николаевский, В.А., Сливкин, А.И. Доклинические исследования лекарственных веществ. ГЭОТАР-Медиа, 2017. 384 с.;

38. Бузлама, В.С. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма у животных / В.С. Бузлама, М.И. Рецкий, Н.П. Мещеряков, Т.Е. Рогачева. ГНУ ВНИВИПФиТ. – 1997;

39. Бурлакова, Л. В. Комплексная система биологического контроля и оценки популяции крупного рогатого скота на территориях антропогенного

воздействия / Л. В. Бурлакова, О. В. Богатова, С. Н. Кошелев, И. М. Донник // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2006. – № 10-2(60). – С. 368-370.

40. Буторова, Л. И. Сравнительная эффективность препаратов урсодезоксихолевой кислоты в лечении билиарного сладжа / Л. И. Буторова, М. Д. Ардатская, М. А. Осадчук [и др.] // Терапевтический архив. – 2020. – Т. 92. – № 8. – С. 60-65. – DOI 10.26442/00403660.2020.08.000700.

41. Валькович, Э.И., Батюто, Т.Д., Букинич, А.Д., Кожухарь, В.Г., Скворцова, М.Ю., Столярова, М.В., Чурилова, Н.И., Шарф, О.Я. К вопросу о тератогенезе и тератогенности // В сборнике: Вопросы морфологии XXI века. Санкт-Петербург, 2010. С. 200-201;

42. Васильев, А.Н. Качественные доклинические исследования - необходимый этап разработки и внедрения в клиническую практику новых лекарственных препаратов // Антибиотики и химиотерапия. 2012. №57, 1-2. С. 41-49;

43. Васильева, С. В. Изучение концентрации тироксина и кортизола у коров с жировым гепатозом в транзитный период / С. В. Васильева, Л. Ю. Карпенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 202-204. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2019.3.202.

44. Внутренние болезни животных : Учебник / Г. Г. Щербаков, А. В. Яшин, А. П. Курдеко [и др.]. – 4-е издание, стереотипное. – Санкт-Петербург : Издательство "Лань", 2020. – 716 с. – (Учебники для вузов. Специальная литература). – ISBN 9785811452897.

45. Воинова, А. А. Применение препаратов «Габивит Se» и «Гепатоджект» при дистрофии печени у высокопродуктивных коров / А. А. Воинова, С. П. Ковалев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2015. – № 4. – С. 128-131;

46. Гарбузов, А. В. 20 лет системе сертификации лекарственных средств для животных / А. В. Гарбузов // Ветеринария. – 2013. – № 3. – С. 60-62.

47. Герасимов, С.В. Анализ нормативных документов, регламентирующих требования к проведению доклинических исследований ветеринарных препаратов / С. В. Герасимов, В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 3. – С. 27-29. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.3.27.

48. Гертман, А. М. Фармакокоррекция обменных процессов в организме высокопродуктивных коров в условиях Челябинской области / А.М. Гертман, Т.С. Самсонова // Аграрный вестник Урала № 05 (97). – 2012;

49. Гласкович, М. А. Разработка и внедрение в ветеринарную практику новых комплексных препаратов / М. А. Гласкович, С. А. Гласкович, М. И. Папсуева // Ветеринарная медицина на пути инновационного развития : Сборник материалов I Международной научно-практической конференции, Гродно, 15 декабря 2015 года – 16 2017 года / гродненский государственный аграрный университет. – Гродно: Гродненский государственный аграрный университет, 2016. – С. 151-155.

50. Голодяева, М. С. Влияние гепатопротектора "Гепалан" на молочную продуктивность у коров-первотелок / М. С. Голодяева, А. Я. Батраков, В. С. Понамарев // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 37-40.

51. Голодяева, М. С. Ранняя диагностика биохимического статуса у коров-первотелок при гепатозе / М. С. Голодяева, А. Я. Батраков // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 4. – С. 126-128.

52. Гончарова, Ю. Е. Гепатопротекторное действие трансплантатов красного костного мозга при экспериментальном токсическом гепатите / Ю. Е. Гончарова, Р. С. Данилов, Е. Ф. Кульбеков // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов / Министерство здравоохранения Российской Федерации, Пятигорская государственная фармацевтическая академия. – Пятигорск : Пятигорская государственная фармацевтическая академия, 2007. – С. 460-461.

53. Горчакова, О. В. Гепатотропные свойства растительного лекарственного средства silymarin при патологии печени / О. В. Горчакова // Вестник Биомедицина и социология. – 2018. – Т. 3. – № 2. – С. 18-24.

54. ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. Принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 20 октября 2014 г. N 71-П). Дата введения 2015-08-01;

55. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIII изд. –Т.2. – Москва, 2015. – 1040 с.

56. Градинарова, М.А. Анализ и прогнозная оценка перспектив развития молочного животноводства в России / М.А. Градинарова, Е.Н. Смертина // Учет и статистика, 2017. – № 4(48). – С.96;

57. Гринь, В.А. Интенсивность свободнорадикального окисления липидов при жировом гепатозе коров / В.А. Гринь, Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, А.А. Абрамов // Ветеринария Кубани, 2019. – № 5. – С. 11-13;

58. Грынчак, В.А., Сычик, С.И., Власенко, Е.К., Ильюкова, И.И., Афонин, В.Ю. Особенности эмбриотоксического действия диизононилфталата в экспериментах на лабораторных животных // Вестник ВГМУ. 2018. №4. С. 72-77;

59. Губергриц, Н.Б. Фармакотерапевтические эффекты и клинические возможности эталонного препарата силимарина /Н.Б Губергриц П.Г. Фоменко, Г.М. Лукашевич, О.А. Голубова //Фарматека – 2012.– №.2. – С.24–31;

60. Данченко, Е. О. Действие урсодезоксихолевой кислоты на содержание нуклеиновых кислот при частичной ишемии печени крыс / Е. О. Данченко, И. А. Чиркина, В. В. Ольшанникова // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы, Минск, 06–07 апреля 2012 года. – Минск: Белорусский государственный университет, 2012. – С. 145-148.

61. Данчук, М. С. Биологические свойства гепаторотекторов / М. С. Данчук, С. С. Зыкова // Пермский период : Сборник материалов V Международного научно-спортивного фестиваля курсантов и студентов, Пермь, 14–19 мая 2018 года. – Пермь: Пермский институт Федеральной службы исполнения наказаний, 2018. – С. 472-476.

62. Денисенко, Т. С. Эффективность применения димикара при комплексном лечении гепатоза коров / Т. С. Денисенко, И. В. Киреев, Б. В. Пьянов // Ветеринария и кормление, 2018. – № 3. – С. 29-31;

63. Джавахян, М.А. Анализ рынка современных средств гепатопротекторного действия /М.А. Джавахян, Ю.С. Канунникова //Вопросы биол. мед. и фармацевт. химии. – 2012. – №11. – С. 63– 65;

64. Добрунов, Р. А. Коррекция функционального состояния печени сухостойных коров при гепатозе с использованием гепатон-ветика и экстракта сапропеля : дисс. … канд. вет. наук / Роман Александрович Добрунов – Белгород, 2017. – 154 с;

65. Душкин, Е. В. Анализ результатов лечения жировой дистрофии печени / Е. В. Душкин, А. В. Конобейский, Б. В. Пьянов // Эффективное животноводство, 2013. – № 12 (98). – С. 32-33;

66. Душкин, Е. В. Лечение послеродовой гипертрофии печени и результаты восстановления продуктивных функций у коров / Е. В. Душкин, В. И. Еременко, А. П. Зеленков // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2015. – № 7. – С. 154-157;

67. Душкин, Е. В. О связи между функцией молочной железы и жировой дистрофией печени у высокопродуктивных коров / Е. В. Душкин // Сельскохозяйственная биология, 2010. – № 2. – С. 18-24;

68. Душкин, Е. В. Результаты внедрения способа лечения и профилактики гепатозов на производстве / Е. В. Душкин, С. В. Слесарев, Е. А. Трофимушкин // Сборник научных трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства. – 2013. – Т. 2. – № 1. – С. 68-72.

69. Душкин, Е.В. Предродовая и послеродовая дистрофия печени у высокопродуктивных молочных коров / Е. В. Душкин, Т. Н. Дерезина, Н. Ф. Фирсов [и др.] // Ветеринарная патология, 2014. – № 3-4 (49-50). – С. 44-48;

70. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. – Страсбург, 18 марта – 1987;

71. Енгашев, С.В. Изучение фармакодинамических параметров лекарственной формы на основе флаволигнанов расторопши пятнистой (silybum marianum (l.) gaerth) /С.В. Енгашев, Е.В. Башкирова, С.Н. Путина, А.А. Волков, С.В. Козлов и др. //Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2014. – № 2. – С. 6-9;

72. Еремина, Е.Ю. Лекарственные поражения печени /Е.Ю. Еремина //Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2012. – № 1. – С. 6–25;

73. Жерлицын, С.Н. Уточнение классификации заболеваний печени у животных / С. Н. Жерлицын, Ю. В. Благова, А. П. Волкова [и др.] // Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии, Саратов, 16 марта 2016 года. – Саратов: ИЦ "Наука", 2016. – С. 54-57.

74. Зайцев, С.Ю. Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты /С.Ю. Зайцев, Ю.В. Конопатов. – СПб.: Издательство «Лань», 2005. – 384 с;

75. Зыкова, С. С. Гепатопротекторная и антиоксидантная активность 8,8-диметил-5-п-толил-3,4,7,8-тетрагидро-2Н-пиридо[4,3,2-de]-циннолин-3-она / С. С. Зыкова, С. Н. Шуров, И. А. Родин [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Т. 54. – № 8. – С. 3-6. – DOI 10.30906/0023-1134-2020-54-8-3-6.

76. Зыкова, С. С. Исследование продуктов нуклеофильных реакций 1,3,4-трикарбонильных соединений с арилиденариламинами в качестве перспективных стимуляторов роста / С. С. Зыкова, П. А. Лейних, И. В. Красилова // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – № 11-1. – С. 187-189.

77. Зыкова, С. С. Лекарственные средства для ветеринарного применения: современная ситуация и перспективы / С. С. Зыкова // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии : Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию кафедр фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармацевтической химии, Пермь, 13 декабря 2018 года / Главный редактор: А.Ю. Турышев. – Пермь: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2018. – С. 194-196.

78. Зыкова, С. С. Природные и синтетические антиоксиданты в ветеринарии: pro et contra / С. С. Зыкова // Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК : Сборник Материалов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 145-летию Академии, Казань, 30 мая 2018 года. – Казань: Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2018. – С. 80-87.

79. Зыкова, С. С. Профилактика метаболических нарушений и заболеваний печени у служебных собак / С. С. Зыкова, А. П. Чернобровкина // Актуальные проблемы и перспективы служебного собаководства : сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции, Пермь, 20 ноября 2018 года. – Пермь: Пермский институт Федеральной службы исполнения наказаний, 2018. – С. 45-48.

80. Зыкова, С. С. Разработка и перспективы применения гепатопротекторов в ветеринарии / С. С. Зыкова, Н. Н. Гугушвили, И. А. Родин // Пенитенциарная система и общество: опыт взаимодействия : Сборник материалов V Международной научно-практической конференции, Пермь, 04–06 апреля 2018 года. – Пермь: Пермский институт Федеральной службы исполнения наказаний, 2018. – С. 366-368.

81. Калюжный, И. И. Поражение печени у высокопродуктивных коров при нарушении обмена веществ / И. И. Калюжный, Н. Д. Баринов // Вестник Саратовского государственного аграрного университета им. Н. И. Вавилова, 2013. – № 8. – С. 7-11;

82. Калюжный, И. И. Практические аспекты ранней диагностики гепатозов у лактирующих коров / И. И. Калюжный, И. С. Степанов, А. А. Солякина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана, 2016. – Т. 226. – № 2. – С. 72-76;

83. Камышников, В.С. Методы клинических лабораторных исследований / В.С. Камышников. - М.: МЕДпресс-информ, 2013. - 853 с;

84. Камышников, В.С. Методы клинических лабораторных исследований / В.С. Камышников, О.А. Волотовская, А.Б. Ходюкова, Т.С. Дальнова, С.Г. Василиу-Светлицкая, Е.Т. Зубовская, Л.И. Алехнович - Москва: Высшая школа, 2015. - 736 с.;

85. Карпенко, Л. Ю. Динамика белкового и азотистого обменов голштинизированных черно-пестрых пород коров в зависимости от месяца стельности / Л. Ю. Карпенко, А. А. Погодаева, А. А. Бахта // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 112-114. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.2.112.

86. Карпова, Е. А. Коэффициент окислительного стресса при патологии печени и применении нового нанокомпозитного препарата селена // Е. А. Карпова, О. П. Ильина. – Вестник Иркутской государственной сельскохозяйственной академии, 2014. – № 61. – С. 88-94;

87. Кильметова, И.Р. Эффективность нового гепатопротектора Диронакс при экспериментальном поражении печени этанолом / И. Р. Кильметова, Б. П. Струнин, Н. С. Макара [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 3. – С. 17-18.

88. Коваленок, Ю. К. Дисбиотически опосредованные расстройства гидролиза белков у животных при патологии желудочно-кишечного тракта / Ю. К. Коваленок, А. В. Напреенко // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2019. – Т. 55. – № 1. – С. 40-43.

89. Коваленок, Ю. К. Клинико-лабораторная диагностика болезней пищеварительного аппарата : учебно-методическое пособие для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальности "Ветеринарная медицина" / Ю. К. Коваленок, А. В. Богомольцев, А. А. Логунов ; Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины". – Витебск : Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2018. – 40 с.

90. Коваленок, Ю. К. Клиническая классификация дисбиозов у телят при незаразных желудочно-кишечных болезнях / Ю. К. Коваленок, А. П. Курдеко // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – № 2. – С. 65-70.

91. Коваленок, Ю. К. Применение статистики в диссертациях по ветеринарии / Ю. К. Коваленок, А. П. Курдеко, Л. Ю. Карпенко // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 2. – С. 56-60.

92. Коваленок, Ю. К. Статистика как необходимое условие доказательной ветеринарии / Ю. К. Коваленок, А. П. Курдеко // Наше сельское хозяйство. – 2016. – № 20. – С. 4-8.

93. Коваленок, Ю.К. Ферментодиагностика болезней животных : учебно-методическое пособие для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальности "Ветеринарная медицина" / Ю. К. Коваленок, А. П. Демидович, А. М. Курилович, А. В. Напреенко ; Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2020. – 31 с.

94. Козлов, С.В. Изучение некоторых фармакобиологических свойств препарата на основе коллоидного селена, конъюгированного с флавоноидами расторопши пятнистой /С.В. Козлов, А.А. Курилова и др. //Научная жизнь. – 2015. – № 2. – С. 115-124;

95. Колобов, А.А. Доклинические исследования безопасности (острой и хронической токсичности) потенциального лекарственного средства на основе пептидэргического нейро- и стресс-протектора / А.А. Колобов, М.П. Смирнова, Е.А. Кампе-Немм, В.М. Шпень, А.А. Вирцев, Е.А. Варюшина, Г.В. Александров, М.С. Захаров, А.С. Кирьянова, О.Э. Хуттунен, А.Б. Румянцева, И.Д. Митрофанов, И.В. Бендт, А.Э. Крылова, А.Б. Чистякова. – Современные проблемы науки и образования. 2019. – № 5. С. 96;

96. Коновалов, А. В. Кормление коров с использованием жмыха расторопши / А. В. Коновалов, Ю. Я. Кравайнис, Р. С. Кравайне // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 4. – С. 4-6. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-4-1.

97. Коновалова, В.В. Сравнительная оценка гепатопротекторной активности препаратов гептрал, липотон и гамавит / В.В. Коновалова, Н.Л. Андреева // Ж.: Ветеринарный врач. – № 2. – 2014. – С.21;

98. Кононенко, С. И. Биолого-продуктивный потенциал лактирующих коров при скармливании антиоксидантов / С. И. Кононенко, Р. Б. Темираев, А. А. Газдаров // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2011. – № 32. – С. 163-165;

99. Кононенко, С. И. Пути снижения влияния неблагоприятных кормовых факторов на организм животных / С. И. Кононенко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2016. – № 119. – С. 293-312;

100. Корнен, Н.Н. Исследование гипохолестеринемических свойств рапсовых и подсолнечных лецитинов /Н.Н. Корнен, С.А. Калманович, Т.А. Шахрай, Е.В.Кузьминова М. П. Семененко /Новые технологии.– 2017. – № 3 – С.38-43;

101. Корнен, Н.Н. Исследование технологических свойств растительных лецитинов /Н.Н. Корнен, Т.А.Шахрай, М.В. Лукьяненко, А.А. Схаляхов /Новые технологии. – 2015. – № 3. – С. 19-24;

102. Корнен, Н.Н. Сравнительная оценка эффективности антиоксидантного действия рапсовых и подсолнечных лецитинов в опытах на лабораторных животных /Н.Н. Корнен, С.А. Калманович, М. П. Семененко, Е.В.Кузьминова /Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. – 2017. – № 5. – С. 9-14;

103. Королева, Л.Р. Современные гепатопротекторы / Л.Р. Королева // Российский медицинский журнал, 2005. – №2. – С. 35-37;

104. Королева, Т. С. Влияние препарата "Гепатон" на показатель цитохрома Р450 / Т. С. Королева, В. С. Понамарев // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 131-133.

105. Коростелев, А. И. Потребление сухого вещества рациона бычками черно-пестрой породы при интенсивном и умеренном кормлении / А. И. Коростелев // Зоотехния. – 2007. – № 6. – С. 11-13.

106. Кострова, А. В. Влияние препарата "Гепатон" на показатель протромбинового времени / А. В. Кострова, В. С. Понамарев // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 133-136.

107. Кострова, А. В. Изучение аллергизирующих 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: Красноярский государственный аграрный университет, 2020. – С. 75-76.

108. Кострова, А. В. Некоторые аспекты проверки безопасности гепатопротектора на растительной основе / А. В. Кострова, В. С. Понамарев // XXII Всероссийская научно-практическая конференция Нижневартовского государственного университета : Материалы конференции, Нижневартовск, 06–07 апреля 2020 года / Научный редактор: Д.А. Погонышев. – Нижневартовск: Нижневартовский государственный университет, 2020. – С. 25-28.

109. Крехова, К. Е. Ряд свойств протомитохондрий из печени крысы / К. Е. Крехова, Н. Л. Векшин // Биофизика. – 2018. – Т. 63. – № 2. – С. 265-269.

110. Крышень, К.Л., Кательникова, А.Е., Мужикян, А.А., Макарова, М.Н., Макаров, В.Г. Регуляторные и методические аспекты изучения аллергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований. // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018. Т. 8. № 1. С. 44-55;

111. Кузнецов, В.М. Повышение устойчивости высокопродуктивных молочных коров к функциональным нарушениям печени / В. М. Кузнецов, Г. Б.

Ревина, Л. И. Асташенкова // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук, 2017. – № 3. – С. 88-90;

112. Кузьминов, Н. Д. Возможности использования компьютерных информационно-аналитических программ при заболеваниях печени у животных / Н. Д. Кузьминов, М. П. Семененко // Актуальные проблемы современной ветеринарной науки и практики : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института, Краснодар, 22–23 июня 2016 года / ФГБНУ «Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт»; ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет». – Краснодар: Общество с ограниченной ответственностью "Издательский Дом - Юг", 2016. – С. 252-255.

113. Кузьминова, Е. В. Диагностическое значение биохимических показателей крови при гепатопатологиях / Е. В. Кузьминова, М. П. Семененко, Е. А. Старикова [и др.] // Ветеринария Кубани, 2013. – № 5. – С. 11-13;

114. Кузьминова, Е. В. Перспективы расширения спектра применения гепатопротекторов в ветеринарии /Е. В. Кузьминова, М. П. Семененко, Е. А. Старикова, Е. В. Тяпкина, А. В. Ферсунин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2014. – № 102. – С. 787;

115. Кузьминова, Е. В. Применение биологически активных веществ для нормализации обменных процессов у животных / Е. В. Кузьминова, М. П. Семененко, Е. А. Старикова [и др.] / Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2013. – № 11 (109). – С. 80-83;

116. Кузьминова, Е.В. Биотехнологические приемы повышения продуктивности и сохранности животных / Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, О.Н. Тюпенькова, Т.А. Шахеликьян // В сборнике: Актуальные вопросы ветеринарной медицины и животноводства. Материалы международной научно-практической конференции, 2011. – С. 72-73;

117. Кузьминова, Е.В. Применение биологически активных веществ для нормализации обменных процессов у животных /Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, Е.А. Старикова, Е.В. Тяпкина /Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2013. - № 11 (109). - С. 80-83;

118. Кузьминова, Е.В. Применение биологически активных веществ для нормализации обменных процессов у животных /Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, Е.А. Старикова, Е.В. Тяпкина / Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2013. - № 11 (109). - С. 80-83;

119. Курдеко, А.П. Методы диагностики болезней сельскохозяйственных животных / А. П. Курдеко, С. П. Ковалев, В. Н. Алешкевич [и др.]. – 2-е издание, стереотипное. – Санкт-Петербург : Издательство "Лань", 2020. – 208 с. – (Учебники для вузов. Специальная литература). – ISBN 9785811449521.

120. Личук, Н. Г. Функциональное состояние печени молочных коров при кетозе после применения кормовой добавки «Нормотел» / Н.Г. Личук, Л.Г. Сливинская, А.В. Березовский [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2016. – Т. 52. – № 3. – С. 57-62;

121. Лыкасова, И.А. Ветеринарно-санитарная экспертиза сырья и продуктов животного и растительного происхождения. Лабораторный практикум. / И.А. Лыкасова, В.А. Крыгин, И.В. Безина, И.А. Солянская. – СПб.: Издательство «Лань», 2015. – 304 с.;

122. Ляпунов, Н.А. Современная методология фармацевтической разработки лекарственных препаратов / Н.А. Ляпунов, Безуглая Е.П. // Фармацевтическая отрасль. – Февраль № 1 (36). – 2013;

123. Маловастый, К.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства. Методическое пособие по изучению дисциплины и задачи для контрольной работы студентам заочной формы обучения по специальности 111201 - "Ветеринария" / К.С. Маловастый. – Брянск, 2011. – 123с.;

124. Маркова, Д. С. Гематологические параметры у коров при метаболических нарушениях в период адаптации / Д. С. Маркова, С. З. Байзульдинов, И. И. Калюжный, Ю. Н. Алехин // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 4. – С. 106-111.

125. Методические рекомендации по определению общего экономического эффекта от использования результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в Агропромышленном комплексе. – М: РАСХН, 2007. – 12 с.;

126. Методические рекомендации по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии. Воронеж. – 1998. –24 с.;

127. Мироджов, Г.К. Влияние урсодезоксихолевой кислоты на содержание желчных кислот при неалкогольной жировой болезни печени / Г. К. Мироджов, Н. А. Алимова, А. Х. Кадыров, З. Н. Расулова // Здравоохранение Таджикистана. – 2017. – № 4(335). – С. 19-23.

128. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев, О.Л. Верстакова, М.В. Журавлева, В.К. Лепахин, Н.В. Коробов, В.А Меркулов, С.Н. Орехов, И.В. Сакаева, Д.Б. Утешев, А.Н. Яворский. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с;

129. Михайлова, Е. В. Каталитические свойства NADP-зависимой малатдегидрогеназы из печени крыс в норме и при экспериментальном токсическом гепатите / Е. В. Михайлова, О. А. Сафонова, Т. Н. Попова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2009. – № 3. – С. 39-43.

130. Михеева, О. М. Печень и лекарственный метаболизм / О. М. Михеева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2011. – № 2. – С. 121-124.

131. Мищенко, В. А. Проблема патологии печени у высокопродуктивных коров / В. А. Мищенко, А. В. Мищенко, О. Ю. Черных // Ветеринария Кубани, 2014. – № 2. – С. 11-12;

132. Нечаев, А. В. Профилактика метаболических заболеваний высокопродуктивных коров / А. В. Нечаев, Л. А. Минюк, Д. Ю. Гришина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2017. –№ 2 (38). – С. 143-147;

133. Никулин, И.А. Опыт применения энергена для нормализации обмена веществ и функции печени у животных /И.А. Никулин, А.М. Самотин, О.А. Ратных, О.С. Корчагина //В сборнике: Современные технологии сельскохозяйственного производства сборник научных статей по материалам XXI Международной научно-практической конференции. – 2018. – С. 80-82;

134. Никулин, И.А. Эффективность применения биологически активных веществ при гепатозе телят /И.А. Никулин, Ю.А. Шумилин //В сборнике: докладов Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов». – 2019. – С. 550-554;

135. Оковитый, С.В. Гепатопротекторы: руководство /С.В. Оковитый и др. //М.: ГОЭТАР – Медиа, 2010. – 112 с;

136. Оковитый, С.В. Гепатотропные средства: современное состояние проблемы /С.В. Оковитый, Д.С. Суханов, М.Г. Романцов //Терапевт. арх. – 2012. – № 2. –С. 62–68;

137. ОФС.1.1.0009.15 «Определение сроков годности лекарственных средств»;

138. Патент № 2738444 C2 Российская Федерация, МПК A61K 31/352, A61K 31/575, A61K 36/9066. Комбинированное средство, содержащее УДХК, гимекромон и силимарин (варианты) : № 2017147051 : заявл. 29.12.2017 : опубл. 14.12.2020 / А. В. Чекалов ; заявитель Общество с ограниченной ответственностью "ФБК".

139. Патент № 2742414 C1 Российская Федерация, МПК A61K 31/198, A61K 31/355, A61K 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.

140. Полянских, Л.С. Экспериментальные модели патологии печени / Л. С. Полянских, М. А. Петросян, Н. В. Жесткова, Н. Н. Балашова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80. – № 2. – С. 39-44. – DOI 10.30906/0869-2092-2017-80-2-39-44.

141. 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.

142. 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.

143. Понамарев, В. С. Влияние препарата "Гепатон" на показатели коагуляционной пробы / В. С. Понамарев // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 144-146.

144. 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, 13–15 мая 2020 года. – Саратов: Саратовский ГАУ, 2020. – С. 106-110.

145. Понамарев, В. С. Влияние препарата «Гепатон» на параметры функционального состояния почек / В. С. Понамарев, 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: Марийский государственный университет, 2020. – С. 448-453.

146. Понамарев, В. С. Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на выживаемость, массу тела, потребление корма и воды у подопытных животных / В. С. Понамарев, 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: Марийский государственный университет, 2020. – С. 445-448.

147. 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, 30 марта 2020 года. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2020. – С. 213-217.

148. 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.

149. Понамарев, В. С. Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на биохимические показатели мочи лабораторных животных / В. С. Понамарев // Физико-химическая биология как основа современной медицины : Тезисы докладов участников Республиканской конференции с международным участием, посвященной 80-летию со дня рождения Т.С. Морозкиной, Минск, 29 мая 2020 года / Под редакцией А.Д. Тагановича, В.В. Хрусталёва, Т.А. Хрусталёвой. – Минск: Белорусский государственный медицинский университет, 2020. – С. 137-138.

150. Понамарев, В. С. Изучение пирогенного эффекта при введении гепатопротекторного препарата "Гепатон" / В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева, Е. С. Королева, А. В. Кострова // Биотехнология: взгляд в будущее, Ставрополь, 16

апреля 2020 года. – Ставрополь: Ставропольский государственный медицинский университет, 2020. – С. 14-16.

151. 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, 30 марта 2020 года. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2020. – С. 218-220.

152. 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: Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина, 2020. – С. 117-120.

153. 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.

154. 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: Красноярский государственный аграрный университет, 2020. – С. 85-86.

155. 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.

156. 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, 16 апреля 2020 года. – Ставрополь: Ставропольский государственный медицинский университет, 2020. – С. 16-18.

157. 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, 25 июня 2020 года. – Кемерово: Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, 2020. – С. 178-182.

158. 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, 16 апреля 2020 года. – Ставрополь: Ставропольский государственный медицинский университет, 2020. – С. 19-21.

159. Попова, О.С., Барышев В.А. Оценка токсичности на лабораторных животных ригатирина и фитосорбционного комплекса с хитозаном // Сборник конференции: Инновационная деятельность науки и образования в агропромышленном производстве. Курск, 2019. С.: 324-328;

160. Посысаева, Е.С., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Авдеева О.И., Седова С.В., Рыбакова А.В. Характеристика строения скелета эмбрионов крыс при изучении эмбриотоксичности лекарственных препаратов // Международный

вестник ветеринарии. 2013. № 3. С. 84-89;

161. Приказ Министерства сельского хозяйства РФ от 6 марта 2018 года N 101 "Об утверждении Правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения" // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 2. – С. 20.

162. Пронин, В.В. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства. Практикум. / В.В. Пронин, С.П. Фисенко. - СПб.: Издательство «Лань», 2018. – 240 с.;

163. Пугач, О.П., Андреева, Н.Л., Лунегов, А.М., Барышев, В.А., Пугач, В.А. Изучение раздражающего и аллергизирующего действия дезинфицирующего средства на лабораторных животных. // В сборнике: Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии. Материалы V-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов. 2019. С. 164-165;

164. Разработка отечественных ветеринарных препаратов и способов профилактики и лечения заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц, Екатеринбург, 08–09 февраля 2018 года. – Екатеринбург: Уральский государственный аграрный университет, 2018. – 251 с.

165. Ратных, О.А. Лечебная эффективность гумата калия при гепатозе лактирующих коров и телят молочного периода : дисс. канд. вет. наук : 06.02.01 / Ольга Александровна Ратных. – Воронеж, 2018. – 193 с;

166. Ращектаев, А. С. Методы диагностики жирового гепатоза, их эффективность / А. С. Ращектаев, П. Н. Щербаков // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 2(100). – С. 090-092.

167. Ращектаев, А.С. Фармако-клиническое обоснование применения препарата "Геприм для кошек" при жировом гепатозе: диссертация кандидата ветеринарных наук: 06.02.03 //Уральская государственная академия ветеринарной медицины. – Троицк. – 2015. – 129 с;

168. Решетько, О.В., Луцевич, К.А., Клименченко, Н.И. Фармакологическая безопасность при беременности: принципы тератогенеза и тератогенность лекарственных средств // Педиатрическая фармакология. 2016. Т. 13. № 2. С. 105-115;

169. Росихин, Д.В. Фармакогностическое исследование по обоснованию комплексного использования расторопши пятнистой /Д.В. Росихин, В.А Куркин, В.М. Рыжов //Аспирантский вестник Поволжья. – 2015. – № 5-6 (2). – С. 342-346;

170. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств /под ред. А.Н. Миронова //М.: Гриф и К, – 2012. – 944 с;

171. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общей редакцией проф. Р. У. Хабриева. Изд. второе, переработанное и дополненное, Москва. – 2005. 832 с.;

172. Русакова, К. Д. Влияние препарата "Гепатон" на показатель цитохрома В5 / К. Д. Русакова, В. С. Понамарев // Экология и природопользование : Материалы Международной научно-практической конференции, Магас, 21–23 октября 2020 года. – Магас: ООО "КЕП", 2020. – С. 159-161.

173. Семененко, М. П. Доклиническое изучение гепатозащитного средства / М. П. Семененко, Е. В. Кузьминова, Е. В. Тяпкина [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2015. – № 2. – С. 141-143;

174. Семененко, М. П. Использование природных бентонитов в животноводстве и ветеринарии / М. П. Семененко, В. А. Антипов, Е. В. Кузьминова, А. Н. Трошин, Е. В. Тяпкина, А. В. Ферсунин // Краснодар, 2014. - 51 с.;

175. Семененко, М. П. Этиопатогенез и особенности гепатотропной терапии коров при гепатозах / Е. В. Кузьминова, Ф. Д. Онищук [и др.] // Ветеринария, 2016. – № 4. – С. 42-46;

176. Семененко, М.П. Клиническая фармакология нового комплексного гепатопротекторного препарата / М. П. Семененко, М. Н. Соколов, Е. В. Кузьминова // Политематический сетевой электронный научный журнал

Кубанского государственного аграрного университета, 2016. – № 119. – С. 1077–1088;

177. Семененко, М.П. Экспертные системы в повышении эффективности диагностики заболеваний печени у животных / М. П. Семененко, Е. В. Кузьминова, С. И. Кононенко [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2018. – № 11. – С. 62-68.

178. Семененко, М.П. Этиопатогенез и особенности гепатотропной терапии коров при гепатозах / М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, Ф.Д. Онищук, Е.В. Тяпкина // Ветеринария, 2016. – № 4. – С. 42-46;

179. Сидорова, К. А. Гепатопатии продуктивных животных: распространенность и экономический ущерб / К. А. Сидорова, Ю. А. Драбович, А. С. Сивкова // Перспективные разработки и прорывные технологии в АПК : Сборник материалов национальной научно-практической конференции, Тюмень, 21–23 октября 2020 года. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2020. – С. 127-129.

180. Соболев, В.А. Гепатопротекторная терапия при лекарственноиндуцированном поражении печени у животных /В.А. Соболев, Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, В.В. Меньшенин //В сборнике научных трудов ФГБНУ КНЦЗВ по материалам научно-практической конференции «Научные основы повышения продуктивности и здоровья сельскохозяйственных животных». – Краснодар. – 2018. – Выпуск 7. Т 1. – С. 228-233;

181. Староверов, С.А., Гепатопротекторные свойства нанокомлекса коллоидного селена коньюгированного с силимарином /С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Козлов и др. /В сборнике: Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии. – 2016. – С. 173-178;

182. Стекольников, А.А. Лабораторные животные: учебное пособие / А.А. Стекольников, Г.Г. Щербаков, А.В. Яшин, О.Г. Шараськина. // СПб: Лань, 2017. — 316 с.;

183. Титовская, И. Гепатопротекторы - в помощь, но здоровье начинается с кормления / И. Титовская // Эффективное животноводство. – 2021. – № 2(168). – С. 46-50.

184. Токарева, О.А., Токарев, А.Н. Иммунотоксические свойства химиотерапевтического препарата // В сборнике: Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ. СПб, 2020. С. 108-110;

185. Требухов, А. В. Кетоз молочных коров : монография / А. В. Требухов, А. А. Эленшлегер, С. П. Ковалев. – Барнаул: Алтайский государственный аграрный университет, 2016. – 123 С. – ISBN 9785944853011.

186. Тяпкина, Е. В. Рациональное использование лекарственных препаратов в ветеринарии / Тяпкина Е. В., Хахов Л.А., Семененко М.П., Кузьминова Е.В., Антипов В.А., Трошин А.Н., Ферсунин А.В. // Краснодар. – 2014;

187. Фарис, С. А. Особенности физико-химических, кинетических и регуляторных свойств изоформ малатдегидрогеназы из печени крыс при аллоксановом диабете : специальность 03.01.04 "Биохимия" : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Фарис Сатар Абуд. – Воронеж, 2010. – 24 с.

188. Федеральные клинические рекомендации. Аллергология. Главные редакторы: акад. РАН Р.М. Хаитов, проф. Н.И. Ильина – М.: «Фармарус Принт Медиа», 2014. 126 с.;

189. Федорова, А.О. Влияние стресса и его коррекции на лимфоцитопоэз у крыс / А. О. Федорова, Н. С. Кухаренко, В. А. Коноплев, С. П. Ковалев // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 148-154. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2021.2.148.

190. Фомин, О.А. Новые средства фармакотерапии и фармакопрофилактики болезней печени у высокопродуктивного молочного скота / О.А. Фомин // Молодой ученый.– № 19 (99), 2015. – С. 325–327;

191. Хазимухаметова, И. Ф. Диагностика и коррекция обмена веществ у коров при патологии печени / И.Ф. Хазимухаметова, Э.М. Баширова // Ветеринарный вестник. – 2011. – № 6. – С.129;

192. Хуанг, В. Роль различных популяций клеток печени в метаболизме липопротеидов высокой плотности : специальность 03.00.04 : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Хуанг Вэй. – Москва, 1993. – 20 с.

193. Шабунин, С. В. Основные причины патологии обмена веществ у скота, завозимого в Россию / С. В. Шабунин, Ю. Н. Алехин // Ветеринарный врач. – 2007. – № 5. – С. 37-41.

194. Шаламов, В.Ю. Сравнительная ветеринарно-санитарная оценка качества мяса кроликов / В.Ю. Шаламов, А.А.О. Рафиев, Е.А. Зубарева // Сб.: Высокие технологии и инновации в науке Сборник избранных статей Международной научной конференции. – СПб.: Частное научно-образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Гуманитарный национальный исследовательский институт «НАЦРАЗВИТИЕ», 2019. - С. 31-34;

195. Шамсутдинова, И. Р. Влияние наночастиц серебра на сопряженность биохимического состава печени и крови животных / И. Р. Шамсутдинова // Результаты научных исследований : Сборник статей Международной научно-практической конференции, Тюмень, 15 февраля 2016 года / Ответственный редактор: Сукиасян Асатур Альбертович. – Тюмень: Общество с ограниченной ответственностью "Аэтерна", 2016. – С. 49-53.

196. Щербаков, Г.Г. Изменение показателей крови при диарее телят / Г. Г. Щербаков, А. В. Яшин, С. П. Ковалев [и др.] // Перспективы и актуальные проблемы развития высокопродуктивного молочного и мясного скотоводства : сборник материалов Международной научно-практической конференции, Витебск, 25–27 мая 2017 года. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2017. – С. 186-188.

197. Щербаков, Г. Г. Полисубстратные процессы при мембранном гидролизе белков и углеводов у млекопитающих / Г. Г. Щербаков, А. В. Напреенко, Ю. К. Коваленок // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2020. – № 1(12). – С. 148-151.

198. Щербинина, М. Б. Урсодезоксихолевая кислота при билиарной патологии: современные представления / М. Б. Щербинина // Современная гастроэнтерология. – 2019. – № 2(106). – С. 46-52. – DOI 10.30978/MG-2019-2-46.

199. Шкуратова, И.А. Морфофункциональные изменения печени у коров и их плодов при повышенном содержании в рационе свинца и кадмия / И.А. Шкуратова, Л.И. Дроздова, А.И. Белоусов // Вопросы нормативно- правового регулирования в ветеринарии, 2016. – № 3. – С. 162-164;

200. Яшин, А.В. Незаразная патология крупного рогатого скота в хозяйствах с промышленной технологией / А. В. Яшин, Г. Г. Щербаков, И. И. Калюжный [и др.]. – Санкт-Петербург : Издательство "Лань", 2019. – 220 с. – (Учебники для вузов. Специальная литература). – ISBN 9785811440580.

201. Яшин, А.В. Оценка клинического состояния животных и применение лекарственных препаратов при болезнях пищеварительного аппарата / А.В. Яшин, Г.В. Куляков, Г.Г. Щербаков, А.М. Лунегов, В.А. Барышев, И.И. Калюжный. – СПб.; Саратов, 2019. – 160 с.;

202. Aschenbach, J.R. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough / J. R. Aschenbach, N. B. Kristensen, S. S. Donkin [et al.] // IUBMB Life, 2010. – Vol. 62. – № 12. – P. 869–877;

203. Buko, V.U. Protective effects of norursodeoxycholic acid versus ursodeoxycholic acid on thioacetamide-induced rat liver fibrosis / V. U. Buko, O. Y. Lukivskaya, E. E. Naruta [et al.] // Journal of Clinical and Experimental Hepatology. – 2014. – Vol. 4. – No 4. – P. 293-301. – DOI 10.1016/j.jceh.2014.02.001.

204. Center, S.A. Balanced therapy for chronic liver disease /S.A. Center //WALTHAM Focus, 2010. – Vol. 10. – P. 20-31;

205. Dinicolantonio, J. J. Added fructose as a principal driver of non-alcoholic fatty liver disease: A public health crisis / J. J. Dinicolantonio, J. H. O'keefe, A. M.

Subramonian // Open Heart. – 2017. – Vol. 4. – No 2. – P. e000631. – DOI 10.1136/openhrt-2017-000631.

206. Elateeg, A.A. Biotechnological production of silymarin in Silybum marianum L.: A review / A. A. Elateeq, Y. Sun, W. Nxumalo, A. M. M. Gabr // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. – 2020. – Vol. 29. – P. 101775. – DOI 10.1016/j.bcab.2020.101775.

207. El-Sherbiny, G. A. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of hepatotoxicity caused by amoxicillin-clavulanic acid in rats / G. A. El-Sherbiny, A. Taye, I. T. Abdel-Raheem // Annals of hepatology : official journal of the Mexican Association of Hepatology. – 2009. – Vol. 8. – No 2. – P. 134-140. – DOI 10.1016/s1665-2681(19)31792-2.

208. Eremeeva, E.V. Oxygen activation of apo-obelin-coelenterazine complex / E.V. Eremeeva, P. V. Natashin, L. Song [et al.] // Chembiochem, 2013. – Vol. 14 (6). – P. 739-745;

209. Gillessen, A. Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review / A. Gillessen, H. H. J. Schmidt // Advances in Therapy. – 2020. – DOI 10.1007/s12325-020-01251-y.

210. Jilkova, Z. M. Animal models of hepatocellular carcinoma: The role of immune system and tumor microenvironment / Z. M. Jilkova, K. Kurma, T. Decaens // Cancers. – 2019. – Vol. 11. – No 10. – P. 1487. – DOI 10.3390/cancers11101487.

211. Kalugniy, I.I.Diagnosis of hepatopathy in Holstein cattle with metabolic disorders / I. I. Kalugniy, D. S. Markova, A. V. Yashin [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science : International scientific and practical conference "Ensuring sustainable development in the context of agriculture, green energy, ecology and earth science", Smolensk: IOP PUBLISHING LTD, 2021. – P. 022-029.

212. Kim, J. W. Drug-Induced Liver Disease and Drug Use Considerations in Liver Disease / J. W. Kim, P. V. Phongsamran // Journal of Pharmacy Practice. – 2009. – Vol. 22. – No 3. – P. 278-289. – DOI 10.1177/0897190008328696>.

213. Korlimarla, A. Hepatic Manifestations in Glycogen Storage Disease Type III / A. Korlimarla, S. Austin, B. Sun, P. Kishnani // Current Pathobiology Reports. – 2018. – Vol. 6. – No 4. – P. 233-240. – DOI 10.1007/s40139-018-0182-x.

214. Koshchaev, A. G. Amino. Acid Profile of Meat of Specialized Beef Breeds / A. G. Koshchaev, I. V. Shchukina, M.P. Semenenko, A.S. Krivonogova, V.V. Kalashnikov // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. September – October 2016 RJPBCS 7(5) Page No. 670-676;

215. Kovalev, S. Immunity indicators of calves obtained from cows with ketosis during the treatment process / S. Kovalev, A. Nikitina, P. Anipchenko [et al.] // Journal of Animal Science. – 2019. – Vol. 97. – No S3. – P. 199. – DOI 10.1093/jas/skz258.410.

216. Krivosheev, A.B. A-1-antitrypsin gene polymorphism serina1 at nonalcoholic fatty liver disease / A. B. Krivosheev, V. N. Maksimov, M. I. Voevoda [et al.] // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2020. – No 1-2. – P. 70.

217. Kuzminova, E.V. A Complex Approach to Liver Protection from Mycotoxicoses in Experimental Conditions / E.V. Kuzminova, M.P. Semenenko, S.I. Kononenko, A.A. Abramov, E.P. Dolgov // Asian Journal of Pharmaceutics. – Oct-Dec. 2018 (Suppl). – 12 (4). – S.1236-1241;

218. Lima, F.S. Effects of feeding rumen-protected choline on incidence of diseases and reproduction in dairy cows / F. S. Lima, M. F. Sa Filho, L. F. Creco [et al.] // The Veterinary Journal, 2011. – Vol. 193 (1). – P. 140-145;

219. Mari, M. Redox Control of Liver Function in Health and Disease /M. Mari, A. Colell, A. Morales et al. //Antioxidants &Redox signaling. – 2010. – Vol. 12. - № 11. – P. 1295-1331;

220. Mukhtar, S. Hepatoprotective activity of silymarin encapsulation against hepatic damage in albino rats / S. Mukhtar, Z. Xiaoxiong, S. Qamer [et al.] // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2020. – DOI 10.1016/j.sjbs.2020.10.063.

221. Nikitina, A. Kidney damage in cows with steatosis / A. Nikitina, S. Kovalev, G. Nikitin [et al.] // Journal of Animal Science. – 2019. – Vol. 97. – No S3. – P. 198. – DOI 10.1093/jas/skz258.408.

222. Panchenko, L.F. Oxidative stress in the alcoholic liver disease / L. F. Panchenko, B. V. Davydov, N. N. Terebilina [et al.] // Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B: Biomedical Chemistry. – 2014. – Vol. 8. – No 1. – P. 73-76. – DOI 10.1134/S1990750814010120.

223. Plemyashov, K. Hematological status of newly-calved cows with mineral metabolism disturbance / K. Plemyashov, G. Nikitin, A. Nikitina [et al.] // FASEB Journal. – 2019. – Vol. 33. – No S1. – P. 374. – DOI 10.1096/fasebj.

224. Semenenko, M.P. Mechanisms of biological activity of bentanites and possibili- ties of their use in veterinary medicine /M.P. Semenenko, E.V. Kuzminova, A.G. Koshchaev //Advances in Agricultural and Biological Sciences, 2015. – № 2. – P. 3-10;

225. Semenenko, M.P. Molecules of medium mass as an integral indicator of endogenous intoxication in the diagnosis of hepatopathy and its effect on improving the economic efficiency of veterinary measures in the field of dairy farming / M. P. Semenenko, E. V. Kuzminova, E. V. Tyapkina [et al.] // Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2017. – Vol. 9. – No 9. – P. 1573-1575.

226. Stepanov, I.S. Development and application of new methods of correction and prevention of metabolic diseases in Holstein cattle / I. S. Stepanov, I. I. Kalugniy, D. S. Markova [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science : International scientific and practical conference "Ensuring sustainable development in the context of agriculture, green energy, ecology and earth science", Smolensk, 25 января 2021 года. – Smolensk: IOP PUBLISHING LTD, 2021. – P. 022030. – DOI 10.1088/1755-1315/723/2/022030.

227. Szweda, M. Side-effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the liver in dogs and hepatoprotective effect of plant remedies / M. Szweda, J. Szarek, Z. Kielbowicz,B. Szynaka // Bull.Veter.Inst.in Pulawy, 2014; Vol.58,N 3. - P. 459-466;

228. Tharwat, M. Ultrasonography as a diagnostic and prognostic approach in cattle and buffaloes with fatty infiltration of the liver / M. Tharwat // Pol.J.veter.Sc., 2012. – Vol.15. –№ 1. – P. 83-93.

229. Tighe, S.P. Chronic liver disease and silymarin: A biochemical and clinical review / S. P. Tighe, D. Akhtar, U. Iqbal, A. Ahmed // Journal of clinical and

translational hepatology. – 2020. – Vol. 8. – No 4. – P. 454-458. – DOI 10.14218/JCTH.2020.00012.

230. Votinceva, A.A. The result of histochemical research in the diagnosis of steatosis in cows / A. Votinceva, A. Nikitina, G. Nikitin [et al.] // FASEB Journal. – 2019. – Vol. 33. – No S1. – P. 58.

231. Xie, Y. Metabolism, transport and drug–drug interactions of silymarin / Y. Xie, D. Zhang, J. Zhang, J. Yuan // Molecules. – 2019. – Vol. 24. – No 20. – P. 3693. – DOI 10.3390/molecules24203693.

232. Yan-Yu, X. Preparation of silymarin proliposome: A new way to increase oral bioavailability of silymarin in beagle dogs / X. Yan-Yu, S. Yun-Mei, C. Zhi-Peng, P. Qi-Neng // International Journal of Pharmaceutics. – 2006. – Vol. 319. – No 1-2. – P. 162-168. – DOI 10.1016/j.ijpharm.2006.03.037.

233. Zykova, S. Pharmacoprophylaxis of liver diseases: creating a new hepatoprotector / S. Zykova, S. Shurov, A. Savinkov [et al.] // BIO Web of Conferences : International Scientific-Practical Conference “Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources” (FIES 2019), Kazan, 13–14 ноября 2019 года. – Kazan: EDP Sciences, 2020. – P. 00061.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Патент

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2742414

Препарат комплексный с гепатопротекторной активностью для крупного рогатого скота

Патентообладатель: ***Понамарёв Владимир Сергеевич (RU)***

Авторы: ***Понамарёв Владимир Сергеевич (RU), Андреева Надежда Лукояновна (RU), Попова Ольга Сергеевна (RU), Барышев Виктор Анатольевич (RU)***

Заявка № **2020120624**
Приоритет изобретения **16 июня 2020 г.**
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **05 февраля 2021 г.**
Срок действия исключительного права на изобретение истекает **16 июня 2040 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 742 414** (13) **C1**

(51) МПК
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/355 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 36/73 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
(52) СПК
A61K 31/198 *(2020.08)*
A61K 31/355 *(2020.08)*
A61K 31/575 *(2020.08)*
A61K 36/28 *(2020.08)*
A61K 36/73 *(2020.08)*
A61P 1/16 *(2020.08)*

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

Статус: действует (последнее изменение статуса: 17.02.2021)

(21)(22) Заявка: **2020120624, 16.06.2020**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.06.2020

Дата регистрации:
05.02.2021

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **16.06.2020**

(45) Опубликовано: **05.02.2021** Бюл. № **4**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **RU 2504347 C1, 20.01.2014. RU 2017147051 A, 01.07.2019. RU 2418601 C2, 20.05.2011. EP 0913155 B1, 20.03.2002. WO 2019236775 A1, 12.12.2019.**

Адрес для переписки:

(72) Автор(ы):
Понамарёв Владимир Сергеевич (RU),
Андреева Надежда Лукояновна (RU),
Попова Ольга Сергеевна (RU),
Барышев Виктор Анатольевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Понамарёв Владимир Сергеевич (RU)

(54) **Препарат комплексный с гепатопротекторной активностью для крупного рогатого скота**

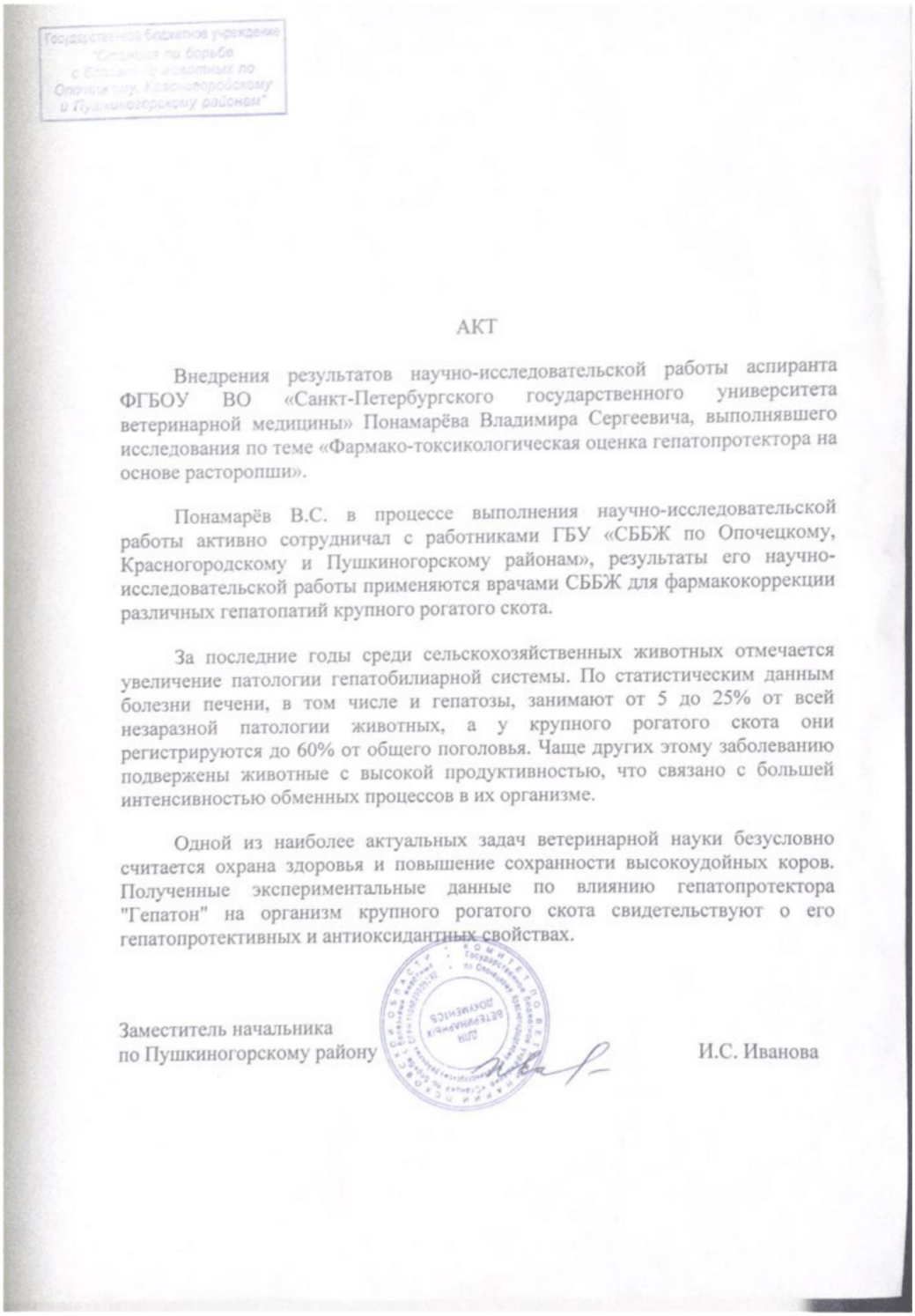
(57) Реферат:

Изобретение относится к области фармацевтики, а именно к комплексному препарату с гепатопротекторной активностью для крупного рогатого скота. Препарат содержит масло расторопши пятнистой, урсодезоксихолиевую кислоту, метионин, токоферола ацетат и сироп шиповника в определенных соотношениях. Изобретение обеспечивает расширение арсенала средств с гепатопротекторной активностью, а именно создание комплексного препарата для лечения и профилактики гепатопатий крупного рогатого скота, обладающего как гепатопротекторным, так и антиоксидантным эффектами. 2 табл., 2 пр.

Изобретение относится к области ветеринарной медицины и может быть использовано для лечения и профилактики гепатопатий сельскохозяйственных и домашних животных.

За последние годы в ветеринарии приобрела особую актуальность проблема роста патологий гепатобилиарной системы, которые негативно влияют на физиологический статус организма животного, что и обуславливает дальнейший поиск эффективных средств с гепатопротектор ной активностью. Большая часть гепатобилиарных патологий этиологически и патогенетически взаимосвязана с желудочно-кишечными патологиями, в том числе с количественными и качественными изменениями микрофлоры желудочно-кишечного тракта, которые способствуют формированию неспецифического реактивного гепатита, внутрипеченочного холестаза, печеночно-клеточной дисфункции, воспалительных процессов внепеченочного бил парного

Акты внедрения



Государственное бюджетное учреждение
"Станция по борьбе
с болезнями животных по
Опочецкому, Красноборскому
и Пушкиногорскому районам"

АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы аспиранта ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины» Понамарёва Владимира Сергеевича, выполнявшего исследования по теме «Фармако-токсикологическая оценка гепатопротектора на основе расторопши».

Понамарёв В.С. в процессе выполнения научно-исследовательской работы активно сотрудничал с работниками ГБУ «СББЖ по Опочецкому, Красногородскому и Пушкиногорскому районам», результаты его научно-исследовательской работы применяются врачами СББЖ для фармакокоррекции различных гепатопатий крупного рогатого скота.

За последние годы среди сельскохозяйственных животных отмечается увеличение патологии гепатобилиарной системы. По статистическим данным болезни печени, в том числе и гепатозы, занимают от 5 до 25% от всей незаразной патологии животных, а у крупного рогатого скота они регистрируются до 60% от общего поголовья. Чаще других этому заболеванию подвержены животные с высокой продуктивностью, что связано с большей интенсивностью обменных процессов в их организме.

Одной из наиболее актуальных задач ветеринарной науки безусловно считается охрана здоровья и повышение сохранности высокоудойных коров. Полученные экспериментальные данные по влиянию гепатопротектора "Гепатон" на организм крупного рогатого скота свидетельствуют о его гепатопротективных и антиоксидантных свойствах.

Заместитель начальника
по Пушкиногорскому району И.С. Иванова

Псковская область
СПК «ИССА»
Гдовский район
Псковская область
д.Исса

АКТ

Внедрения результатов научно-практической работы аспиранта ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины» Понамарёва Владимира Сергеевича, выполнявшего исследования по теме «Фармако-токсикологическая оценка гепатопротектора на основе расторопши».

Проблема гепатопатий у крупного рогатого скота является наиболее актуальной в хозяйствах. Данный вид патологий наносит значительный экономический ущерб, который связан с применением различных методов лечения, длительностью лечения, возможных осложнениях и рецидивов.

Для снижения экономического ущерба в СПК «Исса» используются практические предложения, полученные в ходе выполнения Понамарёвым Владимиром Сергеевичем научно-исследовательской работы.

Использование указанных результатов позволяет наиболее эффективно лечить и профилактировать гепатопатии различного генеза у крупного рогатого скота. Также, предложенные методы профилактики заболеваний печени, позволяют снизить частоту данного вида патологий, что позволяет существенно снизить экономический ущерб.

Председатель СПК «Исса» Т.В. Павлова

СПК «Исса»

Разрешения на проведение исследований

КОМИТЕТ ПО ВЕТЕРИНАРИИ ПСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ
180001, Псков, ул. Некрасова, 23, тел. 29-95-53, тел./факс 29-95-56, эл. почта: vnbadanina@obladmin.pskov.ru

От 13.05.2020 № 01-12/430

Профессору кафедры фармакологии
и токсикологии
ФГБОУ ВО «СНбГУВМ»
Н.Л.Андреевой

Уважаемая Надежда Лукояновна!

В ответ на Ваше заявление от 12.05.2020 г. Комитет по ветеринарии Псковской области согласовывает аспиранту кафедры фармакологии и токсикологии Понамареву В.С. проведение клинических исследований препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на поголовье крупного рогатого скота в СПК «Ленинский путь» д. Васильевское Пушкиногорского района.

Председатель комитета В.Н.Баданина

Чернышова Наталья Викторовна
8/8112/299-554

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(Россельхознадзор)

Орликов пер., 1/11, Москва, 107996
Для телеграмм: Москва 84 Россельхознадзор
факс: (495) 607-51-11, тел.:(499) 975-43-47
E-mail: info@fsvps.ru
http://www.fsvps.ru

03.06.2020 № ФС-НВ-2/15883

На № _____ от_____

Ректору ФГБОУ ВО «СПбГУВМ»

Стекольникову А.А

196084, г. Санкт – Петербург, ул. Черниговская, д. 5

Копия
И.о. руководителя
Управлению Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору по Санкт-Петербургу, Ленинградской и Псковской областям
Емцеву О.Г.
198095, г. Санкт-Петербург, ул. Швецова, д.12
Тел/факс: (812) 252-23-25

Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору сообщает о получении уведомления о проведении клинических исследований лекарственного препарата для ветеринарного применения «Гепатон», разработчик ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», на базе СПК «Колхоз Ленинский путь» (Псковская область, Пушкиногорский район), с 20.06.2020 по 13.07.2020.

Управлению Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору по Санкт-Петербургу, Ленинградской и Псковской областям необходимо осуществить контроль за проведением данных клинических исследований, руководствуясь письмом Россельхознадзора от 06.09.2019 № ФС-НВ-2/23643.

Заместитель Руководителя

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
СВЕДЕНИЯ О СЕРТИФИКАТЕ ЭП
Сертификат: №25B4613AEE3B8C46B3A00A0C9E32C8679AAB494D
Владелец: Власов Николай Анатольевич
Действителен: с 19.08.2019 по 19.11.2020

Н.А.Власов

М.Н. Осянина 8(495) 608-07-41

20000874

Протокол утверждения временного наставления

Выписка из протокола № 2

заседания научно-методической комиссии кафедры внутренних болезней, клинической диагностики, фармакологии и токсикологии
от 25.06.2019 года

Присутствовали: профессор Яшин А.В., профессор Ковалев С.П., профессор Андреева Н.Л., профессор Батраков А.Я., профессор Щербаков Г.Г., доценты: Донская Т.К., Лунегов А.М.

Повестка дня:

Утверждение временного наставления по применению гепатопротекторного средства на основе расторопши, разработанного аспирантом кафедры фармакологии и токсикологии Понамаревым В.С. и профессором кафедры фармакологии и токсикологии Андреевой Н.Л. совместно с ООО «Центр Регенеративных Технологий Петс Стэм»

СЛУШАЛИ: профессора кафедры внутренних болезней животных им. А.В. Синева Щербакова Г.Г. который предложил утвердить временное наставление по применению гепатопротекторного средства на основе расторопши, разработанного аспирантом кафедры фармакологии и токсикологии Понамаревым В.С. и профессором кафедры фармакологии и токсикологии Андреевой Н.Л. При обсуждении временного наставления были заданы вопросы о проведенных доклинических исследованиях средства на лабораторных животных и клинических испытаний на ограниченном количестве голов крупного рогатого скота.

Выступили: профессор Ковалев С.П., профессор Батраков А.Я., профессор Андреева Н.Л. внесли существенные уточнения в текст представленного временного наставления и предложили его утвердить.

Постановили: утвердить временное наставление по применению гепатопротекторного средства на основе расторопши, разработанного аспирантом кафедры фармакологии и токсикологии Понамаревым В.С. и профессором кафедры фармакологии и токсикологии Андреевой Н.Л.

Голосование- «единогласно»

Председатель: Яшин А.В.

Секретарь: Донская Т.К.

ПОДПИСЬ
УДОСТОВЕРЯЮ
«25» 06 2019 г.
Нач. канцелярии

Временное наставление

Проект - ИНСТРУКЦИЯ

по применению «Гепатона» для профилактики и лечения заболеваний печени

(организация – разработчик: ФГБОУ ВО «СПбГАВМ»)

- Общие сведения

- Торговое наименование лекарственного препарата: Гепатон (Haepaton).

- Международные непатентованные наименования действующих веществ: урсодезоксифолиевая кислота, масло расторопши пятнистой, метионин, токоферола ацетат, сироп шиповника.

- Фармакотерапевтическая группа лекарственного препарата: гепатон относится к гепатопротекторам смешанного происхождения.

- Лекарственная форма: эмульсия для перорального применения. В качестве действующих веществ содержит: урсодезоксифолиевая кислота- 1,5 г, масло расторопши пятнистой-51 г, метионин-2,25 г, токоферола ацетат-3000 МЕ, сироп шиповника- до 100 мл. По внешнему виду представляет эмульсию светло-коричневого оттенка, со специфическим травяным запахом.

- Гепатон выпускают по 100 мл, в стеклянном флаконе с вкладышем - инструкцией по применению.

- Фармакологические свойства

Гепатон – комплексный препарат гепатопротекторного действия для перорального применения. Благодаря действующим веществам проявляет иммуномодулирующее, гипохолестеринемическое, гепатопротективное, желчегонное, холелитолитическое действие.

Урсодезоксифолиевая кислота стабилизирует мембраны гепатоцитов и холангиоцитов, оказывает прямое цитопротективное действие. В результате действия ЛС на желудочно-кишечную циркуляцию желчных кислот уменьшается содержание гидрофобных (потенциально токсичных) кислот. За счет уменьшения всасывания холестерина в кишечнике и других биохимических эффектов оказывает гипохолестеринемическое действие. Подавляет гибель клеток, обусловленную токсичными желчными кислотами.

Масло расторопши заимодействует со свободными радикалами в печени и снижает их токсичность. Прерывая процесс перекисного окисления липидов, препятствует дальнейшему разрушению клеточных структур. В поврежденных гепатоцитах стимулирует синтез структурных и функциональных белков и фосфолипидов (за счет специфической стимуляции РНК-полимеразы А), стабилизирует клеточные мембраны, предотвращает потерю клеточных компонентов и внутриклеточных ферментов (трансаминаз), ускоряет регенерацию клеток печени. Тормозит

проникновение в клетки некоторых гепатотоксических веществ (ядов гриба бледной поганки).

Метионин регулирует азотистый баланс. Содержит подвижную метильную группу и участвует в процессах метилирования, обеспечивающих синтез холина, адреналина, креатина и др. биологически важных соединений, обезвреживание токсичных продуктов, образование фосфолипидов. Тормозит отложение в печени нейтрального жира, оказывает липотропный эффект (удаление из печени избытка жира). Модулирует эффект гормонов и витаминов (B_{12}, аскорбиновой и фолиевой кислот).

Токоферола ацетат участвует в биосинтезе гема и белков, пролиферации клеток, тканевом дыхании и других процессах клеточного метаболизма печени.

Сироп шиповника способствует повышению неспецифической резистентности организма, усилению регенерации тканей, уменьшению проницаемости сосудов, принимает участие в углеводном и минеральном обмене, обладает желчегонными свойствами. Фармакологическое действие обусловлено наличием аскорбиновой кислоты и других веществ (каротиноидов, флавоноидов, органических кислот), входящих в его состав.

Согласно проведенным исследованиям, данный смешанный комплекс по степени токсичности относится к V классу опасности, практически нетоксичные вещества (ГОСТ 12.1.007-76). Не обладает кумулятивным, эмбриотоксическим, тератогенным и мутагенным действиями.

- Показания
- Назначают крупному рогатому скоту для лечения заболеваний печени различной этиологии, сопровождающихся дегидратацией и интоксикационной нагрузкой на организм животного.
- Порядок применения: внутрь, в дозе 100 мл 1 раз в день в течение 5-7 дней.
- Побочные действия: при повышенной индивидуальной чувствительности к компонентам препарата у животных могут наблюдаться аллергические реакции.
- Противопоказания: повышенная индивидуальная чувствительность к компонентам препарата.
- Меры личной профилактики. Хранение.
- При работе с Гепатоном следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами. Запрещается использование флаконов из-под лекарственного средства для бытовых целей; они подлежат утилизации с

бытовыми отходами.

- Гепатон хранят в закрытой упаковке в сухом, защищённом от прямых солнечных лучей месте, вдали от огня и нагревательных приборов, при температуре не выше +15°.
- Срок годности лекарственного препарата составляет 3 года. Применение препарата после истечения срока годности запрещено.

Акты внедрения в учебный процесс

УТВЕРЖДАЮ
Врио проректора
по учебно-воспитательной работе
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет
ветеринарной медицины»,
доктор ветеринарных наук,
доцент М.В. Цыпакин

30 марта 2021 г.

СПРАВКА
о внедрении в учебный процесс результатов
диссертационной работы Понамарёва В.С.

Результаты диссертационной работы Понамарёва В.С. на тему «Фармако-токсикологическая оценка гепатопротектора на основе расторопши» актуальны и используются в учебном процессе курса ветеринарной фармакологии, токсикологии, клинической фармакологии и фармакогнозии при изучении разделов программ – гепатопротекторные и желчегонные средства, фармакокоррекция патологий пищеварительной системы, лекарственные растения, действующие на ЖКТ на лекциях и лабораторно-практических занятиях со студентами факультета ветеринарной медицины очной, заочной и вечерних формах обучения ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Заведующий кафедрой фармакологии
и токсикологии ФГБОУ ВО
«Санкт-Петербургский государственный
университет ветеринарной медицины»,
доцент, кандидат ветеринарных наук А.М. Лунегов

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебно-методической работе
ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА
кандидат педагогических наук

_____ А.В. Шарина

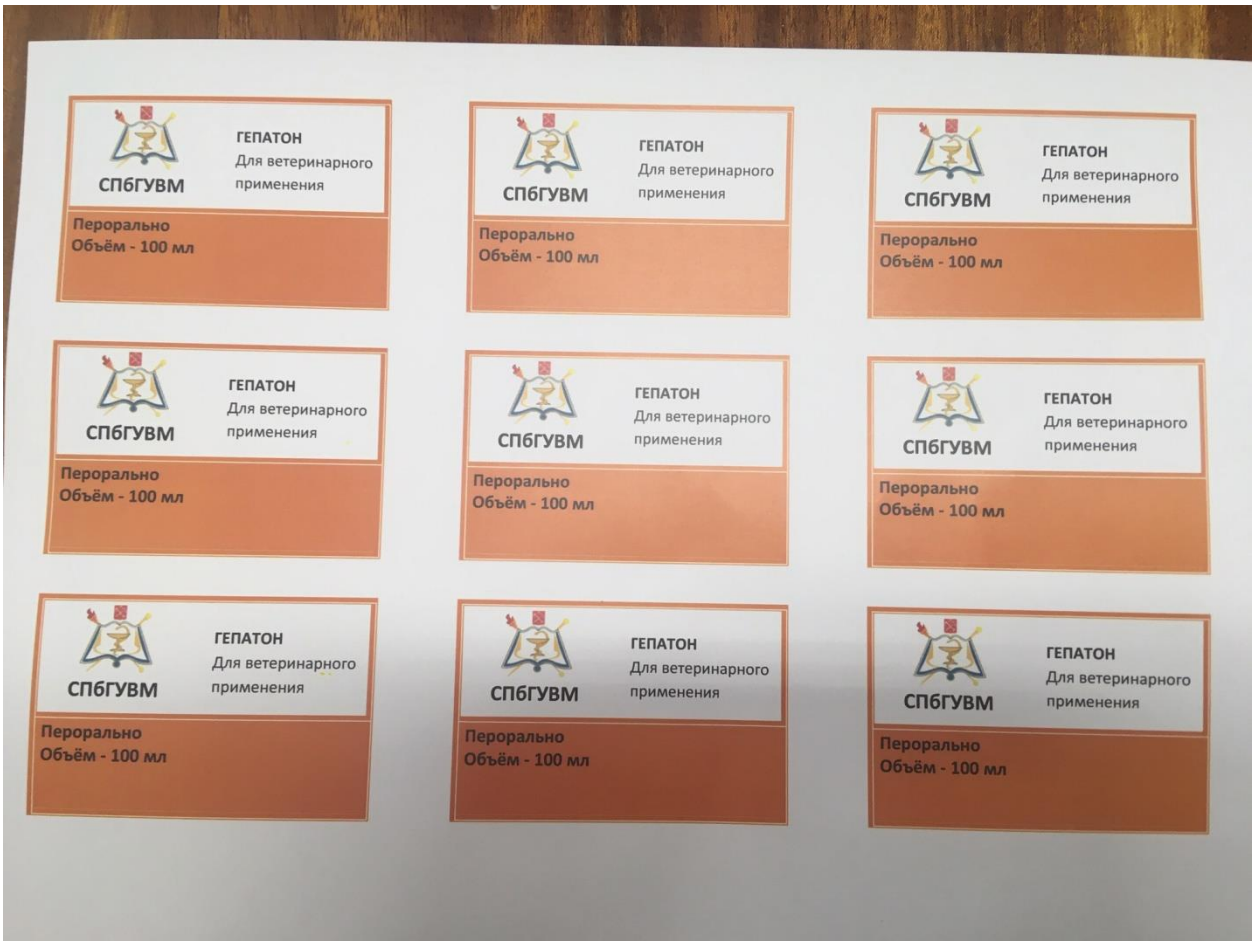
20 апреля 2021 г.

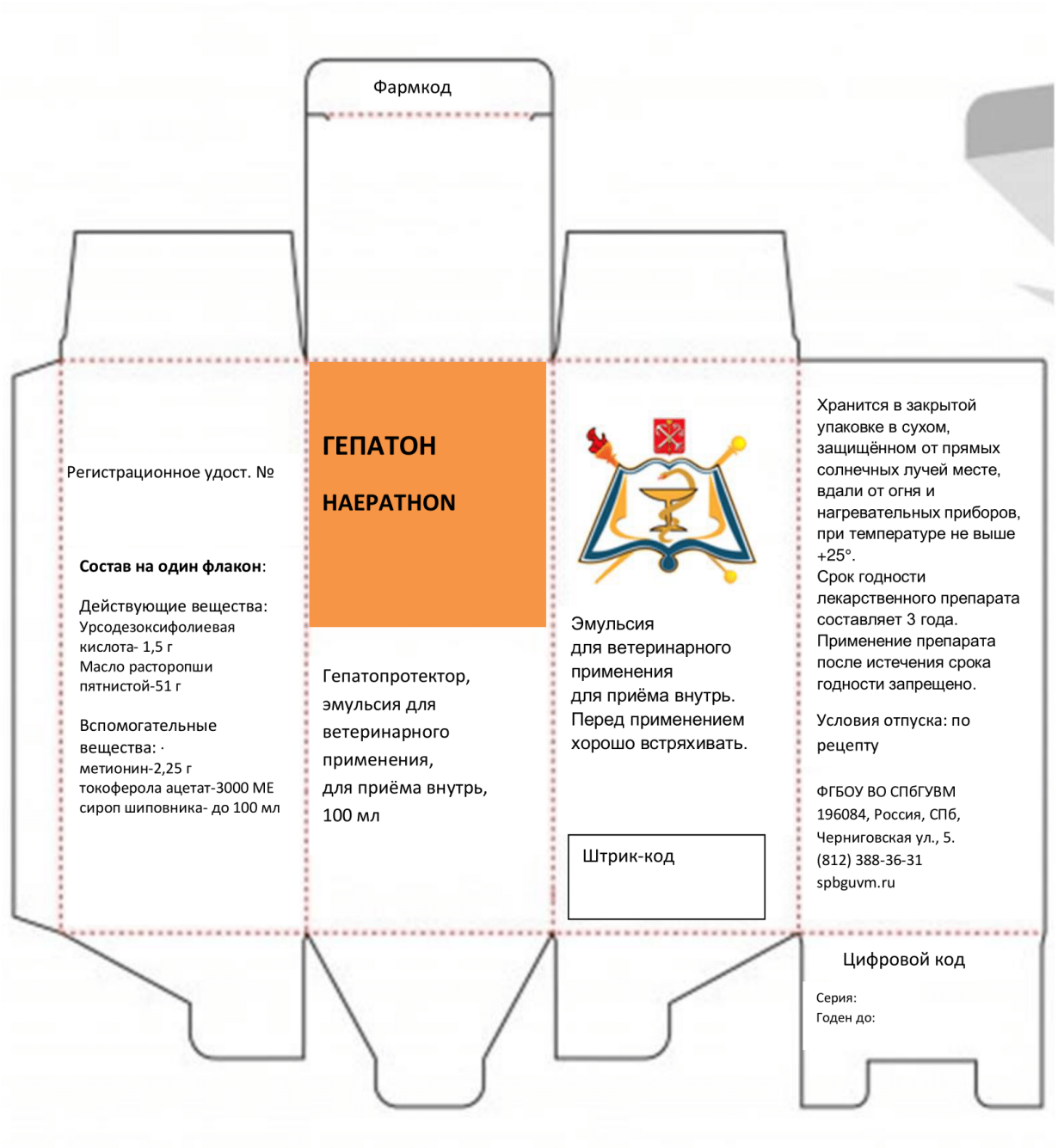
СПРАВКА
о внедрении в учебный процесс результатов
диссертационной работы Понамарёва В.С.

Результаты диссертационной работы Понамарёва В.С. на тему «Фармако-токсикологическая оценка гепатопротектора на основе расторопши» актуальны и используются в учебном процессе курса «Ветеринарная фармакология. Токсикология» при изучении раздела программы – гепатопротекторные и желчегонные средства на лекциях и лабораторно-практических занятиях со студентами ветеринарного факультета очной и заочной форм обучения ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА.

Доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры
«Анатомия, хирургия и внутренние
незаразные болезни»
ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА В.И. Великанов

Препарат «Гепатон-вет», макеты первичной и вторичной упаковок


СПбГУВМ
ГЕПАТОН
Для ветеринарного применения
Перорально
Объём - 100 мл


Фармкод
Регистрационное удост. №
Состав на один флакон:
Действующие вещества:
Урсодезоксифолиевая кислота- 1,5 г
Масло расторопши пятнистой-51 г
Вспомогательные вещества: ·
метионин-2,25 г
токоферола ацетат-3000 МЕ
сироп шиповника- до 100 мл
ГЕПАТОН
НАЕРАТНОN
Гепатопротектор, эмульсия для ветеринарного применения, для приёма внутрь, 100 мл
Эмульсия для ветеринарного применения для приёма внутрь. Перед применением хорошо встряхивать.
Штрик-код
Хранится в закрытой упаковке в сухом, защищённом от прямых солнечных лучей месте, вдали от огня и нагревательных приборов, при температуре не выше +25°.
Срок годности лекарственного препарата составляет 3 года.
Применение препарата после истечения срока годности запрещено.
Условия отпуска: по рецепту
ФГБОУ ВО СПбГУВМ
196084, Россия, СПб, Черниговская ул., 5.
(812) 388-36-31
spbguvm.ru
Цифровой код
Серия:
Годен до: