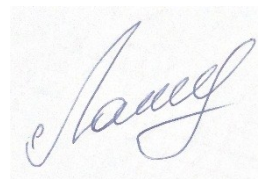


**КРАСНОДАРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ–
обособленное структурное подразделение
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«КРАСНОДАРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПО ЗООТЕХНИИ И ВЕТЕРИНАРИИ»**

На правах рукописи



ЛАНЕЦ ОЛЬГА ВАДИМОВНА

**РАЗРАБОТКА, ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ФИТОГЛИНОЛ В
МОЛОЧНОМ СКОТОВОДСТВЕ**

06.02.03. – ветеринарная фармакология с токсикологией

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук, доцент

Семененко Марина Петровна

Краснодар 2021

СОДЕРЖАНИЕ

1	ВВЕДЕНИЕ	4
2	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
	2.1 Общий адаптационный синдром. Фазы шока.....	11
	2.1.2. Факторы стресса, их влияние на организм животных.....	14
	2.2 Свободно-радикальное окисление и антиоксидантная система организма.....	22
	2.2.1 Окислительный стресс и активные формы кислорода.....	22
	2.2.2 Антиоксидантная система организма, роль, компоненты.	28
	2.3 Антиоксиданты и препараты для коррекции стресса в ветери- нарии.....	36
3	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	40
4	СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	47
	4.1 Фармацевтическая разработка препарата, обладающего стресс- протекторным действием на организм животных.....	47
	4.1.1 Выбор и обоснование качественного компонентного состава инъекционного лекарственного средства.....	47
	4.1.2 Разработка состава препарата.....	59
	4.1.3 Изучение микробиологической безопасности фитогли- нола.....	61
	4.1.4 Изучение стабильности фитоглинола.....	63
	4.2 Токсикологическая оценка препарата.....	66
	4.2.1 Острая токсичность.....	67
	4.2.2 Субхроническая токсичность.....	70
	4.2.3 Влияние препарата на патоморфологию внутренних органов лабораторных животных при длительном вве- дении.....	79
	4.2.4 Влияние на пищеварение и мочеотделение.....	83
	4.2.5 Раздражающее и аллергизирующее действие препарата.....	87
	4.2.6 Эмбриотоксическое и тератогенное действие.....	90

4.2.7	Ветеринарно-санитарная оценка качества продуктов убоя после применения фитоглинола.....	94
4.3	Специфическая активность фитоглинола.....	97
4.3.1	Влияние фитоглинола на поведенческую активность крыс (анксиолитическое действие)	97
4.3.2	Влияние препарата на организм крыс в условиях острого стресса.....	101
4.3.3	Стресс-протективная и антиоксидантная активность фитоглинола при тепловом стрессе у крыс.....	108
4.4.	Оценка клинической эффективности препарата фитоглинол.....	125
4.4.1.	Эффективность фитоглинола при профилактике оксидативного стресса у стельных коров в период сухостоя.....	125
4.4.2	Эффективность фитоглинола для коррекции послеродового стресса у новотельных коров.....	134
5	ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ФИТОГЛИНОЛА КОРОВАМ В РАННИЙ ПОСЛЕОТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД..	139
6	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	142
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	150
	ПРИЛОЖЕНИЯ	179

1 ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Молочное скотоводство, являясь одной из основных отраслей современного животноводства, выполняет важную стратегическую роль в обеспечении продовольственной безопасности нашей страны, служа индикатором стабильности и перспективности ее сельскохозяйственного производства. При этом, для получения максимальной выгоды и продуктивности дойного стада, в молочном скотоводстве используются новые промышленные технологии, повышающие эффективность функционирования производства молока на основе модернизации, механизации и автоматизации молочных комплексов и ферм. Однако применение любых промышленных технологий на сельскохозяйственных предприятиях сопровождается постоянным влиянием на организм коров стрессовых факторов различной силы и длительности, что вызывает у животных глубокие, а зачастую, даже необратимые, нарушения метаболических процессов, приводящих к развитию ряда патологий (Сидорова В.Ю., 2014; Иванова М., 2009; Никитченко С.Л., Смыков С.В., 2014; Огородников П.И., Коваленко Г.Л., Спешилова И.В., 2018).

К развитию стрессовой дезадаптации приводят нарушения условий содержания животных, плотность размещения, микроклимат помещений, перегруппировки, транспортировка, гиподинамия, высококонцентрированный тип кормления, биологическая неполноценность рационов, лечебные и профилактические мероприятия. При этом стрессогенные факторы оказывают существенное влияние на проявление как продуктивных, так и физиологических возможностей организма (Фурдуй Ф.И., 1978; Чеченихина О.С., 2016, 2019; Dantzer R., 2001).

Стресс, являясь, по сути, адаптивным ответом животного на неблагоприятные изменения окружающей среды, способствует мобилизации энергетических запасов в организме, одновременно вызывая напряжение всех фи-

физиологических процессов для поддержания общего гомеостаза, позволяя корове быстро реагировать на отклонения от «комфортных условий» жизни (Лысенко В.И., 2020). Однако очень часто у животных возникает срыв адаптационных механизмов, сопровождающийся активацией процессов свободнорадикального окисления липидов на фоне депрессивных изменений в антиоксидантной системе организма (Куликов В.Ю., Семенюк А.В., Колесникова Л.И., 1988; Рецкий М.И., 1997). Это приводит к накоплению в организме токсических продуктов перекисного окисления липидов и к деструктивным изменениям клеточных мембранных образований, что усугубляет отрицательные последствия стресса (Мухамедьярова, Л.Г., 2013; Карбышев М.С., 2018; Darenskaya M.A. et al., 2020; Vona R. et al., 2019; Шабунин С.В., Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю. и др., 2020).

На фоне выраженного физиологического истощения под воздействием стресса и стресс-факторов на организм продуктивных животных, необходимым является проведение адекватной фармакологической коррекции, направленной на устранение последствий свободно-радикальных реакций окислительного дисбаланса в организме (Востроилова Г.А., Хохлова Н.А., Чаплыгина Ю.А., 2019, 2020; Konopelniuk V.V. et al., 2017; Semenenko M. et al., 2020).

Исходя из этого, разработка лекарственных средств, способствующих снижению отрицательных последствий стресса, имеет большое практическое значение. Препараты, включающие компоненты адаптогенного и антиоксидантного характера, позволят не только предотвратить или нивелировать стрессовое воздействие на животного, но и усилить антиоксидантную защиту организма, нормализовать метаболические процессы, а также повысить резистентность животного к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Степень разработанности темы. Изучением воздействия стрессогенных факторов на животных, патогенетических механизмов их развития, физиологических, биохимических, функциональных и структурных изменений, а также адаптационных возможностей организма к новым ситуациям, зани-

мались такие ученые, как С.В. Волкова, С.Р. Мелешкина (2008); Н.П. Зуев, Р.А. Мерзленко (2009); Г.Н. Близнецова (2010); И.А. Супрун (2012); Р.А. Раппиев, Р.Т. Маннапова (2013); Е.А. Гусакова (2013); Г.А. Востроилова и др. (2015); Д.И. Гильдилов (2020); L.Locher, T. Sattler, T.Wittek (2011); В. Kumar, А. Manuja, Р. Aich (2012); Р.А. Gonzalez-Rivas et al. (2020).

Разработке диагностических подходов и испытанию безопасных терапевтических средств и приемов коррекции стрессов посвящены значимые работы Н.П. Мещерякова, В.С. Бузламы, И.В. Трутаева, С.В. Шабунина (2000, 2008); П.А. Паршина, Г.А. Востроиловой с соавт. (2019); В.А. Оробец, И.В. Киреева с соавт. (2011, 2016, 2020); А.А. Дельцова с соавт. (2018, 2020); Н.И. Ярован с соавт. (2015); J. Lykkesfeldt, О. Svendsen (2006); R.P. Rhoads et al. (2013); Q. Han et al. (2021).

Однако несмотря на значительный опыт изучения влияния негативных факторов внешней среды на организм животных, современных комплексных инъекционных противострессовых препаратов в арсенале ветеринарной фармакологической науки крайне мало, а аспекты применения данных препаратов у крупного рогатого скота изучены недостаточно, что и стало основой для определения цели и задач исследований.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилась разработка препарата, обладающего антиоксидантным и стресс-протекторным действием на организм животных, изучение его фармако-токсикологических свойств и клинической эффективности при стрессе у крупного рогатого скота.

Для достижения **цели** определены к изучению следующие задачи:

1. Провести фармацевтическую разработку препарата фитоглинол;
2. Изучить параметры общетоксического действия препарата на организм животных;
3. Изучить специфическую фармакологическую активность препарата фитоглинол (анксиолитическое, антиоксидантное и стресс-протекторное действие) на модельных системах *in vivo* на лабораторных животных;

4. Изучить клиническую эффективность препарата фитоглинол на коровах сухостойного и раннего послеотельного периода.

Научная новизна работы. В результате комплексных исследований разработан новый инъекционный препарат, обладающий стресс-протекторной и антиоксидантной активностью, определены его физико-химические и фармако-токсикологические характеристики. На экспериментальных моделях установлено выраженное анксиолитическое и стресс-протекторное действие фитоглинола, проявляемое снижением уровня тревоги и стрессового состояния у животных. Выявлено положительное влияние препарата на снижение интенсивности процессов липопероксидации и улучшение метаболического статуса организма. Экспериментально и клинически обоснована перспективность использования фитоглинола в ветеринарной практике в условиях животноводческих комплексов при оксидативном стрессе у коров сухостойного и раннего послеотельного периода.

Полученные данные позволяют дополнить и значительно расширить представления о механизмах антиоксидантного и стресс-протекторного действия препарата фитоглинол на организм животных. По результатам исследований получено положительное решение на выдачу патента РФ на изобретение № 2020132529/04 (059241) «Фармакологическое средство, обладающее антиоксидантными и гепатопротекторными свойствами».

Теоретическая и практическая значимость. По результатам исследований для практической ветеринарии и животноводства предложен новый комплексный инъекционный препарат, обладающий широким спектром фармакологической активности, стресс-протекторным и антиоксидантным действием. Результаты по оценке безопасности и специфического действия препарата фитоглинол на лабораторных и сельскохозяйственных животных позволили экспериментально обосновать его клиническую эффективность при стрессах различного генеза.

По результатам исследований разработана временная инструкция по применению препарата фитоглинол в ветеринарии (в порядке производственных испытаний), рассмотренная и одобренная Ученым советом ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» (протокол №7 от 06.09. 2021 г.).

Методология диссертационной работы. Методология работы спланирована в соответствии со структурой и задачами исследования. Объектом исследования явились лабораторные животные (белые крысы, белые мыши, кролики, морские свинки) и коровы сухостойного и раннего послеотельного периода, а также препарат фитоглинол.

Предметом исследования служили кровь и сыворотка крови лабораторных и продуктивных животных, изучение анксиолитических, стресс-протекторных, антиоксидантных свойств фитоглинола на модельных системах *in vivo* на лабораторных животных.

В работе использовались утвержденные методики исследования доклинических, клинических свойств и эффективности действия новых лекарственных препаратов, методы научного поиска, анализа, сравнения, обобщения и статистической обработки результатов.

Степень достоверности и апробация работы. Статистическая обработка полученных материалов исследований выполнена с использованием современных цифровых и аналитических систем, что подтверждает достоверность полученных результатов. Для анализа экспериментальных проб использовалось высокотехнологическое лабораторное оборудование, позволяющее получать достоверные данные и минимизировать ошибки.

Апробация и реализация результатов научных исследований. Основные результаты исследований, представляющие собой основу диссертационной работы, доложены, обсуждены и одобрены на: заседаниях Ученого совета Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института и Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии (2019-2021

гг.); VI Международной научно-практической конференции «Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции» (Краснодар, 2020); XIII международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию Донского государственного технического университета в рамках XXIII Агропромышленного форума юга России и выставки «Интерагромаш» (Ростов-на-Дону, 2020); VI Международной научно-практической онлайн-конференции «Наука, образование и инновации для АПК: состояние, проблемы и перспективы» (Майкоп, 2020); IV Международной научно-практической конференции «Научные исследования в современном мире: опыт, проблемы и перспективы развития» (Уфа, 2020); Международных научно-практических конференциях «Научные основы повышения продуктивности и здоровья сельскохозяйственных животных» (Краснодар, 2019-2021); Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии» (Самара, 2021); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и тенденции развития современной аграрной науки и ветеринарии» (Костанай, Республика Казахстан, 2021).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- фармацевтическая разработка стресс-протекторного препарата фитоглинол;
- экспериментальные данные по изучению токсикологических свойств препарата;
- специфическая активность препарата фитоглинол (анксиолитическое, антиоксидантное и стресс-протекторное действие) на модельных системах *in vivo* на лабораторных животных;
- клиническая эффективность фитоглинола при оксидативном стрессе у коров.

Личный вклад соискателя. Основные исследования, приведённые в диссертации, выполнены лично соискателем, на современном методическом

уровне и в достаточном объеме. Доля участия автора в получении результатов исследований составляет 88 %, а в статистической обработке и анализе материалов – 90 %.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ в сборниках Международных конференций и центральных научных журналах, из которых 3 – в научных изданиях, рецензируемых ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, а также 1 статья, входящая в международную библиографическую базу данных «Scopus».

Объем и структура диссертационной работы. Работа выполнена на 179 страницах стандартного компьютерного текста и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, собственные исследования, заключения, выводы и практические предложения, а также список использованной литературы и приложения. Библиографический список включает 251 источник, в том числе – 67 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 36 таблицами и 33 рисунками.

2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Стресс (от англ. stress – нагрузка, напряжение; состояние повышенного напряжения) – совокупность неспецифических адаптационных (нормальных) реакций организма на воздействие различных неблагоприятных факторов, раздражителей-стрессоров, нарушающих его гомеостаз, а также соответствующее состояние нервной системы организма. В медицине и физиологии выделяют две формы стресса – положительную (эустресс) и отрицательную (дистресс) (Данилкина О.П., 2016).

Понятие «стресс» ввел канадский ученый Ганс Селье (1936), под данным термином он рассматривал комплекс приспособительных изменений, главным образом гуморальных и неврогенных, возникающих в организме в результате воздействия стрессоров. Под стрессорами понимаются все экзогенные и эндогенные факторы, создающие повышенное требование к организму. На воздействие стрессоров животный организм отвечает стереотипной формой биохимических, функциональных и структурных изменений, адаптацией к новым ситуациям. Г. Селье установил, что при воздействии экзогенных и эндогенных раздражителей организм отвечает неспецифическими реакциями защиты: учащается пульс, повышается артериальное давление, в крови увеличивается содержание гормонов-кортикостероидов (Сотникова Е.Д., 2009).

2.1 Общий адаптационный синдром. Фазы шока

Общий адаптационный синдром (ОАС) выражается в активации ведущего эндокринного механизма: системы гипоталамус – передняя доля гипофиза – кора надпочечников, неспецифической клеточной защиты организма. Чрезмерные нагрузки, физические и психоэмоциональные, способствуют увеличению частоты стрессорных ситуаций, переводя адаптационные реак-

ции в повреждающие (Корочкина Е.А., 2013; Селье Г., 1960; Никитин В.Я. и соавт., 2000).

Общий адаптационный синдром (ОАС) возникает внезапно, независимо от вида животных и природы стрессора. Условно его подразделяют на три фазы или стадии: тревоги, резистентности и истощения (Кавтарашвили А.Ш., 2010; Гаркави Л.Х., 1990) (рис 1.).



1) Фаза тревоги, или мобилизации, возникает непосредственно после стрессогенной ситуации, являясь аварийной она носит мобилизующий характер, по продолжительности длится от нескольких часов до 2 суток, протекает в 2 фазы:

– *фаза шока*, проявляется усиленным расходом энергии из запасов организма, главным образом глюкозы и гликогена в печени, в обмене веществ превалирует распад над синтезом. Происходит уменьшение массы тела и замедляется рост животного. На уровне органных изменений происходит спад мышечного и сосудистого тонуса, повышается проницаемость сосудистых и клеточных мембран, вследствие этого в оболочках желудочно-кишечного тракта появляются кровоизлияния и изъязвления. Возникает гипохлоремия, ацидоз, гиперкальциемия, эозинопения гипергликемия. Из коры надпочечников высвобождаются катехоламины (адреналин и норадреналин), в крови наблюдается уменьшение содержания липидов и холестерина. Так же в этот

период активизируется система гипофиз-кора надпочечников, что сопровождается образованием АКТГ и кортикоидов (Данилкина О.П., 2016; Сидорова В.Ю., 2014).

– *фаза противошока*, переходит в стадию резистентности, если не действуют дополнительные, «разрешающие» стресс-факторы. При допускающихся неблагоприятных воздействиях в ходе эксплуатации животных, таких как вакцинация, перегруппировка, ранний отъем, смена корма, животным необходимо предоставлять покой, улучшить условия содержания и кормления в течении 5-8 дней (Сидорова В.Ю., 2014).

2) Фаза резистентности (сопротивления), данная стадия длится от одной до нескольких недель, в этот период происходит сбалансированное расходование адаптационных резервов на фоне адекватного ко внешним условиям напряжения функциональных систем. Характеризуется нормализацией нервной и гуморальной реакции, в обмене веществ синтез превалирует над распадом, структурные биохимические и физиологические особенности организма нормализуются, в крови выравнивается уровень глюкозы, гормонов гипофиза гипоталамуса, коры надпочечников. В этот период животные могут нормально расти и развиваться (Бильданова В.Р., 2015; Данилкина О.П., 2016).

3) Фаза истощения, наступает при нарушении защитно-приспособительных механизмов, нарушении согласованности жизненных функций. В обмене веществ интенсифицируются процессы распада. В эту стадию нарастают симптомы угнетения животного, снижения продуктивности, кахексии, функциональные нарушения внутренних органов в связи с ослаблением сердечно-сосудистой деятельности, атрофии сердечной мышцы, расстройства желудочно-кишечного тракта, функций печени, поражения ЦНС, развитие неврозов. Возникшее ареактивное состояние, истощение жизненных сил приводит к гибели животного (Бильданова В.Р., 2015; Данилкина О.П., 2016).

Вследствие стресса происходит мобилизация всех ресурсов организма. Симпатоадреналовая активация приводит к повышению артериального давления, тахикардии, увеличению объема сердечного выброса, метаболизма с повышением уровня глюкозы и свободных жирных кислот в крови и как следствие, мобилизации их из печени и жировых депо. Индуцированная центральная нервная система активизирует системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники, приводя к значительному выбросу в кровь адренокортикотропного гормона (АКТГ), глюкокортикоидов (кортизол), подавляя продукцию половых гормонов и гормона роста. Возникает смешанная активация симпатической и парасимпатической нервной систем, приводя к вагусной активации пищеварительного тракта, повышению желудочной секреции, приводящее к поражениям ЖКТ. При длительном течении процесса происходит угнетение иммунной системы, снижение общей резистентности организма к инфекциям (Меерсон Ф.З., 1981; Шенкер Д., 1993).

Роль центральной нервной системы и гипоталамуса в развитии стресса известна из научных работ. Гипоталамус участвует в регуляции функций сердечно-сосудистой, пищеварительной, выделительной и эндокринной систем. Регуляция жизнеобеспечивающих функций организма осуществляется через вегетативную нервную систему и гипофиз. Современные научные методы позволяют более глубоко изучать стресс как адаптивную реакцию тела. При стрессе возникают выраженные нарушения жизнедеятельности. И это состояние организма становится хроническим, приводя к развитию иммунодефицитного состояния организма (Bueno A., 1998).

2.1.2 Факторы стресса, их влияние на организм животных

Факторы окружающей среды, которые могут проявляться в качестве стрессоров, разнообразны по своей природе и силе воздействия на организм. При интенсивном животноводстве в условиях concentra-

ции, специализации и промышленной технологии наиболее распространены технологические, тепловые, кормовые стрессы, стрессы при отъеме, а также послеродовые стрессы у коров (Волкова С.В., Мелешкина С.Р., 2008; Бусловская Л.К., 2004; Волчков А.И., 2000; Юрьев Е.А. с соавт., 2007).

Тепловой стресс является важным фактором, отрицательно влияющим на продуктивность молочного скота, особенно в жарком климате или летом в самых разных уголках мира. Тепловой стресс можно определить, как точку, в которой животное не может рассеять достаточное количество тепла для поддержания теплового баланса тела. Климатические факторы, которые могут влиять на степень тепла, включают в себя: температуру, влажность, радиацию и ветер (Samal L., 2013).

Одышка или учащенное дыхание является одним из первых признаков теплового стресса. Во время периода учащенного дыхания выделяется большой объем углекислого газа и это приводит к нарушению кислотно-щелочного баланса. Особенно в период отелов у коров возникает много факторов риска для возникновения гипокальциемии и молочной лихорадки. При гипоксии происходит уменьшение кровотока внутренних органов, что приводит к более низкой активности органов пищеварительного тракта, замедленному движению частиц корма, затем к наполнению рубца и, наконец, к снижению аппетита у коров (Rejman A., 2012).

Воздействие теплового стресса на организм животного, особенно длительный период, может ухудшить состояние его здоровья, привести к снижению общей резистентности, а также репродуктивных качеств. Считается, что основная причина экономических потерь в животноводстве в условиях повышенных температур – снижение адаптивных способностей организма в поддержании температурного баланса тела и толерантности к тепловому стрессу, чему способствует селекция животных на высокую продуктивность. У высокоудойных молочных коров при воздействии тепловых факторов снижаются удои, увеличивается процент бесплодия. Есть данные, что тепло-

вое напряжение может привести к снижению содержания общего белка, казеина, лактальбумина, жира и лактозы в молозиве, а также увеличению pH (Буряков Н.П., 2016; Chernenko O.M., 2017).

Температурный стресс изучался в акушерско-гинекологической патологии у самок животных, в результате чего в жаркие месяцы года было обнаружено значительно меньшее количество эмбрионов. Влияние температурного стресса также было подтверждено сравнением развития теплонапряженных и нетеплонапряженных яйцеклеток у крупного рогатого скота. Однако с точки зрения выработки прогестерона у коров с тепловым стрессом, результаты многих исследований часто противоречивы (Bezdiček J., 2019).

Повышение температуры тела влияет на репродуктивную функцию животных и раннее развитие эмбрионов. Одним из возможных механизмов является прямое воздействие повышенной температуры на эмбрион (Hansen R.J., 2009). Другим механизмом является воздействие теплового стресса на кишечный тракт, вызывающий потерю барьерной функции кишечника и высвобождение эндотоксина в кровотока, что также может повлиять на продуктивность животных и исход беременности. В ответ на высокие температуры окружающей среды происходит ответная реакция гипоталамуса, который оказывает влияние на аппетит коровы, что, в свою очередь, приводит к гормональному сдвигу и метаболической переориентации организма в сторону катаболического состояния (Collier R.J., 2017; Baumgard L.H., 2013; Бокзонади А., 2021).

Тепловой стресс распространен как у мясного, так и у молочного скота, но повышенная температура тела, связанная с тепловым стрессом, возникает чаще у молочных коров (Collier R.J., 2017; Pearce S. et al., 2014; Ламонов С.А., Погодаев С.Ф., 2004). Лактирующие коровы особенно чувствительны к тепловому стрессу, поскольку с высокой выработкой молока связана метаболическая выработка тепла. Таким образом, существует аддитивное негативное влияние теплового стресса и увеличения производства молока на исход

беременности у молочных коров. Воздействие стресса на лактирующих коров частично объясняется снижением потребления корма, но есть аспекты метаболической реакции, которые совершенно уникальны для теплового стресса (Baumgard L.H., 2013; Маилян Э., 2007).

Животные, содержащиеся в диапазоне температур окружающей среды, известном как термонейтральная зона, не нуждаются в дополнительных затратах энергии для поддержания температуры своего тела. Температура ниже границ этого диапазона становится критической, приводя к стрессу, вызванному гипотермией у коров. В холодное время года организм коровы вынужден ускорить скорость своего метаболизма, чтобы обеспечить больше тепла. Однако это увеличивает потребности в питании, особенно в энергии (Ткаченко Т.Е., 2003).

Воздействие низких температур приводит к переохлаждению крупного рогатого скота. Слабая гипотермия возникает при температуре тела 30-32 °С, умеренная – при температуре 22-29 °С и тяжелая – ниже 20 °С.

При падении ректальной температуры ниже 28 °С, без помощи согревающих жидкостей, коровы не могут вернуться к нормальной температуре. По мере прогрессирования гипотермии метаболические и физиологические процессы замедляются, происходит отток крови от конечностей для защиты жизненно важных органов, наступает обморожение. Обморожению у коров чаще всего подвержены соски и уши. При нарастании тахикардии и учащении дыхания животные теряют сознание и умирают (Татт В., 2015).

Психологический стресс. На фермах может встречаться и так называемый «психологический стресс». Распространенные формы «психологического» стресса включают социальные взаимодействия с другими сельскохозяйственными животными и людьми. Крупный рогатый скот – это социальные животные, которые живут в группах с иерархией доминирования. Смешивание групп крупного рогатого скота создает стресс. При активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси происходит снижение продуктивно-

сти и потребление корма. Коровы тратят время и энергию на восстановление структуры доминирования в группе и вытесняют друг друга на кормовой площадке (Huzzey J.M., 2006). Перегруппировки влияют на кормовое поведение коров. В дополнение к другим животным, крупный рогатый скот может испытывать стресс от взаимодействия с людьми в зависимости от того, как с ними обращаются (Lima M., 2018; Dobson H., 2000).

Кормовой стресс. Питание, как основной источник энергии и питательных веществ, оказывает непосредственное влияние на все функции организма. Длительное голодание, периодическое недокармливание или перекармливание, нарушение режима и кратности кормления, испорченные, загрязненные или мерзлые корма, внезапное изменение состава рациона, несбалансированность, резкое изменение калорийности, формы и состояния корма, поение холодной водой – основные причины кормового стресса. При белковом голодании происходит прекращение сперматогенеза, паренхиматозная дегенерация эпителия извитых канальцев почек, атрофия волосяных луковиц и торможение процессов ороговения эпителия. Нарушается синтез белков плазмы, угнетается эритропоэз, фагоцитоз, прекращается образование антител. Углеводное голодание сопровождается повышенным распадом жирных кислот в печени с избыточным образованием ацетоуксусной кислоты, что приводит к кетозу (Курдеко А.П., 2017; Кантемиров С.О., 2008).

Недоедание, недостаточное кормление может возникнуть из-за краткосрочной или долгосрочной нехватки кормов. Коровы, которых недостаточно кормят, испытывают стресс и подвергаются метаболической адаптации к стрессу (Маколкин В.И., 2010; Шендеров Б.А., 2004). Есть сходства в отношении гормональных и метаболических изменений, которые происходят у коров с высокими удоями и недоеданием, но есть и различия. Одним из важных биологических различий является то, что коровы, которых недостаточно кормят, мобилизуют питательные вещества из тканей для выживания. Другие пищевые стрессы, которые включают переизбыток белка или недостаточное

питание минералами, могут так же повлиять на организм животных (D'Occhio M.J., 2019; Wilde D., 2006).

Стресс в период стельности и отела. Отел – это самая тяжелая форма стресса для организма коровы (Chernenko O.M., 2017). Нормальный физиологический процесс, такой как беременность у коров, несет в себе стрессогенный характер, вызывая изменения в системе антиоксидантной защиты организма. Переходный период между поздней беременностью и ранней лактацией связан с изменениями липидного и белкового обмена. Снижение энергии в первые недели после родов приводит к увеличению мобилизации жира, что связано с образованием перекисей липидов и активных форм кислорода (АФК). Эти АФК обычно нейтрализуются достаточным уровнем антиоксидантов в организме. Дисбаланс между продукцией АФК и защитной способностью биологических систем поглощать эти реактивные промежуточные продукты вызывает окислительный стресс. Этот важный медиатор повреждения клеточных макромолекул должен постоянно устраняться и контролироваться антиоксидантными механизмами, чтобы предотвратить различные заболевания, возникающие вскоре после отела. Мастит, метрит и задержание последа – три распространенных заболевания, связанных с ослабленной иммунной системой (Konvičná J., 2015; Преображенский О.Н., Преображенский С.Н., 2006). Во время стельности внешние стрессовые раздражители так же могут повлиять на продуктивность и исход беременности у коров.

Существуют патогены, влияющие на послеродовую репродуктивную функцию животных, которые не могут эффективно контролироваться вакцинацией (Gilbert RO., 2019). Таким образом, у послеродовых коров часто встречается стресс от инфекционных заболеваний. Распространенные заболевания, которые поражают коров после отела, включают метаболические заболевания (кетоз и жировая печень), расстройства периферической крови (дистоция и задержка последа), заболевания матки (метрит и эндометрит) и мастит. Слабость родовой деятельности, патологические роды служат пред-

располагающими факторами к задержке последа и инфекции матки (метрит). Снижение потребления корма может привести к метаболическим и гормональным изменениям и связанной с ними потере веса (деформации), что может повлиять на исход беременности. (Sordillo L.M., 2018; Esposito G., 2014; Bueno A., 1998; Lambert G.P., 2009).

Стресс может привести к значительным последствиям: лактационным колебаниям, которые могут поставить под угрозу противомикробную эффективность естественной защиты вымени и повышения риска развития нефизиологических заболеваний: регрессию молочной железы, а также причины субклинического и клинического характера маститогенных инфекций вымени. Также сообщается о снижении секреции лютеинизирующего гормона в случаях хронического стресса (Вальковская Н. В., 2016; Гуськов А.М., 2001).

Стрессовые воздействия различной природы (технологические, температурные, ранговые, травмы, ожоги и др.) следует рассматривать как условия, приводящие к снижению уровня иммунного статуса организма и повышающие восприимчивость животных к патогенной и потенциально патогенной микрофлоре, постоянно сохраняющейся в их организме и окружающей среде. Эта закономерность проявляется в разной степени в хозяйствах различных форм собственности, как стрессовые факторы, снижающие уровень иммунного статуса организма. Изменение активности иммунной системы при стрессе зависит от 3 основных факторов: силы стрессорного действия, т. е. интенсивности стрессовой реакции и ее продолжительности; времени действия стрессора относительно фазы иммунного ответа; устойчивости организма или его иммунной системы к стрессовому повреждению. У здоровых животных умеренная реакция на стресс может стимулировать активность иммунной системы, усиливать неспецифическую противомикробную защиту или вызывать незначительное и быстро проходящее состояние пониженной иммунореактивности. Длительная стрессовая реакция связана с по-

давлением иммунного ответа, вплоть до развития иммунодефицитного состояния (Vueno A., 1998; Патюков А. Г., 2012; Степанова И.П., 2005).

Функционирование при стрессе гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, которая обеспечивает развитие стресс-реакции, значительно угнетает функцию репродуктивной системы коров на самых разных уровнях. Секретирующие кортикотропин-рилизинг-гормон нейроны гипоталамуса иннервирует расположенный здесь же, центр регуляции половой системы, подавляя его активность. Глюкокортикоиды, вырабатываемые в коре надпочечников угнетают репродуктивную функцию и проявляют своё действие на уровне гипоталамуса, гипофиза, половых желез, других органов и тканей (Rivest S., 1995; Кубассов Р.В., 2014).

Глюкокортикоиды подавляют стимулирующее влияние эстрадиола на увеличение матки (George P. et al., 1998; Мадянов И.В., Кичигин В.А., Маркова Т.Н., 2011). Изменения функции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, обусловленные стрессом, сохраняются продолжительное время после окончания воздействия стресс-фактора. Повышение функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в ходе стресс-реакции, увеличение концентрации субстратов в связи с катаболическим действием кортизола, вовлечение в процесс больших количеств молекул кислорода активирует процессы ПОЛ (Chen M.D. et al., 1992; Ермакова Н.В., 2015; Зимин Н.Л. с соавт., 2006).

В ходе адаптивной реакции организма на клеточно-молекулярном уровне происходит ряд неспецифических процессов, где под воздействием стрессоров происходит ряд мобилизаций функций органов и тканей, процессы пероксидации, проявляющиеся деструктивным изменением клеточных мембран, затем мобилизация энергетических и структурных запасов организма (Овсянников В.Г., 2011).

Инактивации ферментных систем, дефицит структурных белков и жиров, нарушение морфологического и биохимического состава крови, микро-

циркуляции, происходит вследствие нарушение передачи информации, наблюдаемое в том случае, когда организм для адаптации израсходовал компенсаторные возможности, в совокупности эти явления приводят к повреждению и стойкому нарушению функций органов, в том числе отвечающих за интегративные процессы регуляции: органов центральной нервной системы и эндокринных желез (Козак В.Л., 2007).

Исходя из этого, мы убеждаемся, что любой вид стресса, закономерно сопровождающийся гиперсекрецией гормонов гипоталамо-гипофизарной системы, играет существенную роль в механизме развития полиорганной недостаточности вследствие активации перекисного окисления липидов и системы свертывания крови.

2.2 Свободно-радикальное окисление и антиоксидантная система организма

2.2.1 Окислительный стресс и активные формы кислорода

Реакционная способность позволяет кислороду участвовать в высокоэнергетических переносах электронов и, следовательно, поддерживать образование больших количеств АТФ путем окислительного фосфорилирования. Это необходимо для того, чтобы обеспечить эволюцию сложных многоклеточных организмов, но также делает их способными атаковать любую биологическую молекулу, будь то белок, липид или ДНК (Burton Graham J., 2011).

Молекулярный кислород (O_2) обладает уникальной электронной конфигурацией. Кислород имеет два неспаренных электрона и представляет собой бирадикал. Согласно теории валентных связей, молекула кислорода представляет собой два атома, объединенные двойной связью ($O=O$). Однако высокую реакционную способность молекулы кислорода объясняет теория молекулярных орбиталей, согласно которой кислород имеет тройную связь.

Термин «активные формы кислорода» применяется как к свободным радикалам, так и к их нерадикальным промежуточным соединениям. Свободные радикалы определяются как виды, содержащие один или несколько неспаренных электронов, и именно эта неполная электронная оболочка придает им высокую реакционную способность. Свободные радикалы могут образовываться из многих элементов, но в биологических системах наиболее важными являются те, которые включают кислород и азот.

Доказано, что АФК и другие прооксиданты участвуют в механизмах бактерицидности, в синтезе биологически активных веществ, в обмене коллагена, регуляции проницаемости мембран и др. (Коровина Н.А., 2004).

В физиологических условиях наиболее распространенным свободным радикалом кислорода является супероксидный анион (O_2^-), а митохондрии считаются главным источником (Burton Graham J., 2011).

Образуемые химические соединения относятся к различным группам веществ как нерадикальной, так и радикальной природы, общим характерным свойством которых является высокая реакционная способность, вследствие чего они получили обобщенное название – активные формы кислорода (АФК). В частности, к данным соединениям относят: супероксидный анион – радикал ($O_2^{\cdot-}$), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал ($HO\cdot$), синглетный кислород (1O_2), гипогалоиды ($HOCl$, $HOCl$, $HOBr$, HOI , $HO SCN$), оксид азота ($NO\cdot$) и другие (Карбышев М.С., 2018; Владимиров Ю.А., 2004).

Первым продуктом активации молекулы кислорода является супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), существует мнение что именно он является родоначальником всех активных форм кислорода. Данный анион-радикал обладает окислительно-восстановительными свойствами, обнаружен во всех клеточных структурах, участвует во многих биохимических реакциях в клетке. Супероксид-анион способен свободно мигрировать от места своего образования через мембраны по анионным каналам без специфических переносчиков (Зиятдинова Г.Я., 2005; Абрамченко В.В., 2002).

Гидроксильный радикал ($\text{HO}\bullet$) отличается наиболее высоким окислительным потенциалом и может вступать в химические реакции с биологическим субстратом в момент своего образования практически на месте (Дурнев А.Д., 1998). Гидроксильный радикал имеет наиболее высокий окислительный потенциал и при взаимодействии с ДНК и белками, ненасыщенными жирными кислотами, может изменять их структуру и вызывать мутагенные эффекты (Кармалиев Р.Х., 2002; Костюк В.А., 2004).

Свободный радикал (СР) – это молекула или её часть, имеющая неспаренный электрон на внешней атомной или молекулярной орбите. Свободные радикалы могут быть нейтральными или заряженными – так называемые ион-радикалы.

Все процессы свободнорадикального окисления (СРО) осуществляются при участии АФК, образующихся в ходе процессов одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода. Обычно данные реакции СРО происходят в активном центре соответствующих ферментов без высвобождения промежуточных продуктов реакции во внешнюю среду (Карбышев М.С., 2018).

Отмечается, что свободнорадикальное окисление необходимо почти всем клеткам организма для обеспечения энергией жизненно важных функций. Активация процессов свободно радикального окисления включает запуск механизма каскадных реакций, которые приводят к истощению собственной антиоксидантной системы, т.е. вызывают развитие состояния окислительного стресса и нарушений обмена веществ. Примерно от 95 до 98 % потребляемого кислорода восстанавливается до воды во время аэробного метаболизма, но оставшаяся часть может быть преобразована в побочные продукты окисления-активные формы кислорода, которые могут повредить ДНК генов и способствовать дегенеративным изменениям (Ganaie A.H., 2013). В естественных условиях в каждой клетке ежедневно образуется около 200 миллиардов свободных радикалов. В стрессовых ситуациях свободные радикалы образуются еще быстрее, тем самым собственная антиоксидантная си-

стема организма не успевает нейтрализовать их избыток в полной степени и истощается (Остапчук П.С., 2019).

Наиболее известными, в настоящее время, цепными свободнорадикальными реакциями окисления субстратов являются реакции перекисного окисления липидов. Процессы ПОЛ играют важную роль в обновлении фосфолипидного слоя мембран клеток, в регуляции проницаемости и транспорта веществ через биомембраны, в синтезе простагландинов, нуклеиновых кислот, метаболизме стероидных гормонов и катехоламинов, в транспорте электронов в цепи дыхательных ферментов и других клеточных механизмах (Голликов А.П., 2003; Учасов Д.С., 2013). Процесс пероксидации – это саморазвивающаяся цепная реакция, которая при определенных условиях периодически необходима, процесс ПОЛ должен протекать в организме постоянно (Владимиров Ю.А., 1998).

Процессы перекисного окисления липидов, лежат в основе реакций фагоцитоза, а в результате ферментативного процесса при данной реакции, создаются условия для синтеза прогестерона, простагландинов и ряда других активных веществ (Абрамченко В.В., 2002; Moncado S., 1983).

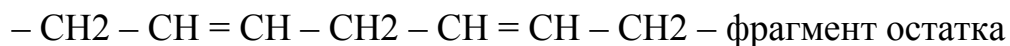
Гидроксильные радикалы способны вызывать перекисное окисление липидов в плазматической мембране или любой органелле, содержащей большое количество боковых цепей полиненасыщенных жирных кислот. Абстрагируя водород из углеводородной боковой цепи жирной кислоты, они создают углерод-центрированный радикал. Если кислород присутствует, он может реагировать с образованием пероксильного радикала ($-C-O-O-$), который, в свою очередь, способен абстрагировать водород из соседней жирной кислоты, таким образом, распространяя реакцию. Доказательства перекисного окисления липидов могут быть обнаружены с помощью антител, направленных против одного из основных продуктов, 4-гидроксинонена. Он может быть эффективно детоксифицирован в клетках с помощью группы ферментов глутатион-S-трансферазы, но высокие уровни связаны с потерей текучести и

функции мембран, а также активацией апоптотического каскада (Burton Graham J., 2011).

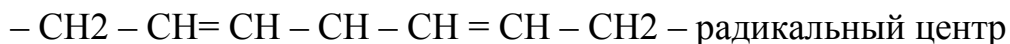
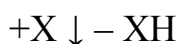
Процесс ПОЛ условно подразделяют на четыре стадии: инициирования цепей окисления, развитие цепных реакций, обрыв цепей, разрушение структуры окисленных липидов. Стадия инициирования свободнорадикального окисления липидов биомембран в качестве основных событий представлена разрушением связи углерод-водород, отрывом атома водорода от жирнокислотной цепи и его присоединением к свободному радикалу-прооксиданту, появлением углерод-центрированного липидного радикала.

1. Стадия инициирования.

Именно жирные кислоты являются наиболее подверженными действию АФК, они содержат изолированные двойные связи, локализованные через СН₂-группы, у которых свободный радикал (X·) (инициатор окисления) легко отнимает электрон, трансформируя липид, содержащий данный фрагмент, в свободный радикал:



ненасыщенной жирной кислоты



Единственный иницирующий свободный радикал способен образовывать в липидной мембране множество молекул гидропероксидов липидов посредством цепной реакции.

2. Стадия развития цепных реакций.

Молекулы с двумя конъюгированными двойными связями называются диеновые конъюгаты. После взаимодействия с молекулярным кислородом образуется липопероксирадикал LOO·, а затем диеновые конъюгаты, после чего пероксид липида LOOH: Образующиеся молекулы диеновых конъюгатов и гидроперексидов являются первичными продуктами ПОЛ. Гидроперексиды липидов достаточно неустойчивые вещества, которые легко подвергаются

дальнейшим превращениям с образованием ряда вторичных продуктов окисления: альдегидов, кетонов, ряда низкомолекулярных кислот. Данные продукты метаболизма являются достаточно токсичными для клетки, приводя их к разрушению мембран и метаболизма в целом (Карбышев М.С., 2018; Суханова Г.А., 2000; Нагорная Н.В., 2010).

3. Разрушение структуры липидов.

Дальнейшее окисление липидов приводит к образованию широкого спектра конечных продуктов ПОЛ: альдегидных и спиртовых производных с укороченной цепью, низкомолекулярных продуктов, эпоксидов, гидропероксида кислоты и малонового диальдегида (МДА). Для оценки интенсивности ПОЛ наиболее часто используют количественное определение малонового диальдегида (МДА). Его повышение является методом раннего выявления метаболических нарушений в организме, даже на доклинической стадии заболевания. (Halliwell В.О., 1992; Нагорная Н.В., 2010, Карбышев М.С., 2018). Его накопление в крови так же объясняет синдром интоксикации, сопровождающий различные патологии внутренних органов и их систем. Являясь прооксидантом, токсичность МДА проявляется тем, что он подавляет активность гликолиза, окислительного фосфорилирования, ингибируя синтез белков и нуклеиновых кислот, мембранносвязанные и цитозольные ферменты (Сокологорский С.В., 2003; Камышников В.С., 2004).

На конечном этапе, из вторичных продуктов ПОЛ, ПНЖК, диальдегидов, образуются Шиффовы основания – конъюгированные соединения, которые можно расценивать как конечные продукты перекисного окисления липидов (Нагорная Н.В., 2010; Тугушева Ф.А., 2001; Хуцишвили М. Б., 2002). Шиффовы основания являются сборной группой веществ, которые в зависимости от их химически свойств можно разделить на три подгруппы: нерастворимые, к ним относится липофусцин, жирорастворимые и водорастворимые (Fletcher В.Л., 1973).

4. Стадия обрыва цепи.

Развитие цепи может быть остановлено посредством взаимодействия свободных радикалов между собой, или в ходе взаимодействия с различными молекулами-антиоксидантами, например, витамином E, являющимся донором электронов, переходящим при этом в стабильную окисленную форму.

Окислительный стресс возникает в результате увеличения выработки свободных радикалов и активных форм кислорода, а также снижения антиоксидантной защиты (Карбышев М.С., 2018).

В малых концентрациях продукты перекисного окисления липидов оказывают физиологическое действие, необходимы для регуляции проницаемости клеточных мембран, стабильности липопротеиновых комплексов. С процессами перекисного окисления липидов связаны скорость клеточного деления и состояние окислительного фосфорилирования, так же важной функцией ПОЛ является обновление фосфолипидного состава мембран, индукция биоэнергетических процессов, активация ряда ферментов. Процессы ПОЛ лежат в основе реакций фагоцитоза и пиноцитоза, регулируют проницаемость мембран лизосом (Абрамченко В.В., 2002).

2.2.2 Антиоксидантная система организма, роль, компоненты

Антиоксидантная система (АОС) – это многокомпонентная система, роль которой заключается в поддержании окислительно-восстановительного равновесия и устранении продуктов свободно-радикального окисления (Петрушина М.В., 2012; Габитов Д. М., 2006).

Антиоксиданты нейтрализуют избыток свободных радикалов. Антиоксиданты вырабатываются в организме (эндогенные) или приобретаются с пищей (экзогенные). Во многих исследованиях сообщалось о снижении содержания эндогенных антиоксидантов при многих заболеваниях. Поэтому потребление экзогенных антиоксидантов в рационе становится жизненно важным для улучшения опасного эффекта снижения антиоксидантов и уве-

личения свободных радикалов при заболеваниях (Sinbad O., 2019). В широком смысле, антиоксиданты определяют, как молекулы, защищающие биологические мишени от окислительного разрушения (Хавинсон В.Х., 2003).

Антиоксидантную систему организма от токсических метаболитов кислорода и продуктов ПОЛ можно условно разделить на физиологическую — механизмы, осуществляющие регуляцию доставки и поступления кислорода к клеткам, и биохимическую – собственно антиоксидантная система (АОС) организма, включающая широкий класс химических соединений, снижающих активность радикальных окислительных процессов.

Физиологический компонент обеспечивает защиту организма и равновесие между интенсивностью транспорта кислорода к клеткам и метаболическими процессами по его выгодной и безопасной утилизации.

Биохимическую АОС организма условно можно разделить на специфическую и неспецифическую. Специфическая АОС направлена на разрушение АФК и продуктов их дальнейших превращений. Действие неспецифической АОС связано с предотвращением условий и возможностей утечки электронов и генерации АФК в ходе окислительно-восстановительных реакций (Чанчаева Е.А., 2013; Абрамова Ж.И., 1995).

Действия антиоксидантов можно разделить по механизмам действия или выполнения ими антирадикальной функции.

Среди АО возможно выделение первичных АО, например, супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП), препятствующих образованию новых радикалов кислорода (Владимиров А.Ю., 2000). Глутатионпероксидаза вместе с глутатион-Странсферазой участвует в детоксикации гидропероксидов жирных кислот. Активность глутатионпероксидазы зависит от присутствия, восстановленного глутатиона в качестве донора водорода. Глутатион является основным клеточным тиоловым окислительно-восстановительным буфером в клетках и синтезируется в цитозоле из L-глутамата, L-цистеина и глицина (Чанчаева Е.А., 2013; Burton Graham J., 2011). Глутатион так же явля-

ется наиболее распространенным типом трипептида в клетках птиц и млекопитающих, считается активным антиоксидантом в биологических системах, обеспечивающих восстановительную среду для клеток (Bains J.S., 1997; Thompson K.H., 1992).

Вторичные антиоксиданты «тушители» – scavenger, захватывающих уже образовавшиеся радикалы, предотвращают накопление их избытка. Известно, что система ингибирования избыточного аутоокисления состоит из неферментативного и ферментативного звеньев (Владимиров А.Ю., 2000; Чанчаева Е.А., 2013).

Так среди антиоксидантной защиты помимо первичных антиоксидантов выделяют звенья:

1. Гидрофильные скавенджеры радикалов – восстановленный глутатион (GSH), аскорбат, урат, тиолы (цистеин, эрготионеин).

2. Липофильные перехватчики радикалов – токоферолы, флавоноиды, каротиноиды, убихиноны, билирубин.

3. Ферменты, осуществляющие восстановление окисленных низкомолекулярных биоантиоксидантов (глутатионредуктаза) или участвующие в поддержании в функционально активном состоянии белковых тиолов (тиоредоксинредуктаза).

4. Ферменты, участвующие в поддержании внутриклеточного стационарного уровня восстановительных эквивалентов (глюкозо-6- фосфатдегидрогеназа, катализирующая образование NADPH в пентозофосфатном пути окисления глюкозы).

5. Антиоксидантные белки (церулоплазмин, альбумин, ферритин, трансферрин, лактоферрин и др.), участвующие в хранении, транспорте или обезвреживании ионов металлов переменной валентности. Типы антиоксидантов по локализации в организме представлены в таблице 1 (Карбышев М.С., 2018).

Таблица 1 – Типы антиоксидантов и их локализация

№	Вид антиоксиданта	Локализация в организме	Механизм действия
1	Супероксидмутаза	Митохондрии и цитоплазма клеток	Дисмутация анионов супероксида
2	Каталаза	Клетки, пероксисомы	
3	Глутотатионпероксидаза	Клетки	Разрушение H_2O_2 , гидроперекисей, пероксинитритов
4	Глутатион-S-трансфераза	–	–
5	Другие пероксидазы	Клеточные мембраны, митохондрии, цитозоль	Разрушение H_2O_2
6	Церулоплазмин	Плазма крови	Связывание Cu и Fe, инактивация супероксида
7	Трансферрин	Плазма крови	Связывание и транспорт железа
8	Ферритин	Цитоплазма	Связывание железа
Низкомолекулярные антиоксиданты			
9	Витамин E	Клетки (цитоплазматические мембраны, мембраны митохондрий и лизосом), кровь	Нейтрализация супероксида, радикалов оксида азота и перекисных радикалов
10	Витамин C	Цитозоль, внеклеточная жидкость	Нейтрализация супероксида, гидроксильного радикала, восстановление окисленного витамина E
11	Прочие витамины (B6, P, PP, K), кроме витамина D	Цитозоль, внеклеточная жидкость	Нейтрализация кислородных радикалов
12	Каротиноиды	Мембраны клеток	Защита клеток от синглетного кислорода
13	Восстановленный глутатион и другие SH-содержащие соединения	Клетки	Защита клеток от радикалов кислорода, предупреждение ПОЛ
14	Убихинон	Митохондрии	Ингибирование ПОЛ
15	Мочевина, мочевая кислота	Внеклеточная жидкость	Связывание H_2O_2 , ингибирование ПОЛ
16	Билирубин	Кровь	Нейтрализация кислородных радикалов
17	Кариозин	Клетки мозга, сердца и скелетных мышц	Нейтрализация АФК, ингибирование ПОЛ
18	Селен	Гормоны, белки и ферменты, в частности глутатионпероксидаза	Разрушение H_2O_2 и гидроперекисей
19	Углекислый газ (CO_2)	Клетки, плазма крови	Ингибирование образование супероксида

Патогенному воздействию АФК на организм противостоят специализированные ферментные системы. К специфическим антиоксидантам-энзимам можно отнести супероксидмутазу, каталазу, ГП, глутатионредуктазу (ГР) и трансферазы.

Эта группа ферментов, локализующихся преимущественно внутриклеточно, обладает способностью разрушать свободные радикалы, а также участвовать в разложении гидроперекисей нерадикальным путем. Энзимы антирадикальной защиты характеризуются высокой избирательностью действия, направленного против определенных радикалов; специфичностью клеточной и органной локализации; а также использованием в качестве стабилизаторов металлов, к которым относятся медь, цинк, марганец, железо и ряд других. Содержание АО-ферментов в различных тканях организма существенно различается. В условиях гипоксии и гипероксии, то есть состояний, усиливающих образование АФК, повышается уровень ферментных АО внутри клеток (Чанчаева Е.А., 2013).

Неферментативная защита включает аскорбат (витамин С) и токоферол (витамин Е). Эти антиоксиданты действуют согласованно, аскорбиновая кислота обладает способностью восстанавливать окисленные радикалы α -токоферола, возвращая ему антиоксидантные свойства (Burton Graham J., 2011; Голиков А.П., 2003).

Основа антиоксидантных свойств аскорбата базируется на одноэлектронных циклических переходах между дигидро-, монодегидро- и дегидро-аскорбатными формами. Витамин С также обладает прооксидантным эффектом в присутствии ионов металлов с переменной валентностью, находясь в эритроцитах оказывает защитное действие на гемоглобин, препятствуя его окислению, способна восстанавливать метгемоглобин, сама окисляясь в дегидроаскорбиновую кислоту (Burton Graham J., 2011; Абрамченко В.В., 1995).

Аскорбиновая кислота участвует в восстановлении окисляющегося в процессе выработки при стрессогенном характере адреналина, оказывает вли-

яние на выработку АКТГ. Так при выраженных стрессовых воздействиях происходит резкое и быстрое объединение надпочечников с аскорбиновой кислотой, что взаимосвязано с интенсификацией биосинтеза кортикостероидов.

Витамин С – синергист каротина и α -токоферола, участвует в реакциях иммунитета, непосредственно в стимуляции лейкоцитов, синтезе интерферона и других иммунных цитокинов (Цыганенко А.Я., 2002; Казимирко В.К., 2004). Витамин С представляет собой гидрофильный антиоксидант, обладающий высокой активностью по отношению к свободным радикалам (Meister A., 1983; Forman H.J., 2009).

Аскорбат, благодаря своему хорошо известному антиоксидантному свойству, улучшает повреждение ДНК за счет уменьшения активных форм кислорода или защищает белки, участвующие в репарации ДНК. Аскорбат также предотвращает образование нитрозамина, который продуцирует активные формы азота. Сообщалось, что витамин С в сочетании с L-карнитином улучшает нефротоксичность, индуцированную цисплатином, благодаря их антиоксидантным и противовоспалительным свойствам. И наоборот, витамин С может вести себя как прооксидант в определенных условиях. Сообщалось, что высокие дозы витамина С индуцируют выработку АФК внутри клеток и вызывают нарушение мембранного потенциала митохондрий. Сообщалось также, что витамин С генерирует радикалы аскорбата и перекись водорода в фармакологических дозах (Sinbad O., 2019; Степанова И.П., 2005).

Жирорастворимый витамин Е представлен в нескольких гомологичных формах (α , β , γ -токоферол) среди которых наибольшей антиоксидантной активностью обладает α -токоферол, который является донатором водородных ионов и ограничителем свободнорадикальных реакций. Значительная эффективность действия α -токоферола, как природного антиоксиданта, обусловлена чрезвычайно высокой антирадикальной активностью (константа скорости взаимодействия данной молекулы с перекисными радикалами составляет

$2,0 \times 10^5$ л/моль с, что на два порядка выше аналогичных констант скоростей для многих известных синтетических и природных антиоксидантов). Для α -токоферола характерна функциональная стабилизация мембранных структур, посредством формирования стабильных комплексов с полиненасыщенными ацилами липидов, угнетает образование липоперикисей, разрушает кислородные радикалы в полярных участках мембран (Карбышев М.С., 2018; Казимирко В.К., 2004).

Прямая защита мембранных липидов обеспечивается витамином Е, который разрушает самораспространяющуюся цепь окислительного повреждения клеточной мембраны. Дефицит этого антиоксиданта может вызвать увеличивающееся повреждение структуры и функции клеток (Sies et al. 1992).

Молекулы токоферола внедряются в липидный слой мембраны эритроцитов где находятся ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов и предохраняют их от процессов пероксидации (Шатилова А.В., 2007).

К гидрофобным антиоксидантам также относятся витамины группы А: А₁ (ретинол), А₂ и цисформа витамина А₁, отличающиеся дополнительными двойными связями в кольце ионона. Все соединения данной группы представляют собой циклические непредельные одноатомные спирты, состоящие из 6-членного кольца (ионон), двух остатков изопрена и первичной спиртовой группы. Всасывание каротиноидов происходит в кишечнике в присутствии липидов. В организме данные соединения легко окисляются с образованием цис- (сетчатка глаза) и транс-альдегидов (прочие ткани); откладываются про запас в печени в форме более устойчивых сложных эфиров: ретинилпальмитат, ретинилацетат и ретинилфосфат. Известны также предшественники (провитамины) витамина А – каротины, подразделяемые на α и β -типы. Наибольшей биологической активностью обладает β -каротин, поскольку он содержит два иононовых кольца, при расщеплении которых в кишечнике (возможно и в печени) при участии каротин-диоксигеназы, в при-

сутствие молекулярного O_2 , из него образуются 2 молекулы витамина А (Карбышев М.С., 2018).

Каротиноиды и витамин А повышают барьерную функцию слизистых оболочек, необходимы для дифференциации, пролиферации тканей кожи и слизистых оболочек, стимулируют синтез коллагена, этим и объясняется ускорение процессов заживления при повреждениях тканей, так же способствует поддержанию биологической и морфологической специфики различных форм эпителия в половых органах (Сафонов В.А., 2008). Данные витамины необходимы для формирования полноценных половых клеток, для имплантации плодного яйца и нормального развития эмбриона. Они задействованы в синтезе стероидных гормонов (включая прогестерон), что и определяет их преимущественное влияние на процессы воспроизводства животных. Низкий уровень содержания в крови этих гормонов, особенно прогестерона, вызывает дисфункцию яичников и нерегулярность эстральных циклов (Кундышев П.П., 2010).

Каротиноиды и витамин А проявляют и антиоксидантные свойства (Грищук С., 2009). Как антиоксидант, ретинол тормозит превращение сульфгидрильных групп в дисульфидные; нейтрализует свободные радикалы, образующиеся при перекисном окислении липидов, присоединяя их по месту двойных связей между углеродами в алифатической цепи, воздействует на метаболизм мембранных фосфолипидов; участвует в обмене тиоловых соединений, нормализации функционально-структурных свойств мембран (Биленко М.В., 1989; Казимирко В.К. и др., 2004; Северин Е.С., 2006).

Полиморфизмы в антиоксидантных ферментах или диетическое ограничение микроэлементов, таких как селен, может, таким образом, играть важную роль в предрасположенности к окислительному стрессу и осложнениям беременности (Burton Graham J., 2011).

2.3 Антиоксиданты и препараты для коррекции стресса в ветеринарии

Большое внимание ветеринарными специалистами уделяется стрессам и изучению роли метаболических сдвигов в развитии различных постстрессовых патологий организма сельскохозяйственных животных, отражающихся на их клиническом состоянии, продуктивности и рентабельности использования. Особую актуальность приобретают при этом нарушения в функционировании антиоксидантной системы организма (Киреев И.В. и др., 2016).

В зооветеринарной практике для купирования различных синдромов, связанных с сильными стрессовыми ситуациями в хозяйствах, используют препараты из группы нейролептиков, веществ с психоседативным действием. Они обладают седативным, успокаивающим, транквилизирующим действием. Их действие частично связано с влиянием на восходящую ретикулярную формацию ствола головного мозга. При блокировке норадренергических рецепторов они угнетают передачу нервных импульсов, снижают проницаемость пресимпатических мембран, нарушая высвобождение катехоламинов обратный их захват (Плященко С.И., 1987).

На данный момент из группы нейролептиков в ветеринарии на рынке имеются препараты такие как Ксилазин, Ксилазал, содержащие в качестве действующего вещества ксилазина гидрохлорид, Стреснил – действующее вещество азаперон.

Для профилактики оксидативного стресса в ветеринарии используются препараты-антиоксиданты. Антиоксиданты играют важную роль в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, положительно влияя на его состояние, поэтому главным образом эти вещества в настоящее время получили широкое распространение (Хасанов В.В., 2004).

Для ветеринарного применения широкое распространение получил промышленный препарат «Мексидол-Вет», представляющий собой синтетический антиоксидант, обладающий выраженным антиоксидантным и мем-

бранопротективным действием (Воронина Т.А., 2009). Механизм действия препарата заключается в ингибировании СРО липидов биомембран. Препарат активно реагирует с перекисными радикалами липидов, повышает активность антиоксидантных ферментов таких как супероксидмутаза, ответственных за образование и расхождение перекисей липидов, повышает содержание полярных фракций липидов, моделирует активность мембраносвязанных ферментов, обладает гиполипидемическим действием, улучшает энергетический обмен клетки (Воронина Т.А., 2001).

В опыте по изучению терапевтической активности препарата «Мексидол-Вет» авторы (Волков А.А. и соавт., 2017), указывают на положительное влияние препарата, за счет улучшения гематологических и биохимических показателей крови, улучшения тканевого дыхания и трофики тканей организма у животных гериатрического возраста.

Оценка влияния Мексидола в качестве антиоксиданта описана в опыте по его влиянию на динамику окислительного метаболизма консервированной крови при воздействии активных форм кислорода. А. Г. Соловьева и Н. В. Диденко (2016), указывают на эффективность препарата в отношении свободнорадикального окисления, где он снизил интенсивность перекисного окисления липидов при экспериментальном окислительном стрессе.

Минусом данного препарата является форма выпуска лекарственного средства. «Мексидол-вет» предназначен для мелких домашних животных и не рассчитан на использование сельскохозяйственным, информация о использовании продуктивным животными нами не найдена.

Препарат – антиоксидант, антигипоксант «Эмицидин», содержит в своем составе производное 3-оксипиридина и янтарную кислоту. Входящая в его состав янтарная кислота наряду со специфическими антигипоксическими свойствами, основой которой является активация электротранспортной функции дыхательной цепи, обладает антиоксидантным действием, усиливающим ее антигипоксические эффекты (Путинцева И.И. и др., 2008).

В опыте на стельных коровах, И.В. Киреев с соавт. (2016), свидетельствуют о высокой антиоксидантной активности препарата, который способствовал увеличению активности глутатионпероксидазы, уровня селена и витамина Е у коров в предотельный и послеотельный период.

Г.С Зулев (2010), так же указывает на высокое антиоксидантное действие препарата. В исследование на телятах препарат «Эмицидин» заметно повышал концентрацию общих липидов в плазме и эритроцитов крови телят в раннем постнатальном онтогенезе, тем самым снизил процессы перекисидации.

Препарат «Эмидонол» содержит в своем составе 2-метил-6метил-3оксипиридина сукцинат. Данный компонент подтвержден при лечении животных с токсикозами, стрессовыми ситуациями и при перевозке, где проявляет себя как препарат антиоксидант, антигипоксант (Кузнецов Ю.Е. и соавт, 2014). «Эмидонол» является ингибитором свободнорадикальных процессов в организме, снижает интенсивность перекисного окисления липидов в мембранах клеток и связывания свободных радикалов.

Мебисел – инъекционный препарат, содержащий в своем составе селен, аскорбиновую кислоту. В опыте на коровах результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что применение антиоксидантного препарата «Мебисел» коровам за 30 дней до предполагаемого отела и после родов способствует нормализации функционирования системы антиоксидантной защиты организма животных в послеродовой период (Киреев И.В., 2016), а в опыте на молодняке свиней, Мебисел и входящие в него компоненты, способствовали увеличению прироста живой массы и стабилизации гематологических показателей. Антиоксидантные свойства препарата определяются содержанием в препарате селена, являясь биологическим антиоксидантом, он регулирует развитие неферментативных реакций с образованием свободных радикалов, тем самым, создает нормальные условия для функционирования организма в целом (Киреев И. В. и соавт., 2010).

Препарат «Стрессол орал» представляет собой жидкость, содержащую хорошо сбалансированную комбинацию основных витаминов и аминокислот для телят, крупного рогатого скота, коз, домашней птицы, овец и свиней, применяют в виде кормовой добавки. Биологические свойства препарата обусловлены наличием биологически активных веществ витаминов, минералов, аминокислот, его применение способствует нормализации обмена веществ, обеспечению высоких темпов роста, повышению резистентности.

Подытожив собранные в данном литературном обзоре данные, можно с уверенностью сказать, что разработка нового комплексного инъекционного стресс-корректорного средства для отечественного животноводства актуальна на сегодняшний день.

3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Диссертационная работа выполнена в период с 2018 по 2021 гг. в ФГБ-НУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» на базе отдела фармакологии Краснодарского научно-исследовательского института в соответствии с планом научно-исследовательских работ по направлению 160. Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных с № госрегистрации АААА-А19-119111590044-2 (0688-2019-0019).

В проведении отдельных лабораторных исследований и клинических испытаний принимали участие М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, Е.В. Роголева, А.А. Абрамов, Е.В. Долгов.

Экспериментальная часть исследований посвящена разработке и изучению фармако-токсикологических и специфических свойств нового инъекционного препарата фитоглинол, обладающего антиоксидантным и стресс-протекторным действием на организм животных, а также его клинической эффективности в производственных условиях.

Все исследования проведены в соответствии с этическими принципами экспериментирования на животных, изложенных в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1987) и на основании «этического кодекса», содержащего международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (Запорожан В.Н., 2005).

Основной объект исследования – фитоглинол, комплексный инъекционный препарат, представляющий собой водный раствор темно-коричневого цвета, специфического вкуса и запаха. В состав фитоглинола входит дигидро-

кверцитин (Dihydroquercetinum), аминокислоты (Glycine) и янтарная (Acidum succinicum) кислоты, водный экстракт душицы обыкновенной (*Origanum Vulgare* L.), диметилсульфоксид (Dimethylsulfoxide) и вода для инъекций.

Дополнительными объектами исследования служили лабораторные и продуктивные животные – белые беспородные крысы (n=180), белые беспородные мыши (n=24), морские свинки (n=10), кролики (n=13), коровы стельные (n=40) и новотельные (n=30) голштинской породы молочного направления в возрасте 3-4 лет.

Лабораторные исследования по изучению токсикометрических характеристик препарата, его фармакологических свойств и специфической активности были проведены на базе отделов фармакологии и эпизоотологии, микологии и ВСЭ ФГБНУ КНЦЗВ, а также в условиях вивария Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института – обособленного структурного подразделения ФГБНУ КНЦЗВ. Клинические эксперименты проведены в учебно-опытном хозяйстве «Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина».

Алгоритм проведенных научных исследований представлен на схеме (рисунок 2). При проведении экспериментов были использованы следующие виды исследований: клинические (n=930), гравиметрические (n=1882), гематологические (n=2009), биохимические (n=3788), гистологические (n=400).

Доклинические исследования препарата фитоглинол проведены в соответствии со следующими методическими положениями и руководствами: «Методы определения токсичности и опасности химических веществ» под ред. И.В. Саноцкого (1970); «Методические рекомендации по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии» (1998); «Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных» (Смирнов А.М., Дорожкин В.И., 2008); «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей

редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005); «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (часть первая), под ред. А.Н. Миронова (2012).

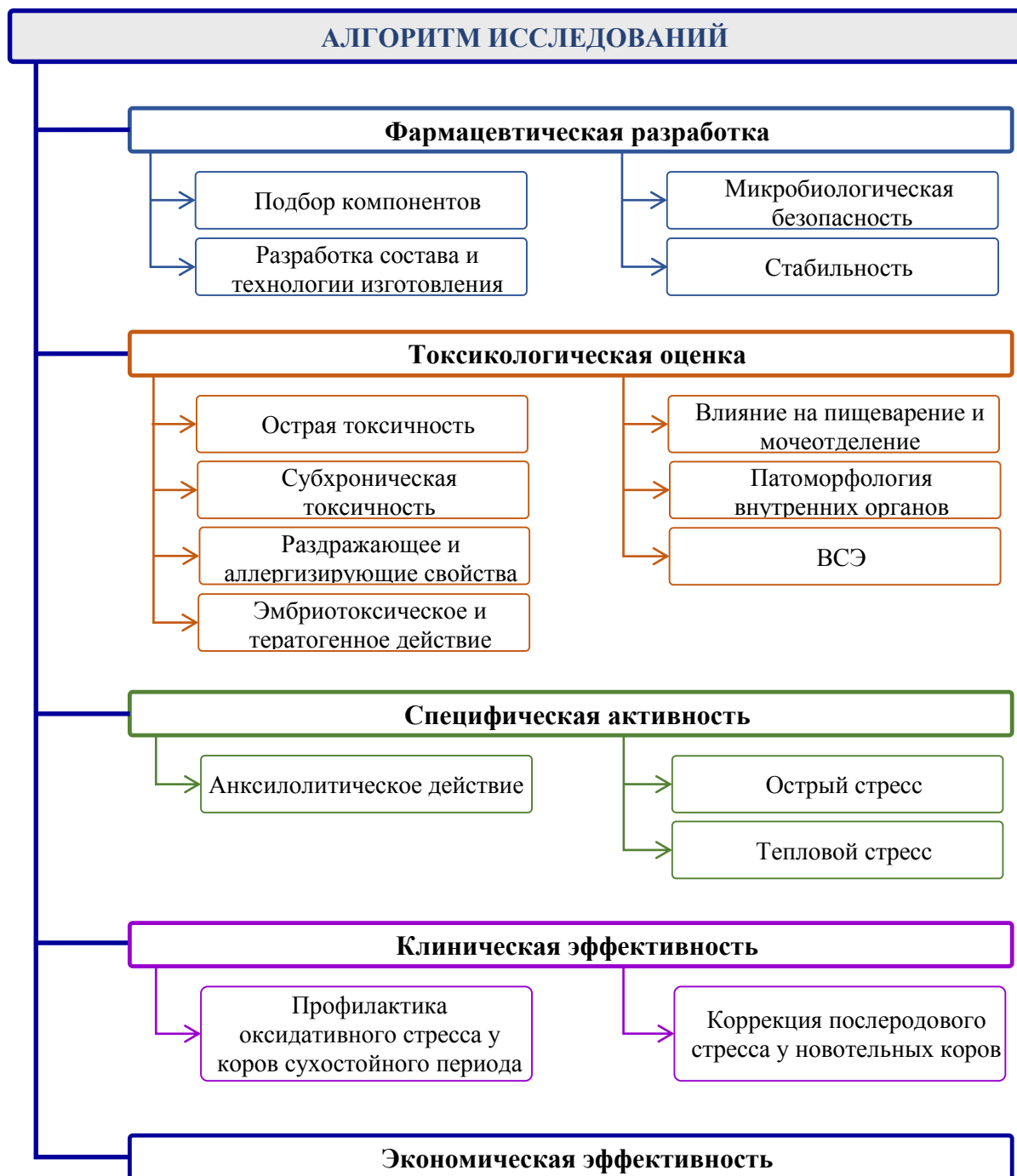


Рисунок 2 – Схема проведения научных исследований

Острая токсичность препарата изучалась на половозрелых белых беспородных крысах и мышах обоего пола в двух сериях экспериментов при одно-

кратном внутрижелудочном (с помощью металлического атравматического зонда) и парентеральном введении максимальных доз, предусмотренных для данного вида лабораторных животных и с учетом пути введения фармакологического средства (5 мл для крыс и 0,5 мл для мышей). Животным контрольных групп теми же способами эквивалентно применяли физиологический раствор.

Субхроническая токсичность препарата фитоглинол оценивалась на белых лабораторных крысах обоего пола (n=40), сформированных в 4 группы с учетом физиологического состояния, возраста и массы тела при внутримышечном способе введения 3 уровней субтоксических доз, рассчитанных от максимально введенной в остром эксперименте. Критериями возможного токсического эффекта от длительного применения препарата служило клиническое состояние крыс, возможное число павших особей и сроки их гибели, гравиметрические, гематологические, биохимические и гистологические показатели опытных животных.

Определение массы тела у всех животных проводилось в динамике в начале опыта и затем каждые 10 дней на электронных весах (M-ER 122 ACF (JR), НПВ-300). Кровь для морфо-биохимических исследований отбиралась в конце опыта у пяти животных из каждой группы.

Отбор проб для морфогистологических исследований органов и тканей лабораторных животных проводился согласно «Морфологическим исследованиям в ветеринарных лабораториях» (2008). Для гистологического исследования у крыс из каждой группы отбирались участки сердца, легких, печени, почек, селезенки. Материал готовился общепринятыми гистологическими методами, включающими фиксацию участков органов в 10 % нейтральном формалине, промывку в проточной воде, обезвоживание в спиртовых растворах, пропитку в хлороформе и парафине, заливку в пара-пласт, резку парафиновых блоков на микротоме. Срезы толщиной 5 мкм после депарафинирования окрашивались гематоксилином и эозином, а далее заключались в канадский бальзам. Фотографирование готовых гистологических препаратов

проводилось при увеличениях $\times 5$, $\times 10$, с использованием микроскопа МС 300 (Австрия) со специализированным программным обеспечением регистрации изображения цифровой камерой Leica.

Функциональное состояние почек лабораторных животных оценивалось по органолептическим (визуально) и физико-химическим (с помощью полифункциональных индикаторных тест-полосок УРОПОЛИАН-ХН (производитель ООО «Биосенсор АН»)) показателям мочи. Органолептические показатели включали объем, консистенцию, цвет, запах, прозрачность, физико-химические – удельный вес (относительную плотность), рН, концентрацию белка, глюкозы, кетоновых тел, билирубина, уробилина, гемоглобина.

Исследование пищеварительной системы проводилось путем оценки фекалий кроликов по следующим тестам: цвет, консистенция, запах, примеси – визуально, рН – с помощью рН-метра ИВА-ТЕСТ, наличие билирубина – пробой Фуше, следы крови – бензидиновой пробой, желчные пигменты – пробой Терквея. Микроскопией исследовалось наличие клетчатки, крахмала, детрита, лейкоцитов, яйца простейших и гельминтов (Письменная С.В., 2013).

Исследование аллергенности препарата изучалось с помощью накожных аппликаций – на морских свинках и конъюнктивальной пробы – на кроликах (Саноцкий И.В., 1970). Степень реакции учитывалась по оценочной шкале в баллах.

Эмбриотоксическое и тератогенное действие определялось согласно «Методическим указаниям по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ» (Хабриев Р.У., 2005).

Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса кроликов после использования препарата фитоглинол проводилась согласно ГОСТ 20235.0-74 – Мясо кроликов (качество мяса и жира кроликов, методы отбора образцов, химического и микроскопического анализа) по оценке органолептических и вкусовых качеств мяса и бульона, биохимических показателей (рН с помощью рН-метра, реакции на пероксидазу, наличие аммиака, реакции с флороглюцином

в ацетоне и резорцином в бензоле (по Видману) (Смольникова Я.В., Рубчевская Л.П., 2010).

Изучение анксиолитического действия препарата фитоглинол проводилось по его влиянию на поведенческую активность белых крыс в тесте «открытое поле», для чего была использована специализированная квадратная арена размером 1,2 x 1,2 м, высотой 50 см, разделенная линиями на 16 секторов, на пересечении которых были оборудованы лунки для изучения исследовательской активности животных. Критериями оценки служили следующие параметры: количество пересеченных квадратов опытными животными, вертикальные стойки, исследовательская активность, время неподвижности, груминг, дефекация, уринация крыс (Курьянова Е.В., 2013).

Оценка адаптогенных, стресс-протекторных и антиоксидантных свойств фитоглинола проведена в двух сериях эксперимента на моделях острого стресса (по методу Ю. И. Добрякова, 1978) и длительного теплового стрессирования лабораторных белых крыс в условиях специально оборудованной климаткамеры.

О выраженности стрессорной реакции организма животных и эффективности фармакокоррекции фитоглинолом в ходе проведения модельных опытов судили по изменению показателей эмоционального состояния животных, клинической картине, гравиметрическим показателям тела, терморегуляции, морфологическим и биохимическим показателям крови, процессам развития продуктов пероксидации и эндогенной интоксикации в организме крыс.

Морфологические и гематологические исследования крови проводились на гематологическом анализаторе для *in vitro* диагностики фирмы «ORPHEE» – Mythic 18 (страна-производитель Швейцария), биохимические исследования – с помощью биохимического автоматического анализатора Vitalab Selectra Junior с версией программного обеспечения 1.0. (открытая система для проведения фотометрических тестов, изготовитель Vital Scientific

N. V. Netherlands) с использованием реактивов фирмы ELITech Clinical Systems (Франция) и Analyticon biotechnologies AG (Германия).

Уровень эндогенной интоксикации определялся по уровню молекул средней массы (МСМ) по методу Н.И. Габриэлян и В.И. Липатовой (1984).

Оценка показателей системы ПОЛ-АОЗ проводилась в соответствии с методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма (ВНИВИПФиТ (2010). Показатели уровня общих липидов оценивались при помощи специализированного набора в опыте с серной кислотой фирмы DAC-SpectroMed.

Эффективность фитоглинола при профилактике оксидативного и коррекции послеродового стресса изучена в условиях учебно-опытного хозяйства «Кубань» Кубанского ГАУ на коровах голштинской породы 8-го месяца стельности и новотельных коровах (10-14 дней после отела) как самостоятельного средства, так и в сравнении с препаратом эмидонолом 10 %. Клиническая эффективность фармакопрофилактики определялась по влиянию препарата на показатели метаболического статуса, степени развития эндотоксемии и инициации процессов липопероксидации.

Расчет экономической эффективности проводился по «Методическим рекомендациям по определению общего экономического эффекта от использования результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в Агропромышленном комплексе» (2007) и «Экономической эффективности применения современных лекарственных средств в животноводстве, птицеводстве и звероводстве» (Никитин Н.И., 2014).

Достоверность результатов, полученных в ходе экспериментальной обработки материалов, проводилась с помощью программного обеспечения фирмы Mikrosoft ®, фирмы Carl Zeiss ®, оценивалась по t-критерию Стьюдента и выражалась в виде средней арифметической ($M \pm m$). Полученные цифровые данные обрабатывались с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0.

4. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 Фармацевтическая разработка препарата, обладающего стресс-протекторным действием на организм животных

Создание каждого нового оригинального лекарственного средства для ветеринарной медицины является результатом длительной работы, включающей несколько стадий его изучения – фармацевтическую, фармакокинетическую и фармакодинамическую. Фармацевтическая стадия (фармацевтическая разработка) представляет собой комплекс экспериментальных исследований, необходимых для подбора и обоснования основного и вспомогательного (вспомогательных) компонентов нового средства, определения его оптимальной лекарственной формы, изучение физико-химических и биологических свойств, возможного взаимодействия составляющих препарат веществ, а также технологический процесс и его контроль (Ляпунов Н.А., Безуглая Е.П., 2013).

В данном разделе результаты исследования и их анализ опубликованы в виде научных статей в следующих изданиях: Научные основы повышения продуктивности и здоровья животных. Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020. – Т.9. – № 2. – С. 6-10; Научные исследования в современном мире: опыт, проблемы и перспективы развития. Сборник научных статей по материалам IV Международной научно-практической конференции. – Уфа, 2020. – С. 7-11.

4.1.1 Выбор и обоснование качественного компонентного состава инъекционного лекарственного средства

Одним из наиболее эффективных путей поиска и разработки новых лекарственных средств является создание комплексных (комбинированных) препаратов, в которые, чаще всего, включаются лекарственные вещества,

оказывающие многостороннее действие на этиологию и основные звенья патогенеза заболевания, что обуславливает значительный терапевтический эффект при взаимном усилении (суммировании) действия.

Для создания подобных препаратов, в первую очередь, необходимо провести скрининговые исследования по подбору компонентов – основных и вспомогательных веществ, обладающих физико-химической и фармакодинамической совместимостью, способных к потенцированию специфического действия.

Для создания инъекционной формы препарата, обладающего стресс-протекторным действием, были подобраны следующие компоненты:

Дигидрокверцетин (ДКВ)

Глицин (аминоуксусная кислота)

Экстракт Душицы

Янтарная кислота

Диметилсульфоксид (ДМСО)

Вода для инъекций

Дигидрокверцетин – (Dihydroquercetinum) – по химическому строению относится к полифенольным соединениям. Биофлаваноид натурального происхождения, входящий в группу флаванонов (флаванолов). По биологическому действию – мощный антиоксидант с активностью витамина Р. За рубежом известен как «Таксифолин» (Taxifolin). Химическое название: [2,3-Дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4Н-1 бензопиран-4-ОН]. Эмпирическая формула $C_{15}H_{12}O_7$. Молекулярная масса 304,26. По молекулярному строению и функциям дигидрокверцетин близок к кверцетину и рутину, но превосходит их по фармакобиологической активности.

Дигидрокверцетин (ДКВ) относится к большому классу флавоноидов – веществ растительного происхождения, выполняющих в живом организме разнообразные функции.

Получают его из древесины лиственницы сибирской (комлевой её части) и лиственницы даурской (Российское Забайкалье и Северный Китай). Содержание нативного ДГК в подготовленном сырье составляет примерно 4 %, что намного превышает содержание его в сырье из других источников (таблица 2).

Таблица 2 – Физико-химические свойства дигидрокверцитина (лавитола)
(производитель ЗАО «Аметис», г. Благовещенск, Россия)

№	Наименование показателя	Допустимые значения	Результаты анализа	Метод исследования
1	Внешний вид	Порошок от белого до бледно-желтого цвета	Порошок кремового цвета	Визуальный
2	Влажность, %	<10,0	9,3	ГОСТ 16483.7-71
3	Массовая доля ДКВ, %	>88,0	90,0	Методика измерений 24-10
Количественно-химический анализ				
1	ДДТ, мг/кг	<0,1	<0,0175	МУ 2142-80
2	Гексахлорциклогексан (ГХЦГ), мг/кг	<0,1	<0,0025	МУ 2142-80
3	Алдрин, мг/кг	Не допускается	Не обнаружено	МУ 2142-80
4	Гептахлор, мг/кг	Не допускается	Не обнаружено	МУ 2142-80
5	М.д. ртути, мг/кг	<1,0	<0,01	МУ 08-47/158
6	М.д. мышьяка, мг/кг	<3,0	<0,02	МУ 08-47/142
7	М.д. свинца, мг/кг	<5,0	<0,02	МУ 08-47/142
8	М.д. кадмия, мг/кг	<1,0	<0,002	МУ 08-47/142
Микробиологические исследования				
1	Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), КОЕ/г	<50000	<10	ГОСТ 10444.15-94
2	Бактерии группы кишечные палочки (БГКП), в т.ч. колиформы, в 0,1 г	Не допускается	Не обнаружено	ГОСТ Р 52816-2007
3	Патогенная микрофлора, в т.ч. Salmonella, в 10,0 г	Не допускается	Не обнаружено	ГОСТ Р 52814-2007
4	Плесени и дрожжи, КОЕ/г	<10,0	<10,0	ГОСТ 10444.12-88
5	E.coli в 1,0 г	Не допускается	Не обнаружено	ГОСТ 30726-2001

Примечание: по результатам качества безопасности № 69-03.19

Представляет собой белый кристаллический порошок без запаха, со слабым горьковатым вкусом. Отлично растворяется в ацетоне, метиловом и

этиловом спирте, хорошо – в 1,2-пропиленгликоле, этилацетате, так же растворим в диметилсульфоксиде. Растворимость в воде при различной температуре имеет экспоненциальный характер: при комнатной температуре – 0,1 %, при 40°C – 0,3 %, при 60°C – 1,0 %, при 90°C – от 3 до 5,3 %. Температура плавления 220-225°C, плавится с разложением. Разрушается при кипячении и под влиянием солнечных лучей.

Самая важная функция флавоноидов – антиоксидантная, а дигидрокверцетин является самым мощным антиоксидантом прямого действия из всех изученных флавоноидов, непосредственно связывающим свободные радикалы, охватывая Nrf2-зависимый путь, стимулирующий экспрессию антиоксидантных и детоксифицирующих ферментов фазы II и выполняющий критическую защитную роль против окислительного повреждения ДНК. ДКВ в значительной степени ускоряет экспрессию гемоксигеназы-1 (HO-1), индуцируя экспрессию Nrf2 в цитоплазме и ядерную транслокацию, а также может действовать как акцептор RNS, полученной из миелопероксидазы (MPO) (Weidmann A.E., 2012).

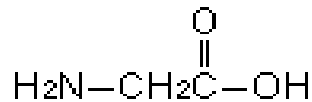
При полном отсутствии мутагенности, его антиоксидантная активность выявляется при содержании в концентрации 0,0001-0,00001 %.

Кроме того, дигидрокверцетин является мощным гепатопротектором, радиопротектором, обладает противовоспалительными, обезболивающими, иммунокорректирующими свойствами, тормозит преждевременное старение клеток и развитие различных заболеваний. ДКВ препятствует разрушению клеточных мембран, оказывает капилляропротективное действие, укрепляет стенки сосудов, улучшает микроциркуляцию, нормализует уровень холестерина и триглицеридов в крови, тормозит развитие дистрофических и склеротических процессов, угнетает воспалительные процессы, оказывает противовоспалительное действие (Чмыхова, А. Н., 2017).

Глицин (Glycine) (гликокол, аминокислота, аминоэтановая кислота) – простейшая алифатическая аминокислота, глицин был назван так

за сладкий вкус (от греческого glykos — сладкий). Представляет собой кристаллический порошок белого цвета, легко растворимый в воде, плохо растворимый в спирте, нерастворимый в эфире. Молярная масса 75,07 г/моль, плотность вещества 1,607 г/см³, температура плавления 235,85 °С, входит в состав желчных кислот (Лысиков Ю.А., 2012).

Химическая формула глицина – NH₂-CH₂-COOH, глицин состоит из центрального атома углерода, к которому присоединен карбоксильный (COOH) радикал и амино (NH₂). Два других радикала – это водород. Поэтому это единственная аминокислота с двумя равными радикалами: у нее нет оптической изомерии.



По современным данным, является центральным нейромедиатором тормозного типа действия. Оказывает седативное действие. Улучшает метаболические процессы в тканях мозга. Оказывает положительное влияние при мышечных дистрофиях. Глицин входит в состав многих белков и биологически активных соединений. Из глицина в живых клетках синтезируются порфирины и пуриновые основания. Глицин также помогает регулировать нервные импульсы в центральной нервной системе, особенно в спинном мозге, сетчатке и контрольном центре мозга, известном как ствол головного мозга, рецепторы имеются во многих участках головного мозга и спинного мозга. Связываясь с рецепторами, кодируемые генами GLRA1, GLRA2, GLRA3 и GLRB, глицин вызывает «тормозящее» воздействие на нейроны, уменьшает выделение из нейронов «возбуждающих» аминокислот, таких, как глутаминовая кислота, и повышает выделение ГАМК. Также глицин связывается со специфическими участками NMDA-рецепторов и, таким образом, способствует передаче сигнала от возбуждающих нейротрансмиттеров глутамата и аспартата. Глицин также связывается с токсичными веществами, снижает токсичность противосудорожных препаратов, нейролептиков и антидепри-

сантов, способствует выведению токсинов из организма, усиливает действие снотворных, транквилизаторов и нейролептиков (Потупчик Т., 2015; Яковлева Е.В., 2006; Engelking LR., 2015).

Вместе с цистеином и глутаминовой кислотой аминокислота принимает участие в синтезе глутатиона – одного из звеньев антиоксидантной защиты организма, обеспечивающего выработку основных детоксикационных ферментов и защищающих сульфгидрильные группы гемоглобина и мембрану эритроцитов от окислителей. Глицин очень эффективен для оптимизации активности g-глутамилтранспептидазы, щелочных фосфатаз, аспаратаминотрансаминаз, состава тканевых жирных кислот и аланинаминотрансаминазы. Кроме того, глицин может оптимизировать или изменять уровень липидов при хроническом гепатите, поддерживая целостность мембран, а также бороться с опосредованным свободными радикалами окислительным стрессом в гепатоцитах (Senthilkumar R., Sengottuvelan M., Nalini N., 2004).

В опыте стресс-индуцированных нарушений гемопоеза введение глицина подопытным крысам эффективно предупреждало индуцированное стрессом торможение пролиферации и дифференцировки клеток эритроидного ряда в стадию тревоги стресса, тем самым стимулируя эти процессы, а в стадию резистентности стимулирующий эффект глицина уменьшался, и показатели эритропоеза и осмотической резистентности эритроцитов приближаются к нормальным (Васильева Л.С., 2001).

Измерением активности глутатионредуктазы, ее повышением в крови, в исследовании влияния глицина на активность антиоксидантной системы в условиях оксидативного стресса, вызванного антрациклиновыми антибиотиками, было экспериментально установлено, что аминокислота в определенной дозировке повышает активность антирадикальной защиты в условиях оксидативного стресса (Брынских Г.Т., 2008)

Как химическое соединение глицин обладает способностью взаимодействовать с рядом химических соединений (альдегидами, кетонами, серосо-

держащими токсичными веществами, нитратами). Детоксицирующее действие глицина в первую очередь проявляется в отношении фенола (Гончарова О.В., 2000). Участие глицина в химических реакциях превращения в организме обеспечивает целый комплекс дальнейшего биологического взаимодействия в органах и тканях. Благодаря своим антиокислительным, антитоксичным и антидепрессивным свойствам, аминокислота снижает экзогенное токсическое воздействие на организм, проявляет седативный, успокаивающий эффект, снижает гиперактивность, замедляет дегенерацию мышечной ткани, обладает некоторыми ноотропными свойствами (Иванова А.Л., Ивашев М.Н., Сергиенко А.В., Савенко И.А. 2015).

Экстракт Душицы. Душица обыкновенная (*Origanum Vulgare L.*). По своему виду экстракт представляет собой порошок светло-коричневого цвета, хорошо растворимый в воде. В составе экстракта содержится эфирное масло (0,15-0,4 %), состоящие из тимола, карвакрола, сесквитерпенов, спиртов, дубильные вещества, аскорбиновая кислота. С присутствием данных соединений связывают проявляемую экстрактами антиоксидантную и антирадикальную активность (Базарнова Ю.Г., 2016; Teixeira V., 2013)

Наиболее характерными компонентами для душицы являются: α -туйен, линалоол, α -пинен, β -пинен, мирцен, камфен, борнеол, селинен, β -фелландрен, сабинен, оцимен, лимонен, α -терпинен, ундеканон-2, 1,8-цинеол, α -терпинеол, β -кариофиллен, α -мууролен, тимол, тимолацетат, карвакрол, метиловые эфиры тимола и карвакрола (Мирович В.М. с соавт., 2008). Помимо эфирных масел трава душицы содержит целый комплекс биологически активных соединений (БАС): флавоноиды, такие как лютеолин, лютеолин-7-гликозид, лютеолин-7-глюкуронид, космосиин, апигенин-7-гликозид, хризин-7-глюкуронид, 5-оксифлавоны; фенолкарбоновые кислоты – розмариновая, хлорогеновая; дубильные вещества и фенилпропаноиды (Куркин В.А., 2007; Морохина С. Л. 2012; Зыкова И. Д., 2021).

Основные фармакологические эффекты извлечений из травы душицы приведены в таблице 3 (Боков Д.О., Морохина С.Л., 2012).

Таблица 3– Экспериментальная фармакологическая активность извлечений, полученных из травы душицы обыкновенной

Экстрагент	Основная группа биологически активных веществ	Фармакологическое действие
Вода	Дубильные вещества (катехины), аминокислоты (аспарагиновая кислота, треонин, серин, пролин, глицин и др.), микро-, макроэлементы, витамины (аскорбиновая кислота)	Противовирусное Антиоксидантное Антигипергликемическое Инсулинопотенцирующее Антимутагенное
Этиловый спирт: вода (2:3)	Флавоноиды – агликоны + гликозиды (лютеолин, лютеолин-7-β-D-глюкуронозид, хризин-7-β-D-глюкуронозид, апигенин, космосин и др.)	Противовоспалительное Мембраностабилизирующее Седативное
Этиловый спирт: вода (1:1)	Флавоноиды – агликоны (лютеолин, апигенин и др.) Простые фенолы (тимол, карвакрол)	Фунгицидное Антиоксидантное
Этиловый спирт: вода (4:1)	Флавоноиды агликоны (лютеолин, апигенин и др.) Простые фенолы (тимол, карвакрол)	Антимикробное
Метиловый спирт: вода (3:1)	Флавоноиды агликоны (лютеолин, апигенин и др.) Простые фенолы (тимол, карвакрол)	Антимутагенное
Уксусная кислота :этиловый спирт (1:1)	Флавоноиды – агликоны+гликозиды (лютеолин, лютеолин-7-β-D-глюкуронозид, хризин-7-β-D-глюкуронозид, апигенин, космосин и др.)	Противовоспалительное
Перегонка с водяным паром	Эфирное масло (тимол, карвакрол, тритепеноиды, сесквитерпены)	Антимикробное Фунгицидное Антиоксидантное Антимутагенное

Душицы экстракт жидкий (1:2,6), полученный экстракцией сырья 40 % спиртом этиловым обладает противовоспалительной и мембраностабилизирующей активностью (Ковтун Е.В., 1999). Эфирное масло проявляет выра-

женный антиоксидантный эффект при окислении эмульсии β -каротин-линолевой кислоты.

По своим фармакологическим свойствам при попадании в организм экстракт душицы угнетает центральную нервную систему, успокаивает возбужденных животных, одновременно с этим отмечается активизация секреции пищеварительных, потовых и бронхиальных желез (Гринкевич Н.И., 1983).

Обладая таким широким спектром фармакологического действия, душица обыкновенная, тем не менее, не имеет широкого практического применения в современных лекарственных препаратах медицинского назначения, а в ветеринарии она не используется вообще. Однако результаты фармакологических экспериментов свидетельствуют о перспективности разработки новых лекарственных средств на основе душицы обыкновенной в составе комплексных препаратов.

Янтарная кислота (Acidum succinicum) – $(C_4H_6O_4)$ – этан-1,2-дикарбоновая кислота (международное название Succinic acid, Butanedioic acid; 1,2-Ethanedicarboxylic acid; Amber acid). Представляет собой белые кристаллы, обладающие слабокислым и слегка солоновато-горьким привкусом, легко растворимый в воде, этиловом спирте, в диэтиловом эфире. Нерастворима в бензоле, бензине, хлороформе. Температура плавления $183\text{ }^\circ\text{C}$, выше $235\text{ }^\circ\text{C}$ отщепляет воду и переходит в янтарный ангидрид. Молекулярный вес – 118.09, объемная плотность: $1,56\text{ г / см}^3$, растворимость: 58 г / л ($20\text{ }^\circ\text{C}$), стабильна.

Структурная формула – $\text{HOOC—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$.

Янтарная кислота является универсальным промежуточным метаболитом взаимопревращения углеводов, белков и жиров в клетках.

Участвует в ряде биохимических реакций энергетического, структурного и ферментного обеспечения организма. Механизм действия янтарной

кислоты связан с увеличением синтеза АТФ, торможением гликолиза и активацией аэробных процессов в клетках, усилением глюконеогенеза.

Янтарная кислота – мощный антиоксидант, обезвреживающий свободные радикалы. В сочетании с глюкозой снижает последствия интоксикации организма, повышая его способность противостоять отравляющим действиям ксенобиотиков и свободных радикалов.

Так же относится к группе метаболических медикаментозных средств, обладающих ярко-выраженными антиоксидантными свойствами. Янтарная кислота благоприятно воздействует на организм и способствует улучшению клеточного дыхания, влияет на процессы образования свободных радикалов, которые оказывают вредоносные действия на ткани и клетки. Она оказывает ярко-выраженное антиоксидантное действие (Чекман И.С., 2017).

Янтарная кислота активирует супероксиддисмутазу, оказывает влияние на физико-химические свойства мембраны, повышает содержание полярных фракций липидов, таких как фосфотидилсерина и фосфотидилинозита, в мембране, уменьшает отношение холестерол-фосфолипиды, уменьшает вязкость липидного слоя и увеличивает текучесть мембраны, улучшает энергетический обмен в клетке. Механизм действия янтарной кислоты определяет, прежде всего, ее антиоксидантные свойства, способность стабилизировать биомембраны клеток, модулировать работу рецепторных комплексов и прохождение ионных токов, усиливать связывание эндогенных веществ, улучшать синаптическую передачу и взаимосвязь структур (Евглевский А.А., 2013).

Кроме того, янтарная кислота способствует стабилизации клеточных мембран, что предотвращает потерю ферментов и обеспечивает функционирование механизмов дезинтоксикации в клетках (Бурбелло А.Т. и др., 2007).

Оказывает антигипоксическое, актопротекторное и противовирусное действие. Участвуя в цикле трикарбоновых кислот, янтарная кислота усиливает анаболические процессы в организме, способствует нормализации об-

мена веществ, повышению иммунобиологической реактивности, устойчивости к ряду инфекционных заболеваний.

Диметилсульфоксид, димексид, ДМСО (Dimethylsulfoxide, Dimexidum) – сульфинилбис[метан], бесцветная прозрачная жидкость или бесцветные кристаллы, плавящиеся при температуре 18,5 °С, со специфическим запахом, гигроскопичен. Смешивается во всех соотношениях с водой, этиловым спиртом, хлороформом, бензолом. Молекулярная масса – 78,13.

Химическая формула $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$. Малотоксичен, не обладает кумулятивным, аллергическим действием, эмбриотоксическими и тератогенными свойствами. Сублетальная доза при внутривенном введении – 500 мг/кг массы тела. Летальная доза (LD_{50}) при внутрибрюшинном введении – 20000 мг/кг (Машковский М.Д., 2002; Фиалков Ю. Я., 1990).

Обладает уникальными растворяющими свойствами, а также способностью проникать через биологические мембраны, в том числе через кожные барьеры, перенося внутрь растворенные в нем активные вещества лекарственных средств и депонируя их в тканях на 1-2 недели. Улучшает микроциркуляцию в тканях, оказывает сосудорасширяющее и умеренное гипотензивное действие. Улучшает реологические свойства крови, проявляет антигистаминное и антипротеолитическое действие, предупреждая развитие отека и некроза в очаге воспаления и улучшая трофику тканей, ускоряет развитие грануляционной ткани, замедляя процессы образования рубца. Способствует рассасыванию воспалительных инфильтратов, грубых рубцов.

По противовоспалительной активности ДМСО сопоставим с нестероидными противовоспалительными средствами, обладая системным действием на организм. Обладает жаропонижающим эффектом, тормозит синтез коллагена. Ему присуща десенсибилизирующая и противоаллергическая активность, в основе которой лежит способность подавлять В-лимфоциты и плазматические клетки, блокада гистаминэргических серотонинэргических рецепторов, антигистаминное действие, способность инактивировать гиста-

мин, освобождающийся из тучных клеток, истощать пул клеток, продуцирующих гистамин.

ДМСО – анестетик продолжительного действия с выраженным местным обезболивающим эффектом. Обладает длительным анальгезирующим действием. Избирательно блокирует нервные волокна, проводящие болевой импульс. Потенцирует действие антибиотиков.

Димексид проявляет высокую антиоксидантную активность, предотвращая перекисное окисление липидов, стабилизируя клеточные мембраны, улавливая свободные радикалы. Ему присуща сильная антиоксидантная активность. Димексид предотвращает перекисное окисление липидов, стабилизирует клеточные мембраны, в том числе и мембраны лизосом. Он улавливает свободные радикалы, прежде всего «ОН», являясь эффективной «ловушкой» для них. Кроме того, он является ингибитором свободнорадикальных реакций за счет взаимодействия с Fe^{2+} , приводящего к окислению Fe^{2+} в Fe^{3+} , уменьшения пула каталитически активных ионов двухвалентного железа (Вардаев Л.И., 2005; Хренов П. А. 2013).

Диметилсульфоксид обладает бактериостатическим действием в концентрации 0,25-10 % и бактерицидным – в концентрации 25-50 %.

Проявляет иммунодепрессивный эффект в отношении В-лимфоцитов, снижает уровень циркулирующих в крови иммунных комплексов, стимулирует неспецифическую реактивность, увеличивает сопротивляемость организма к неблагоприятным воздействиям, повышает функциональное состояние макрофагальной системы (<http://biocentr.org/dimeksid-dmsso.html>).

Таким образом, все подобранные компоненты обладают антиоксидантными, адаптогенными, стресс-протекторными и иммуномодулирующими свойствами, направленно действуя на механизмы угнетения свободнорадикального окисления, оказывая благоприятное действие на системные эффекты стресса, нормализацию метаболического фона и адаптационные возможности организма.

4.1.2 Разработка состава препарата

Учитывая результаты патентного поиска и характеристик физико-химических свойств компонентов препарата, а также их различную степень смешиваемости и растворимости, нами в процессе исследований были созданы 3 композиции лекарственного средства со следующим соотношением компонентов (г/100 мл) (таблица 4).

Таблица 4 – Варианты композиционного состава препарата (n=3)

Компоненты препарата	Состав препарата		
	1	2	3
Дигидрокверцетин, г	1,5	1,0	1,0
Аминоуксусная кислота, г	6,0	5,0	4,0
Экстракт душицы, г	1,0	1,0	1,0
Янтарная кислота, г	1,0	1,0	1,0
ДМСО, мл	20,0	15,0	20,0
Вода для инъекций, мл	70,5	77,0	73,0

При создании композиционных составов учитывались такие критерии, как принятая в медицине суточная терапевтическая доза используемых компонентов, растворимость и потенцирующий эффект, водородный показатель (рН) раствора, а также ранее проведенные исследования по отработке доз отдельных составляющих лекарственного средства (дигидрокверцетин, янтарная кислота, ДМСО) в составе инъекционных препаратов в условиях отдела фармакологии Краснодарского НИВИ.

С учетом всех вышеперечисленных критериев, оптимальным составом был признан второй композиционный вариант, который в качестве действующих веществ в 1 мл содержит: дигидрокверцетин – 10 мг, аминоуксусную кислоту – 50 мг, экстракт душицы – 10 мг, янтарную кислоту – 10 мг, а также вспомогательные вещества: диметилсульфоксид – 0,2 мл и воду для инъекций – до 1 мл.

Технология изготовления препарата: В стерильную колбу дозатором отбирается 15 мл диметилсульфоксида, к которому добавляется дигидро-

кверцетин в количестве 1,0 г при постоянном перемешивании до полного растворения ДКВ стерильной стеклянной палочкой. Во вторую стерильную колбу добавляется 1 г экстракта душицы, который разводится 5 мл воды для инъекций при непрерывном перемешивании. В третью стерильную колбу добавляется аминоксусная кислота 5 г и янтарная кислота 1 г, которые также разводятся 5 мл воды для инъекций и тщательно перемешиваются до полного растворения компонентов. Затем все три колбы с растворами объединяют, доводя объем до 100 мл водой для инъекций. Готовый раствор препарата разливают в предварительно простерилизованные стеклянные флаконы (ФЛС-100-ОС-1), укупоривают резиновыми пробками и металлизированными колпачками.

Измерение водородного показателя данной композиции, проведенное с помощью портативного высокоточного рН – метра ИВА-ТЕСТ с автоматической калибровкой, показало, что разработанная композиция имеет рН, равный 4,09 (Рис 2).



Рисунок 3 – Измерение водородного показателя исследуемой композиции

При внутримышечном введении раствора лабораторным крысам (n=6) (в область заднебедренных мышц, по 1,0 мл с каждой стороны), сразу после инъекции болезненности и лихорадочного состояния животных при измерении температуры выявлено не было.

Последующая термометрия, проводимая с интервалом 30 минут на протяжении трех часов у каждого животного по сумме индивидуальных возможных повышений, не показала увеличения местной температуры тела крыс более чем на 0,5°C, на основании чего было установлено, что разработанный препарат не обладает пирогенностью. Данная композиция нового препарата получила название – фитоглинол.

4.1.3 Изучение микробиологической безопасности фитоглинола

Исследования микробиологической безопасности фитоглинола были проведены с целью получения доказательств отсутствия в готовой форме препарата жизнеспособных микроорганизмов любого вида. В соответствии с рекомендациями государственной фармакопеи (ГФХП ОФС 42-0066-07 – стерильность лекарственных средств для парентерального применения), результаты на стерильность лекарственных препаратов являются важнейшими показателями их качества.

Стерильность фитоглинола исследовалась методом прямого посева на питательные среды (МПА, МПБ – на микрофлору; Сабуро, Чапека и сусло-агар – для первичного выделения грибов). Исследуемый препарат был отобран в стеклянные флаконы по 100 мл. Посев на питательные среды проводился в боксе под вытяжкой, с соблюдением правил асептики и антисептики. Предварительно помещения были обработаны бактерицидными лампами по времени в течение 30 мин. Для проверки микробной обсеменённости воздуха в боксах после обработки на 15 минут были оставлены чашки Петри, которые

затем помещались в термостат. В результате проверки колоний микроорганизмов и их роста на питательных средах выявлено не было.

Стерильность опытного образца препарата фитоглинол оценивалась на жидкой (мясопептонный бульон) и плотной (мясопептонный агар) средах. Бактериологической петлей, обожжённой над пламенем горелки, отбиралось небольшое количество препарата, которое параллельно вносилось в 3 пробирки с бульоном и в той же последовательности – на поверхность агара (зигзагообразным штрихом). Далее, пробирки с МПБ и чашки с МПА помещались в термостат при температуре $+36-37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Учет проводился через 24, 48 и 72 часа, учет роста проводился спустя 24, 48 и 72 часа.

По прошествии 72 часов ни на поверхности МПБ, ни на поверхности МПА, роста микроорганизмов и колоний установлено не было, бульон и агар оставались стерильными, рисунок 4, 5.

Для установления роста грибов посева проводились на среду Чапека-Докса и сусло-агар. Затем пробы культивировались в термостате при температуре $22,5\pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Учет проводился по прошествии 20 дней. Установлено отсутствие роста грибов и колоний на поверхностях агара в трех образцах.

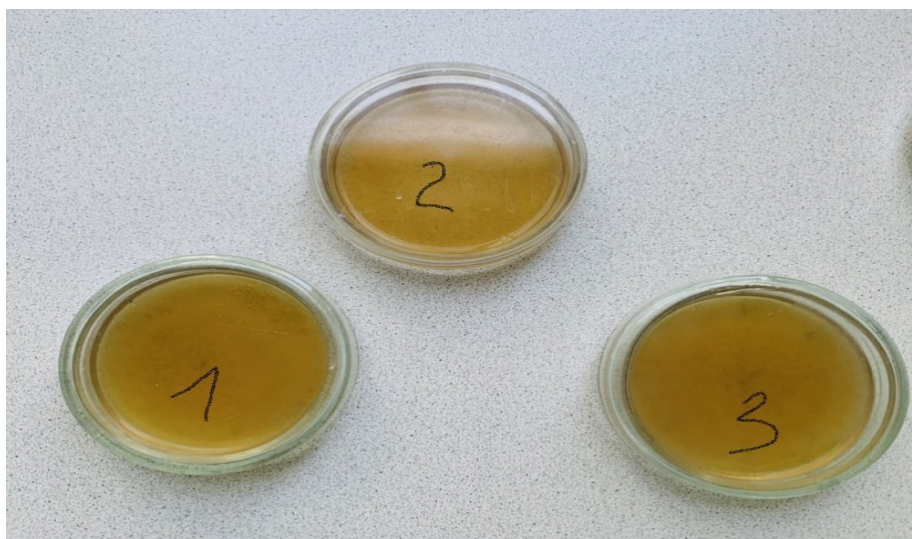


Рисунок 4 – Отсутствие роста микроорганизмов, посев на МПА



Рисунок 5 – Отсутствие роста микроорганизмов, образцы с МПБ

Таким образом отсутствие роста микроорганизмов в 3-х исследуемых образцах говорит о стерильности препарата фитоглинол.

4.1.4 Изучение стабильности фитоглинола

Под стабильностью лекарственного препарата понимают его способность сохранять химические, физические, микробиологические характеристики, а также биофармацевтическую и фармакологическую активность в определенных условиях на протяжении срока годности. Процессы, происходящие при хранении лекарственных средств, могут привести к изменению их химического состава или физических свойств (образованию осадка, изменению окраски или агрегатного состояния).

Стабилизация лекарственных препаратов используется в процессе изготовления с добавлением химических веществ. Для жидких лекарственных форм в основу химических метода легли вещества антиоксиданты (противоокислители), угнетающие гидролитическое или окислительно-восстановительное разложение лекарственных веществ. В данной комбинации, препарат фитоглинол содержит флавоноид растительного происхождения

дегидрохверцетин, обладающий высокой антиоксидантной активностью, янтарную кислоту и глицин, также обладающие антиоксидантной активностью. Поскольку значение водородного показателя находится в диапазоне от 3 до 5, среда препарата является кислой, что может указывать на то, что в данных пределах растворы считаются более стабильными.

Срок хранения препарата фитоглинол устанавливали методом «ускоренного старения», суть которого заключается в выдерживании испытуемого лекарственного средства при температурах и влажности, превышающих температуру и влажность его хранения в процессе обращения. Поэтому, сроки хранения препарата определялись в температурном диапазоне от 40 до 70 °С, с шагом в 10 °С. Данная температура способствует сокращению временных промежутков, в течении которых происходят химические и физические изменения в лекарственных соединениях, а также разрушение лекарственных веществ (в 2-4 раза при повышении температуры на 10°С).

Препарат фитоглинол (экспериментальный образец) выдерживался в термостате марки ТС – 1/20 СПУ, при температуре 60 °С непрерывно в течении 90 суток. Каждые 30 суток проводилась регистрация физических показателей, таких как цвет (с использованием эталонов желтых, коричневых и зеленых оттенков согласно ГФ XI), прозрачность и мутность, осадок (визуально), так же рН-метрия, с использованием рН-метра ИВА-ТЕСТ. Данные представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Показатели контроля препарата фитоглинол в условиях «ускоренного старения»

Показатели	Исходные показатели	30 суток	60 суток	90 суток
Цвет	Темно-коричневый	+	+	+
Наличие взвеси	Отсутствуют	–	–	+
Посторонние примеси	Отсутствуют	–	–	–
рН	4,09	4,09	4,07	4,5

Стабильность фитоглинола подтверждалась так же исследованием препарата на 30 и 60 сутки (период термостатирования) методом бомбардировки быстрыми атомами (Fast atom bombardment, FAB) и масс-спектрометрии вторичных ионов с ионизацией в жидкой фазе с использованием стандартных растворов дегидрохверцетина (Taxifolin) и аминокислоты (Taxifolin hydrate ≥ 90 % HPLC, Glycine hydrochloride ≥ 99 % HPLC), где было установлено, что ни в один из исследуемых сроков прибор не выявил существенных различий в концентрации двух исследуемых компонентов в опытных пробах раствора фитоглинола.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что препарат фитоглинол, подвергнутый ускоренному старению при температуре 60 °С в течении 60 суток остался стабильным, на 90 сутки исследования в препарате появились нехарактерные взвеси, изменение водородного показателя в диапазоне 0,41.

По формуле Вант-Гоффа произведен расчет срока хранения фитоглинола, где:

C – срок годности, при температуре хранения ($T_{хр}$) – 20 °С;

$C_{э}$ – экспериментальный срок хранения – 60 суток;

($T_{хр}$) – экспериментальная температура хранения – 60 °С, при следующей зависимости: $C = K * C_{э}$

Где K – коэффициент соответствия:

$$K = A^{\frac{t_{э} - t_{кр}}{10}}$$

Температурный коэффициент скорости химической реакции (A), исходя из правил Вант-Гоффа, при увеличении температуры на 10 °С принят равным 2, $A=2$.

Следовательно, коэффициент соответствия (K) будет равен 8, таким образом, срок годности препарата (C) фитоглинол (экспериментальный образец) составил 480 суток, что соответствует 1 году хранения.

4.2 Токсикологическая оценка препарата

В данном разделе результаты исследования и их анализ опубликованы в виде научных статей в следующих изданиях: Ветеринарный фармакологический вестник. 2020 №4 (13). С. 38-50. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.4.38; Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2020. № 84. С. 266-273. DOI: 10.21515/1999-1703-84-266-273; Сборник научных трудов XIII международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию Донского государственного технического университета (Ростовского-на-Дону института сельхозмашиностроения), в рамках XXIII Агропромышленного форума юга России и выставки «Интерагромаш». Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса, 2020. – С. 680-682; Научные основы повышения продуктивности и здоровья животных. Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020. – Т.9. – № 1. – С. 362-365; Сборник научных трудов Национальной научно-практической конференции с международным участием. Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии. Кинель, 2021. С. 93-96.

4.2.1 Острая токсичность

Важным этапом фармакологической оценки новых лекарственных средств являются доклинические исследования, и, в первую очередь, острая токсикометрия, проводимая с целью определения переносимых доз препарата или его компонентов для установления границы токсических или летальных доз при возникновении токсического эффекта и причин наступления гибели животных.

Изучение острой токсичности проводилось в условиях вивария на лабораторных животных – белых нелинейных крысах и белых мышах обоего пола, клинически здоровых и ранее не подвергавшихся токсическому воздействию. Животные находились в специальных боксах в соответствии с правилами группового содержания и обеспечивались полноценным двухразовым питанием, состоящим из кормовой смеси (зерно бобовых и злаковых культур, сырые овощи, белый хлеб, витаминные добавки). Доступ к воде не ограничивался на протяжении всего исследовательского периода.

Интегральная оценка результатов острой токсикометрии препарата осуществлялась при различных способах введения – внутрижелудочном и внутримышечном, для чего было проведено две серии эксперимента. В первой серии параметры острой токсичности препарата определяли путем его однократного введения животным непосредственно в желудок с помощью металлического атравматического зонда в дозах, составляющих 5 мл для крыс и 0,5 мл для мышей (максимальные объемы, которые можно ввести белым лабораторным крысам с массой тела 210-240 г и белым мышам с массой тела 20-40 г).

Во второй серии острую токсичность препарата оценивали при его внутримышечном введении лабораторным животным в дозах, аналогичных внутрижелудочному введению (5,0 и 0,5 мл на животное).

Комплектация групп (n=6) проходила по принципу парных аналогов. Схема эксперимента представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Схема опыта по определению острой токсичности образца препарата на лабораторных животных (n=6)

Группа	Метод введения	Доза и объем введения
Белые крысы (средняя масса тела 215,6±11,0 г)		
1 опыт	Внутрижелудочно с помощью зонда	5,0 мл препарата на животное
2 контроль	Внутрижелудочно с помощью зонда	5,0 мл дистиллированной воды
3 опыт	Внутримышечно	5,0 мл препарата на животное
4 контроль	Внутримышечно	5,0 мл физиологического раствора
Белые мыши (средняя масса тела 23,5±2,8 г)		
1 опыт	Внутрижелудочно с помощью зонда	0,5 мл препарата на животное
2 контроль	Внутрижелудочно с помощью зонда	0,5 мл дистиллированной воды
3 опыт	Внутримышечно	0,5 мл препарата на животное
4 контроль	Внутримышечно	0,5 мл физиологического раствора

При введении препаратов внутрь, крыс и мышей фиксировали в вертикальном положении с запрокинутой головой, при этом зонд медленным вращением вводился непосредственно в желудок. При парентеральном введении исследуемый препарат после предварительной антисептической обработки кожи вводился однократно в заднебедренную группу мышц, контрольным группам лабораторных животных – физиологический раствор в эквивалентных дозировках.

Негативное действие препарата на организм оценивалось по степени его функциональной и поведенческой токсичности, проявляемой по числу погибших и выживших крыс и мышей, динамике развития симптомов отравления и реабилитации, а также по влиянию на клинический статус и особенности поведения лабораторных животных.

В первом случае, в течение 30-ти минут после введения растворов регистрировалось незначительное угнетение животных, как в опытных, так и контрольных группах, характеризующееся снижением подвижности. Подобная реакция обусловлена проведением манипуляций и значительным объемом вводимых веществ. Нарушений функциональной активности органов пищеварения и мочеотделения не наблюдалось. Кроме этого, у крыс и мышей опытных групп отмечались признаки сонливости и некоторой заторможенности, снижение частоты и глубины дыхательных движений, проходящие в течение 4-5 часов. В последующем, у животных поведенческая активность, нервно-мышечная возбудимость и реакции на внешние раздражители (прикосновение, постукивание по клетке), восстанавливались. Аппетит у животных опытных групп появился через 3 часа (белые крысы) и 2 часа (белые мыши) после внутрижелудочного введения препарата.

При внутримышечном способе введения у животных повышения местной температуры в области инъекции выявлено не было, отечность, геморрагическое воспаление и некроз мягких тканей не регистрировались. В течение 4 часов у крыс и мышей опытных групп отмечалась выраженная сонливость и заторможенность, снижение способности к активному вниманию при сохранении координации. Реакции на болевое и световое раздражение были сохранены, аппетит и жажда снижены.

Полная реабилитация функциональной и рефлекторной активности животных наблюдалась к 8-му часу проведения эксперимента, сохраняясь во все последующие дни исследования. Рефлексы, координация движений, физиологические параметры сердечного и дыхательного ритмов оставались в пределах референсных границ нормы. По показателям общего внешнего вида, шерстного покрова, видимых слизистых оболочек, отношению к воде и пище, подвижности, подопытные лабораторные животные не имели отличий от контрольных аналогов за весь период наблюдений. Летального эффекта ни в

одной их опытных групп за весь период наблюдения (14 дней) установлено не было, признаков острого токсического поражения не зарегистрировано.

В результате проведенных исследований установлено, что однократное внутрижелудочное и внутримышечное введение препарата в дозах токсического уровня для лабораторных животных – 5,0 мл и 0,5 мл на животное, не вызывало ни клинической картины токсикоза, ни гибели мышей и крыс, на основании чего среднесмертельную дозу (LD_{50}) для изучаемого лекарственного средства определить не удалось.

Таким образом, данные токсикометрии, а также наблюдения за подопытными лабораторными животными в постинтоксикационном периоде острого отравления, позволили установить, что по степени фактической безопасности изучаемый препарат может быть отнесен к 4-му классу опасности (вещества малоопасные), для которых диапазон доз LD_{50} при внутрижелудочном введении в опытах на крысах составил более 5000 мг/кг (ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества») (Ланец О.В. и соавт., 2020).

4.2.2 Субхроническая токсичность

Одним из основных направлений доклинических исследований нового лекарственного средства является возможность изучения патологических изменений организма при хронических токсических воздействиях, которое позволит характеризовать степень повреждающего действия фармакологических веществ при его длительном введении, выявит наиболее чувствительные органы и системы организма, степень обратимости вызываемых им повреждений.

Опыт по изучению субхронической токсичности препарата при внутримышечном способе введения проводился на белых нелинейных крысах обоего пола ($n=40$), сформированных в 4 группы по 10 животных в каждой. Подбор животных проводился с учетом физиологического состояния, возраста, массы тела.

Животные на момент эксперимента содержались в боксах, при раздельном размещении самцов и самок, на мягкой подстилке из опилок. Кормление крыс осуществлялось 2 раза в день сбалансированным кормом, содержащим зерно злаковых культур и витаминно-минеральный комплекс, поение обеспечивалось оборудованными автоматическими поилками.

Поскольку, при проведении исследований по оценке острой токсичности препарата среднесмертельная доза (ЛД₅₀) установлена не была, животным первой опытной группы была назначена дозировка, составляющая 1/10 от максимальной дозы, используемой в остром эксперименте – 0,5 мл на животное. Для второй опытной группы крыс использовалась доза, составляющая 1/20 от максимальной дозы или 0,25 мл, для третьей опытной группы – 1/50 от максимальной дозы или 0,1 мл на животное. Четвертая группа лабораторных крыс являлась биологическим контролем, получая в максимальных дозах физиологический раствор (0,5 мл/жив) (таблица 7).

Таблица 7 – Схема опыта по изучению субхронической токсичности препарата фитоглинол ($M \pm m$; $n=10$)

Группы	Масса тела, г	Доза введения, мл	Способ/место введения
1 – опыт	165,6±4,2	0,5	Внутримышечно, в заднебедренную группу мышц
2 – опыт	212,8±5,4	0,25	
3 – опыт	179,5±2,3	0,1	
4 – контроль	162,4±9,4	0,5	

Исследуемые препараты лабораторным животным вводили инсулиновыми шприцами со сменными иглами внутримышечно, ежедневно однократно на протяжении 28 дней (рисунок 6). Место введения, по правилам асептики и антисептики, обрабатывали дезинфицирующим средством – Асепталином.

Наблюдение за общим состоянием крыс опытных и контрольной групп осуществлялось ежедневно, с оценкой поведения, двигательных реакций, потребления корма и воды. Критериями возможного токсического эффекта от длительного применения препарата служили показатели состояния кожи, во-

лосяного покрова, видимых слизистых оболочек, характер и тип дыхания, состояние сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочевыделительной и нервной систем.



Рисунок 6 – Внутримышечное введение фитоглинола опытной крысе

Определение массы тела у всех животных проводили в динамике в начале опыта и затем каждые 10 дней. Кровь для морфо-биохимических исследований брали в конце опыта у пяти животных из каждой группы.

Результатами исследований установлено, что клиническое состояние животных первой опытной группы, получавшей максимальный объем препарата, характеризовалось умеренной сонливостью, некоторой заторможенностью и более слабым реагированием на внешние раздражители. При этом кормовые привычки были сохранены в полном объеме (потребление воды и пищи), слизистые оболочки ротовой полости и глаз имели бледно-розовый цвет, изменений со стороны дыхательной и сердечно-сосудистой систем установлено не было. Во второй и третьей опытных группах поведенческие реакции крыс отличались более выраженной активностью, тактильная чув-

ствительность нарушена не была, изменения мышечного тонуса (ослабление или повышение) не наблюдались. Аппетит и жажда были сохранены.

У всех крыс опытных групп изменений со стороны пищеварительной и мочевыделительной систем выявлено не было. Состояние шерстного покрова было удовлетворительным, загрязнений, выпадения шерсти и аллопеций не установлено.

Следует отметить, что в контрольной группе при введении физиологического раствора поведение крыс отличалось более выраженной агрессией, а сами животные – высокой активностью с сохранением всех рефлексов и поведенческих реакций.

Анализ динамики массы тела крыс (таблица 8) выявил наибольший прирост у животных второй опытной группы, который составил 14,6 г или 8,9 % относительно начальных показаний, прирост массы тела животных первой опытной группы составил 10,1 г (6,1 %). В группе крыс, получавшей наименьшую дозировку препарата и в группе контрольных аналогов, значения прироста массы тела были одинаковыми, составляя 5,5 % и 5,4 % к фону.

Таблица 8 – Динамика массы тела белых крыс при внутримышечном введении препарата фитоглинол ($M \pm m$; $n = 10$)

Группы	Масса тела, г				Прирост за период исследований	
	фон	10 день	20 день	28 день	г	%
1 – опыт	165,6±4,2	165,8±3,8	169,8±2,8	175,7±4,2	10,1±0,48	6,1
2 – опыт	162,8±5,4	170,1±4,1	175,6±4,3	177,4±5,4	14,6±0,93	8,9
3 – опыт	169,5±2,3	168,2±3,5	172,9±1,7	178,9±3,4	9,4±0,57	5,5
4 – контроль	167,4±9,4	169,4±4,1	172,1±2,6	176,5±3,8	9,1±0,62	5,4

Таким образом, несмотря на ежедневные манипуляции, связанные с фиксацией, внутримышечным введением препаратов и микротравмированием мягких тканей подопытных животных, отклонений в потере массы тела крыс выявлено не было.

Для оценки морфо-биохимических показателей крови лабораторных животных в конце опытного периода из каждой группы с соблюдением принципов биоэтики из эксперимента выводили по 5 крыс, у которых из сердечной мышцы производился забор крови.

По данным морфологического анализа крови установлено, что межгрупповые колебания показателей в уровне эритроцитов первой, второй опытных групп и группы контроля были незначительными, составляя 1,6-3,4 %. И только в третьей опытной группе количество эритроцитов было несколько выше (на 7,3-11,0 %), сохраняясь, тем не менее, в рамках физиологических значений. Аналогичная ситуация наблюдалась и при определении числа лейкоцитов, которые в пределах референсных показателей были снижены на 5,7 % только у крыс первой опытной группы (таблица 9).

Таблица 9 – Влияние препарата фитоглинол на морфологические показатели крови крыс в субхроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1 опытная (1/10)	2 опытная (1/10)	3 опытная (1/10)	4 группа (контроль)
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,82±0,24	6,71±0,31	7,45±0,18*	6,94±0,45
Лейкоциты, $10^9/л$	8,3±0,33	8,8±0,47	8,6±0,12	8,8±0,56
Тромбоциты, $10^9/л$	518,4±32,5	425,1±24,1	574,0±40,3	658,5±29,7
Гемоглобин, г/л	118,6±4,25	120,5±6,11*	124,4±2,37	119,3±5,42
Цветовой показатель, ед.	1,12±0,03	1,16±0,07	1,08±0,1	1,11±0,08
Средний объем эритроцита, фл	51,3±1,02	45,6±0,97	40,8±2,17	47,6±1,15
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	17,8±0,54	18,4±0,27	18,7±0,43	17,9±0,56
Средний объем тромбоцитов, фл.	5,7±0,5	6,3±0,3	5,8±0,2	6,7±0,7
Тромбокрит, %	0,29±0,01	0,31±0,03	0,25±0,02	0,3±0,05

Степень достоверности: * $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

В контрольной группе животных отмечалось некоторое повышение тромбоцитов при одновременной неравномерности распределения данного показателя между группами опытных крыс. Его наименьшая концентрация выявлялась во второй группе – $425 \pm 24,1 \times 10^9/л$, что в процентном отношении

было ниже значений первой и третьей опытных групп на 17,8 и 25,9 % соответственно. Уровень гемоглобина по всем группам был снижен, сохраняя, тем не менее, прямую корреляцию с содержанием эритроцитов. Подобное снижение мы не можем отнести к токсическому эффекту вводимого препарата, поскольку различия во всех группах, включая контрольную, не зависели ни от дозы, ни от состава вводимых растворов. Скорее всего, это было обусловлено возрастными физиологическими особенностями молодняка животных, участвующих в эксперименте, поскольку, значения цветового показателя во всех группах были на уровне верхней границы нормы, характеризую высокую насыщенность эритроцитов гемоглобином у подопытных животных (Горизонтов П.Д., 1983).

По остальным показателям значения животных всех групп были в пределах видовой нормы.

Изучение лейкоцитарной формулы и клеточного состава белой крови подопытных крыс выявило недостоверное увеличение процентного содержания эозинофилов в первой опытной группе и группе контрольных аналогов. Остальные определяемые показатели во всех группах были сопоставимы между собой и находились в пределах видовой нормы животных (таблица 10).

Таблица 10 – Влияние препарата фитоглинол на состав клеток белой крови крыс в субхроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1 опытная (1/10)	2 опытная (1/20)	3 опытная (1/50)	4 группа (контроль)
Лейкоформула, %:				
Эозинофилы	6,6±0,25	2,6±0,11	4,3±0,32	6,1±0,48
Нейтрофилы палочкоядерные	2,4±0,06	3,1±0,09	2,2±0,07	2,8±0,05
Нейтрофилы сегментоядерные	29,3±1,0	30,0±1,24	30,3±0,96	25,8±0,73
Лимфоциты	60,1±3,5	62,4±5,1	60,8±4,3	63,2±1,9
Моноциты	1,6±0,04	1,9±0,03	2,4±0,05	2,1±0,07

Результатами биохимического исследования подопытных крыс выявлен ряд изменений гомеостаза крови, и, в первую очередь, показателей бел-

кового обмена (таблица 11). Концентрация общего белка в опытных группах, независимо от дозы введенного препарата, превышала значения контрольных крыс на 7,2; 7,8 и 10,3 % соответственно. Аналогичная картина прослеживалась и по уровню мочевины, межгрупповые различия которой в сравнении с контролем составили 5,4; 16,2 и 17,6 %.

Уровень глюкозы наиболее высоким был в первой опытной группе – $7,6 \pm 0,31$ мМ/л, превышая значения опытных крыс других групп на 34,5 и 23,2 %. Различия с контрольной группой составили 16,7 %. Однако достоверности по данному показателю в первой опытной группе установлено не было, к тому же повышение отмечалось в рамках референсных границ и служить прогностическим показателем действия препарата не может.

Таблица 11 – Влияние препарата фитоглинол на биохимические показатели крови крыс в субхроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1 опытная (1/10)	2 опытная (1/20)	3 опытная (1/50)	4 группа (контроль)
Общий белок, г/л	80,1 \pm 4,3	80,5 \pm 5,4	82,4 \pm 3,11*	74,7 \pm 6,2
Мочевина, мМ/л	7,8 \pm 0,94	8,6 \pm 0,53	8,7 \pm 0,86*	7,4 \pm 0,52
Холестерин, мМ/л	1,84 \pm 0,07	1,6 \pm 0,81	1,51 \pm 0,09	1,0 \pm 0,73
Глюкоза, мМ/л	7,6 \pm 0,31	5,65 \pm 0,28	6,17 \pm 0,62	6,51 \pm 0,74
АлАт, Ед/л	34,3 \pm 1,2	27,3 \pm 0,9	40,1 \pm 2,0	31,9 \pm 1,4
АсАт, Ед/л	133,6 \pm 5,4	121,3 \pm 3,7	128,6 \pm 4,2	141,5 \pm 6,7
Креатинин, мМ/л	38,6 \pm 0,6	43,6 \pm 0,47	55,19 \pm 1,02	46,6 \pm 0,9
Билирубин, мМ/л	5,9 \pm 0,5	5,2 \pm 0,4	6,4 \pm 0,35	5,54 \pm 0,7
Кальций мМ/л	2,1 \pm 0,08	2,25 \pm 0,03	2,01 \pm 0,05	1,68 \pm 0,07
Фосфор, мМ/л	1,67 \pm 0,05	1,68 \pm 0,09	1,60 \pm 0,04	1,77 \pm 0,08
Амилаза, Ед/л	599,6 \pm 12,6	638,2 \pm 9,75	602,4 \pm 10,3	621 \pm 11,2
Щелочная фосфатаза, Ед/л	477,3 \pm 8,4	350,6 \pm 6,5	562,0 \pm 7,3	487,1 \pm 5,2

Степень достоверности: * $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

Определенные сдвиги наблюдались в показателях ферментной активности и, в частности, аспартатаминотрансферазы, которая была увеличена во всех группах (в среднем, на 10,3-28,6 %), однако данное повышение мы рассматриваем как результат появления в сыворотке фермента АсАТ мышечной

ткани, обусловленного множественными травмами мягких тканей заднебедренных мышц. По уровню щелочной фосфатазы повышение отмечалось только в третьей опытной группе, причем, в сравнительном аспекте с показателями крови крыс других подопытных групп и в рамках физиологических значений.

Все остальные значения биохимических показателей крови крыс по группам находились в диапазоне видовой нормы и существенных различий не имели.

На 30 день экспериментального периода из опыта методом усыпления диэтиловым эфиром было выведено по пять животных из каждой группы с последующим вскрытием, наружным осмотром, макроскопическим исследованием, взвешиванием и определением абсолютной массы внутренних органов. При наружном осмотре тел и макроскопическом исследовании внутренних органов лабораторных крыс видимых изменений кожного покрова и нарушений анатомического строения органов не выявлено, отеки, инфильтраты, некрозы тканей на месте инъекционного введения препарата не обнаружены.

При вскрытии брюшной и грудной полости изменения конфигурации внутренних органов, жидкость не выявлены. Плевра и брюшина гладкая, блестящая, без видимых изменений (рисунок 7).



Рисунок 7 – Отсутствие нарушений в расположении внутренних органов подопытных крыс

Легкие бледно-розового цвета, местами с кровоизлияниями темно-вишневого цвета. Просвет бронхов и трахеи свободный.

Сердце правильной формы, не увеличено, без наложений и изменений.

Желудок правильной формы и размера, поверхность гладкая, в просвете желудка обнаруживается жидкость светло-коричневого цвета, тонкий и толстый кишечник на всем своем протяжении без видимых изменений, выпячиваний стенок, наложений, деформации не обнаружено, просвет тонкого кишечника заполнен содержимым темно-коричневого цвета, толстый кишечник каловыми массами.

Печень не увеличена, форма не изменена, консистенция плотная, капсула не напряжена, прозрачная, окраска органа однородная, при разрезе рисунок сохранен.

Селезенка темно-вишневого цвета, капсула не напряжена, не увеличена, при разрезе рисунок сохранен, консистенция рыхлая.

Почки бобовидной формы, не увеличены, капсула плотная, поверхность гладкая, ровная без наложений и изменений, на разрезе мозговое и корковое вещество четко разделяется.

Органы размножения – яичники, матка, семенники не отличались по размерам, без видимых изменений.

В некоторых случаях в органах подопытных животных обнаруживались индивидуальные морфологические особенности, не выходящие за рамки особенностей, обычно наблюдаемых у интактных крыс.

Извлеченные органы были взвешены, масса внутренних органов крыс представлена в таблице 12.

Установлено, что относительная масса внутренних органов крыс опытных групп существенно не отличались от массы внутренних органов крыс контрольной группы. Однако в первой опытной группе установлено достоверное снижение средних весовых показателей таких органов, как сердце, селезенка и почки. Различия по массе сердечной мышцы относительно весовых значений животных второй и третьей опытных групп составили 31,08 и

32,0 %. Относительно группы контроля, это снижение было минимальным – 12,0 %.

Таблица 12 – Масса внутренних органов крыс после длительного введения препарата фитоглинол ($M \pm m$; $n=5$)

Внутренние органы	Масса органа, г			
	1 опытная (1/10)	2 опытная (1/10)	3 опытная (1/10)	4 группа (контроль)
Сердце	0,51±0,04	0,74±0,4	0,75±0,05	0,58±0,04
Печень	5,62±0,3	5,83±0,8	5,39±0,4	5,74±0,4
Селезенка	0,80±0,1	0,91±0,08	1,05±0,05	1,04±0,08
Легкие	1,48±0,02	1,71±0,1	1,46±0,04	1,45±0,07
Почки	1,05±0,07	1,84±0,12	1,52±0,08	1,68±0,1

Масса селезенки с первой опытной группе была ниже аналогичных органов других групп, включая группу контроля, на 12,1 % (вторая опытная), 23,8 % (третья опытная) и на 23,1 % (контрольная) соответственно. Весовые показатели почек по этой группе были снижены на 42,9, 30, 9 и 37,5 % соответственно. Однако достоверности ни по одному из выявленных значений установлено не было. Можно предположить, что длительное внутримышечное введение препарата в максимальной субтоксической суммарной дозировке оказывает угнетающее влияние на некоторые органы-мишени. По другим опытным группам дозовая зависимость не просматривалась или была слабой (Ланец О.В. с соавт., 2020).

4.2.3 Влияние препарата на патоморфологию внутренних органов лабораторных животных при длительном введении

Для выявления корреляционных связей между весовыми характеристиками органов подопытных крыс и их функциональной активности, было проведено гистологическое исследование участков данных органов, при котором учитывалось наличие структурных изменений в паренхиме внутренних орга-

нов. При гистологическом исследовании органов животных первой опытной группы обнаружены следующие изменения:

в печени – выявляются мелкие единичные очаги нарушения архитектоники органа со смазанной выраженностью долек и отдельные очаги жировой дистрофии гепатоцитов без патогистологических признаков гепатоза (мелкие капли образования липидов) (рисунок 8);

в ткани почек – эпителиоциты набухшие, с выраженным просветлением цитоплазмы, ядра эпителиоцитов смещены к базальной мембране канальцев; имеются очаги с мелкими капельками жира в эпителии клубочкового слоя (рисунок 9);

в сердце – эндокард, миокард и эпикард без патологий, продольная исчерченность четко просматривается, в центре клеток располагаются ядра овальной формы с мелкодисперсным хроматином;

в селезенке – нарушение структуры органа, в красной пульпе отмечена лимфоидная пролиферация (рисунок 10);

в легких – ткань не изменена, без патологий.

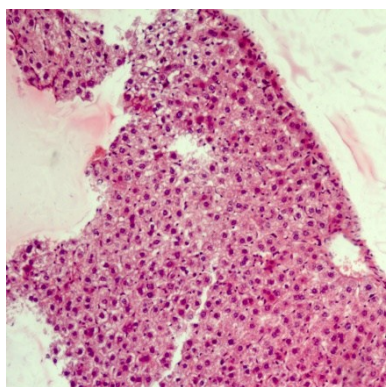


Рисунок 8 – Очаг жировой дистрофии гепатоцитов

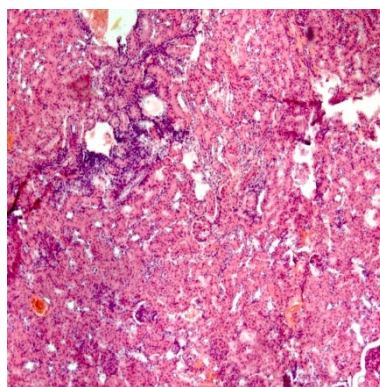


Рисунок 9 – Проплиферация почек

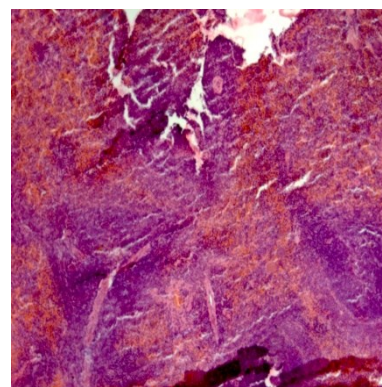


Рисунок 10 – Проплиферация лимфоцитов в селезенке

Гистологическое исследование срезов органов лабораторных крыс второй опытной группы выявило следующие изменения:

в дольках печени – венозная гиперемия, характеризующаяся переполнением центральных вен и синусоидных капилляров, зернистая дистрофия гепатоцитов (рисунок 11, 12);

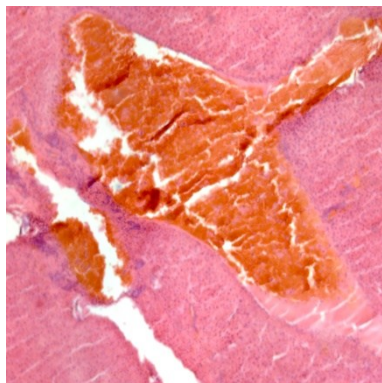


Рисунок 11 – Переполнение
центральных вен печени

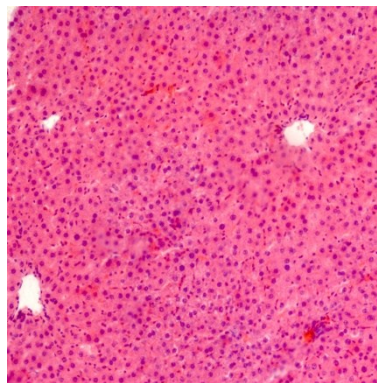


Рисунок 12 – Зернистая
дистрофия гепатоцитов

в почках – гиперемия сосудов микроциркуляторного русла;
сердце, селезенка, легкие – без патологий.

При гистологическом исследовании срезов органов лабораторных крыс третьей опытной группы установлены следующие изменения:

в ткани печени – на отдельных участках срезов контуры клеток не четкие, имеется участок с начальной стадией некроза, наблюдаются участки лимфоидной пролиферации (рисунок 13);

в почках – негнойное очаговое воспаление канальцев и клубочков;

в легких – в просвете альвеол и бронхиол встречается экссудат из нейтрофильных гранулоцитов, в ткани легкого выявляются гранулемы (рисунок 14);

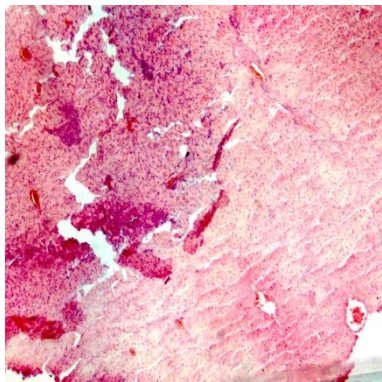


Рисунок 13 – Начальная
стадия некроза гепатоцитов

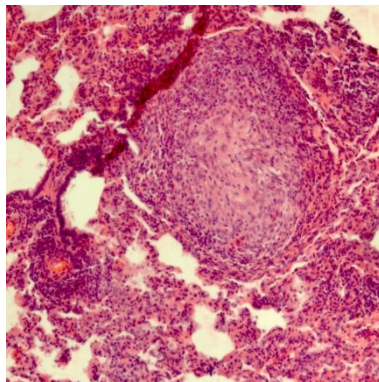


Рисунок 14 – Гранулема в
ткани легкого

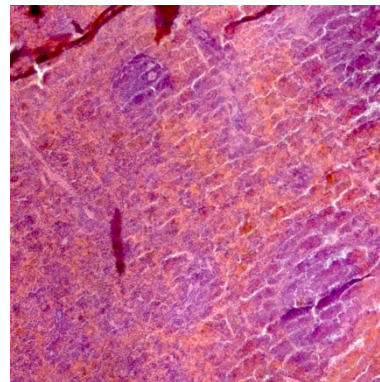


Рисунок 15 – Селезенка
норма

селезенка – имеет классическую гистоархитектонику; от капсулы внутрь отходят трабекулы, содержащие соединительнотканнные и гладкомышечные клетки, а также трабекулярные артерии и вены; структура представ-

лена ретикулярной тканью, трабекулярным аппаратом, красной и белой пульпой; фолликулы белой пульпы содержат слабо выраженные светлые центры; мантийная и маргинальная зоны фолликулов сформированы в большинстве своем малыми лимфоцитами, имеется небольшая пролиферация клеток лимфоидного ряда; красная пульпа содержит ретикулярную ткань, небольшое количество малых лимфоцитов, эритроциты, плазматические клетки и макрофаги (рисунок 15);

сердце – без патологий, четко просматривается продольная исчерченность, в центре клеток располагаются ядра овальной формы с мелкодисперсным хроматином.

Гистологическими исследованиями срезов тканей животных контрольной группы установлено:

в печени – гистоархитектоника ткани сохранена, междольковая соединительная ткань формирует слабо выраженные дольки; в большинстве срезов ткани печени в гепатоцитах встречаются ацидофильные мелкие включения, имеются небольшие очаги лизиса гепатоцитов и зернистая дистрофия (рисунок 16);

в почках – очаговое негнойное воспаление клубочкового аппарата, гломерулонефрит (рисунок 17);

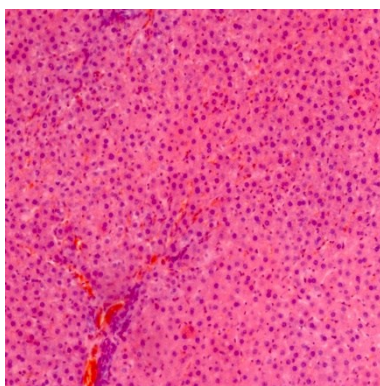


Рисунок 16 – Зернистая дистрофия печени

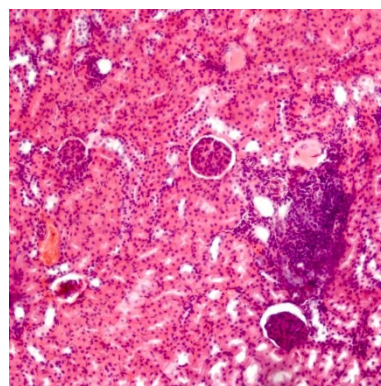


Рисунок 17 – Проплиферация в почках, гломерулонефрит

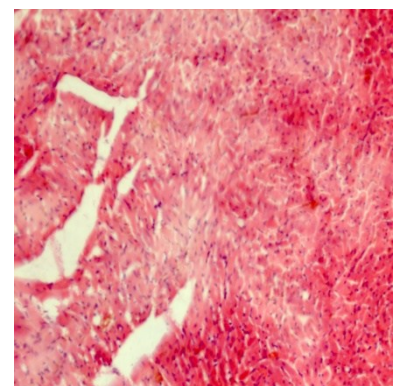


Рисунок 18 – Ишемия миокарда

в легких – в просвете альвеол имеется экссудат из нейтрофильных лейкоцитов, в селезенке – патологий не выявлено; в сердце – стаз в капиллярах,

очаги с лизисом ядер кардиомиоцитов и распадом их миоплазмы, признаки ишемии (рисунок 18).

Таким образом, умеренные морфологические изменения были отмечены в каждой группе крыс, включая контрольную, в одном или нескольких органах. В целом органы-мишени (печень, почки, сердце) у опытных и контрольных животных были аналогичными. Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное внутримышечное введение лабораторным крысам препарата в различных субтоксических дозах не вызывает токсической нагрузки на их организм.

4.2.4 Влияние на пищеварение и мочеотделение

Оценка функционального состояния почек под влиянием препарата фитоглинол осуществлялась по физико-химическим свойствам, диурезу и биохимическим показателям урины кроликов. Для проведения эксперимента были использованы 10 кроликов с массой тела 2,8-3 кг, разделенных на 2 группы по 5 в каждой. Опытной группе животных фитоглинол вводился внутримышечно в дозе 0,5 мл 1 раз в сутки в течении 14 дней. Вторая группа кроликов была отнесена к биологическому контролю, которым в качестве фармакологического средства внутримышечно в течение двух недель инъецировался физиологический раствор в эквивалентной фитоглинолу дозе.

Моча от исследуемых животных собиралась на протяжении всего опыта с интервалом 7 суток – на 7 и 14 дни эксперимента, а также через неделю после прекращения введения препарата фитоглинол (для оценки возможных последствий, обусловленных деструктивными изменениями в органах мочеобразования и мочевыведения). Способ забора мочи у животных производился следующим образом: предварительно каждому животному из группы осуществлялась принудительная выпойка из шприца 20 мл воды для вызова скорого диуреза, затем в чистые стерильные лотки происходила индивиду-

альная отсадка кроликов, где по прошествии определенного времени выделенная моча собиралась шприцем.

При лабораторных исследованиях в моче определяли цвет, консистенцию, запах, удельный вес, концентрацию водородных ионов. Содержание белка, углеводов, гемоглобина, желчных пигментов выявляли помощью тест-полосок УРОПОЛИАН-ХН для биохимического анализа мочи фирма производитель ООО «Биосенсор АН».

Установлено, что в обеих группах акты мочеиспускания у животных были регулярными, безболезненными, в естественной позе. Моча имела специфический запах, водянистую консистенцию с небольшой мутностью, цвет – от светло-желтого до светло-молочного. Показатели концентрации водородных ионов составляли от 8,5 до 8,7, удельный вес – от 1,014 до 1,018. Кровь, слизь, хлопья в моче не выявлялись, белок, желчные пигменты, билирубин и уробилиноген, углеводы и глюкоза отсутствовали (таблица 13).

Таблица 13 – Динамика изменений показателей общего анализа мочи кроликов ($M \pm m$; $n=3$)

Показатели	Дни эксперимента					
	7-й день		14-й день		21-й день	
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
Цвет	св-желт.	св-молоч.	св-молоч	св-желт	св-молоч	св-желт
Консистенция	водянистая	водянистая	водянистая	водянистая	водянистая	водянистая
Запах	спец.	спец.	спец.	спец.	спец.	спец.
Удельный вес	1,018±0,03	1,018±0,02	1,015±0,02	1,018±0,01	1,016±0,03	1,014±0,01
pH, ед. pH	8,6±0,11	8,7±0,33	8,5±0,09	8,6±0,07	8,6±0,08	8,7±0,06
Белок	отрицательная					
Глюкоза	отрицательная					
Кетоновые тела	отрицательная					
Гемоглобин	отрицательная					
Билирубин	отрицательная					
Уробилиноген	отрицательная					

Таким образом парентеральное введение фитоглинола лабораторным животным не вызывает нарушения диуреза, реабсорбции и клубочковой фильтрации почек.

Одновременно на этих же группах животных при аналогичной схеме и дозах введения препарата фитоглинол проводилась оценка его влияния на активность пищеварительной системы, тестируемой по физико-химическим свойствам фекалий.

Следует учитывать, что у кроликов физиологически образуются два типа каловых масс – собственно сами каловые шарики и цекотрофы, представляющие собой маленькие блестящие образования, склеенные слизью и издающие специфический сильный запах. Кролики, являясь копрофагами, поедают цекотрофы, в составе которых содержится большое количество органических кислот и витаминов, синтезируемых микрофлорой слепой кишки в процессе переваривания пищи, поэтому их наличие можно выявить только в утренние часы, и то не всегда. Поэтому для исследования мы отбирали только каловые шарики, которые у животных обеих групп представляли собой маленькие круглые сухие образования коричневого цвета, обращая внимание на акты дефекации.

Физико-химические свойства кала (таблица 14) изучали путем определения водородного показателя с помощью индикаторных полосок.

Наличие билирубина в каловых массах определяли пробой Фуше, следы крови – бензидиновой пробой, желчные пигменты – пробой Терквея. Микроскопией исследовали наличие клетчатки, крахмала, детрита, лейкоцитов, яйца простейших и гельминтов.

Установлено, что испражнение у животных происходило в естественной позе, безболезненно, регулярно. Кислотность фекалий варьировала в пределах 6,2-6,4.

Таблица 14 – Физико-химические свойства кала ($M \pm m$; $n=3$)

Показатели	Дни эксперимента					
	7-й день		14-й день		21-й день	
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
Цвет кала	темно-кор.	темно-кор.	темно-кор.	темно-кор.	темно-кор.	темно-кор.
Консистенция, форма кала	Оформленный, плотный					
Запах	Характерный, специфический					
Примеси	Присутствуют, в соответствии с характером кормления					
pH, ед.	6,2±0,02	6,3±0,03	6,3±0,02	6,3±0,01	6,4±0,02	6,3±0,03
Эритроциты	отсутствуют					
Лейкоциты	отсутствуют					
Крахмал	отсутствует					
Клетчатка	единичные					
Желчные пигменты	отсутствуют					
Скрытая кровь (гемоглобин)	отсутствует					
Дрожжевые грибки	отсутствуют					
Яйца гельминтов	отсутствуют					
Цисты простейших	отсутствуют					

В результате проведения специфических тестов желчные пигменты выделены не были, следы крови в виде гемоглобина отсутствовали. При микроскопии фекалий от кроликов обеих групп в большом количестве обнаруживался детрит растительного происхождения при отсутствии непереваримой клетчатки и крахмала. Лейкоциты, эритроциты, дрожжевые грибки, яйца гельминтов и цисты простейших не выявлялись.

Таким образом, длительное введение фитоглинола отрицательного воздействия на органы пищеварительной системы не вызвало.

4.2.5 Раздражающее и аллергизирующее действие препарата

Исследования аллергенности препарата выполняли на морских свинках с массой тела 320-345 г и кроликах породы Калифорнийской с массой тела 2,2-2,5 кг. Раздражающие и аллергизирующие свойства фитоглинола изучали на двух моделях: с помощью накожных аппликаций и конъюнктивальной пробы, которые являются чувствительными тестами и позволяют выявить аллергическую реакцию животных.

В рамках проведения первой модели было сформировано две группы по 3 животных в каждой группе: I группа – опыт, на которой проводилось тестирование, II группа – биологический контроль.

В первой серии при использовании метода накожных аппликаций опытной группе морских свинок одноразовым шприцом без иглы на депилированную боковую поверхность тела, ближе к середине туловища равномерным слоем на весь участок аппликации, слегка втирая, наносился препарат в объеме 0,3 мл. Контрольной группе животных аналогичным способом на депилированную поверхность кожи наносили физраствор в тех же дозах. Длительность и кратность нанесения составила две недели по 5 раз в неделю (рисунок 19). Реакцию кожи учитывали ежедневно по шкале оценки кожных проб (таблица 15).



Рисунок 19 – Нанесение препарата на кожу морской свинки

Таблица 15 – Оценочная шкала кожной реакции на препарат

Оценочная шкала (балл)	Опытная группа	Контрольная группа
Видимой реакции нет (0)	+	+
Бледно-розовая эритема по всему участку или по его периферии (1)	–	–
Ярко-розовая эритема по всему участку или его периферии (2)	–	–
Красная эритема по всему участку (3)	–	–
Инфильтрация и отек кожи (утолщение кожной складки) при наличии или отсутствии эритемы (4)	–	–
Эритема, выраженная инфильтрация, очаговые изъязвления (некроз), возможны геморрагии, образование корочек (5)	–	–

В ходе исследований не выявлено видимого местного раздражающего действия препарата на кожные покровы морских свинок. В местах нанесения препарата развития эритемы, инфильтрации и отека кожи, геморрагического воспаления и десквамации эпителия не установлено. При пальпации депилированной зоны животные не проявляли беспокойства и дискомфорта. На всем протяжении исследований рефлексы морских свинок были сохранены, нарушения функциональной активности органов и систем не выявлялись, общее состояние оценивалось как удовлетворительное.

Таким образом, нанесение препарата на кожные покровы лабораторных животных не вызывает у них развития контактного дерматита.

Конъюнктивальная проба на возможный аллерген позволяет выявить реакцию при слабой алергизации и отрицательных кожных тестах.

Во второй серии раздражающие свойства препарата оценивали по его действию на слизистые оболочки животных, для чего 3 кроликам под верхнее веко одного глаза пипеткой вводили по одной капле препарата (рисунок 20). Во второй глаз аналогичным способом вводилось по одной капле дистиллированной воды. После внесения растворов у внутреннего угла глаза кролика на минуту прижимался слезоносовой канал.



Рисунок 20 – Внесение препарата под верхнее веко кролика



Рисунок 21 – Отсутствие признаков поражения слизистой глаза кролика после введения препарата

Реакцию учитывали через 15 мин (быстрая реакция) и через 24-48 ч (гиперчувствительность замедленного типа), оценивая ее по следующей шкале (в баллах): 1 – легкое покраснение слезного протока; 2 – покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице; 3 – покраснение всей конъюнктивы и склеры (рисунок 21, таблица 16).

Таблица 16 – Оценочная шкала кожной реакции на препарат

Оценочная шкала (балл)	Опытная группа	Контрольная группа
Легкое покраснение слезного протока (1)	–	–
Покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице (2)	–	–
Покраснение всей конъюнктивы и склеры (3)	–	–

В ходе исследования установлено, что контакт препарата со слизистыми оболочками глаза животных не сопровождается гиперемией, зудом, слезотечением, развитием офтальмита.

В обоих случаях при оценке аллергенности были получены отрицательные результаты, что указывает на то, что препарат не обладает местным аллергическим и раздражающим действием.

4.2.6 Эмбриотоксическое и тератогенное действие

Важным этапом в процессе доклинических токсикологических исследований препарата фитоглинол является изучение репродуктивной токсичности фармакологических веществ. При изучении эмбриотоксичности оценивается способность веществ оказывать токсическое действие на развивающиеся эмбрионы и плоды.

Эмбриотоксическое действие фитоглинола оценивалось на репродуктивных самках белых нелинейных крыс со средней массой тела 180-196 г. Предварительно, перед постановкой эксперимента у самок, достигших половой зрелости, были исследованы вагинальные мазки для установления стадии эстрального цикла с последующим отбором в группы (n=10) и спариванием с самцами (из расчета 1 самец на 3-4 самки). Беременность считалась установленной при обнаружении сперматозоидов в вагинальных мазках крыс.

В опыте использовались 2 дозы исследуемого препарата фитоглинол: в 1 опытной группе – 0,25 мл/животное, во 2 – 0,5 мл/животное, которые вводили внутримышечно в 1 и 6 дни после наступления оплодотворения (доимплантационный период), далее – на 10 день беременности (период органогенеза) и затем – на 16 день беременности (период фетогенеза). Опытной группе самок в той же последовательности вводили внутримышечно 0,5 мл/животное физиологического раствора.

На всем периоде плодношения у самок оценивалось клиническое состояние и поведенческие реакции, потребление пищи, акты дефекации, а также гравиметрические показатели массы тела (рисунок 22).

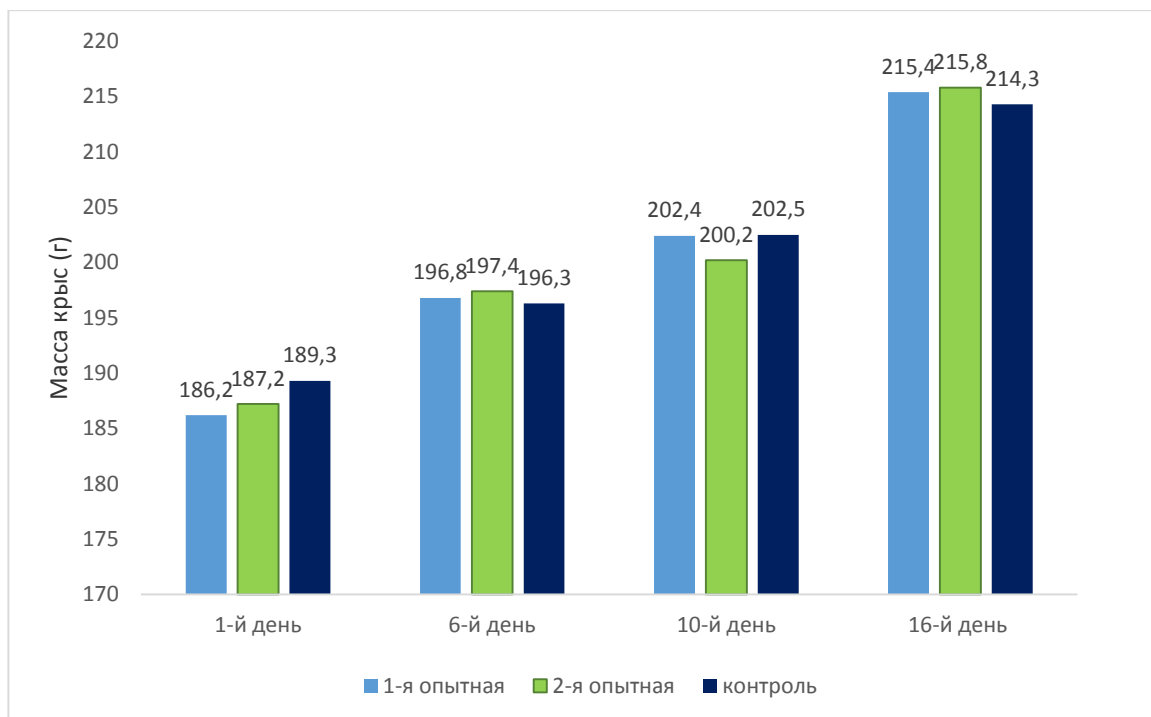


Рисунок 22 – Влияние фитоглинола на динамику массы тела беременных самок крыс

Из результатов диаграммы установлено пропорциональное нарастание массы тела беременных самок, обусловленное развитием плодов, независимо от вводимых препаратов и доз.

Наблюдение за общим состоянием, поведением, аппетитом патологических изменений не выявило.

На 18-20 день плодношения для оценки эмбриотоксического действия, по пять беременных крыс из каждой группы были подвергнуты эвтаназии с последующим вскрытием, проходившим по всем принципам биоэтики. При патологоанатомическом исследовании оценивалось состояние матки, плаценты, плодов, количество желтых тел в яичниках, непосредственно количество живых и мертвых плодов (Востроилова Г.А. и др., 2020). У оставшихся крыс роды проходили естественным образом на 22-24-й день плодношения, у них учитывалась продолжительность беременности, количество особей в помете, вес, длина тела новорожденных, наличие уродств, аномалий развития, выживаемость крысят и соотношение самцов и самок в помете. Наблюдения за молодняком проводились в течении 21 суток, после родов

оценивалось увеличение длины и прибавка в весе крысят за данный промежуток, раскрытие глаз, степень физического развития.

Параметры оценки эмбрио- и фетотоксического действия препарата фитоглинол представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты исследования эмбриотоксического и тератогенного действия фитоглинола (n=10)

Параметры	1 опытная	2 опытная	Контрольная
Эмбриотоксическое действие			
Количество желтых тел на одну самку	10,4±0,4	10,8±0,8	10,9±0,5
Количество мест имплантации на одну самку	10,2±0,4	10,6±0,4	10,6±0,6
Количество живых эмбрионов на одну самку	9,7±0,8	9,7±0,7	9,5±0,4
Число мертвых эмбрионов на одну самку	0,5±0,2	0,6±0,2	0,7±0,3
Эмбриональная смертность, %	6,8±0,8	10,3±0,9	13,2±0,7
Постимплантационная гибель, %	66,6±1,4	97,1±2,6	124,5±2,5
Доимплантационная гибель, %	1,9±0,4	1,85±0,7	2,7±0,9
Средняя масса эмбриона, мг	868,4±17,5	870,4±18,6	869,7±16,3
Средний размер туловища эмбриона, мм	24,8±0,4	25,4±0,4	25,3±0,8
Тератогенное действие			
Число новорожденных крысят на самку	9,4±0,8	9,8±0,5	9,5±0,8
Средний вес крысенка, мг	6074,2±124,3	6058,3±127,3	6062,4±132,4
Средняя длина туловища крысенка, мм	45,4±0,4	45,7±0,3	45,1±0,8
Аномалии развития внутренних органов и скелета, врожденные уродства	–	–	–

При статистической обработке за единицу измерения принимался помет, полученный при вскрытии одной самки, где предимплантационная смертность или гибель зигот составляет разность между количеством желтых тел яичников и количеством мест имплантации в матке, выраженная в процентах. Постимплантационная гибель представляет разницу между количеством мест имплантации и количеством живых эмбрионов в процентах, и общая эмбриональная смертность выражается разностью между числом желтых тел беременности и живыми плодами от числа желтых тел в яичниках. (Ческидова Л.В. с соавт., 2016).

В результате исследований эмбриотоксического действия фитоглинола при подсчете количества живых и мертвых эмбрионов, желтых тел, сравнения масс и длины плодов, плацент, оценке состояния матки существенных различий, статистически значимых отклонений в опытных группах и группе контроля выявлено не было.

Фетотоксическое действие препарата выражалось в оценке новорожденных особей их средней массы, длины и аномалий развития, изменений в структуре внутренних органов, развитии плодов, где в опытных и контрольной группах патологий не отмечалось.

В процессе наблюдения за новорожденными крысятами в течение 21 дней статистически значимых различий в физиологическом развитии по оценке открытию глаз, отлипанию ушей, прорезыванию резцов, появлением первичного волосяного покрова, как в опытных, так и контрольной группе наблюдалось без патологий.

Следовательно, можно сделать заключение о том, что препарат фитоглинол не оказывает отрицательного влияния на эмбриональное развитие и ранний постнатальный период новорожденных лабораторных животных (Ланец О.В. и соавт., 2021).

4.2.7 Ветеринарно-санитарная оценка качества продуктов убоя после применения фитоглинола

Влияние фитоглинола на качество продуктов убоя изучено с целью установления возможности дальнейшего использования мяса и мясопродуктов животных в пищу человека после применения препарата.

В ходе завершающего этапа опыта по изучению препарата фитоглинол на мочеотделение и пищеварение у кроликов, через сутки после окончания эксперимента была проведена оценка ветеринарно-санитарного качества мяса животных, для чего из опытной и контрольной группы было отобрано по 2 кролика для дальнейшего убоя. Ветеринарно-санитарную экспертизу мяса проводили после съёмки шкурки и нутровки (Козлова Е.В., 2019, Боровков М. Ф., 2010). Качество мяса кроликов, методы отбора образцов, химического и микроскопического анализа мяса оценивалось по ГОСТ 20235.0 – 74 Мясо кроликов. Первым этапом явился предубойный осмотр тушек животных, в ходе которого не было выявлено анатомических нарушений. Осмотр тушек позволил отнести мясо кроликов к первой категории.

По прошествии 48 часов после убоя было проведено исследование органолептических и биохимических показателей мяса по следующим параметрам: внешний вид, запах, цвет, консистенция, соотношение мышечной и жировой ткани, качество сваренного бульона, концентрация водородных ионов, реакция на пероксидазу, содержание аммиака в мясе (Веремеева С.А., 2011).

В ходе исследования установлено, что на поверхности мясо кроликов было бледно-розового цвета, без кровоподтеков, припухлостей, с легким блеском. Разрез проводился в области заднебедренной мышцы, где цвет мяса определялся как светло-розовый, поверхность мяса была умеренно-влажной, кровь на поверхности разреза отсутствовала, что говорит о хорошей обескровленности тушек. Поверхность мяса имела неровную зернистую структуру со специфическим ароматным запахом и прозрачным соком. Развитие мышц – умеренное, рисунок сохранен, абсцессы, некротизация тканей, гемо-

стазы и кровоизлияния отсутствовали, поверхностные лимфатические узлы были без видимых изменений.

При дегустации бульона и мяса было установлено отсутствие посторонних примесей, запах проб бульонов отличался ароматным специфическим, свойственным мясу кроликов, запахом. По внешнему виду бульон был прозрачный, с небольшим количеством капелек жира, консистенция мяса была нежной, стандартного вкуса (таблица 18).

Таблица 18 – Влияние фитоглинола на качество мяса и жира кроликов (n=2)

Исследуемые показатели	Опыт	Контроль
Цвет мяса	Светло-розовый	Светло-розовый
Запах мяса	специфический	специфический
Консистенция мяса	упругая	упругая
pH через 1 час	5,6	5,7
Реакция на пероксидазу	+	+
Наличие аммиака в мясе	нет	нет
Цвет жира	белый	белый
Вкус жира	специфический	специфический
Запах жира	отсутствует	отсутствует
Консистенция жира	пастообразная	пастообразная
Температура плавления	45 °С	45 °С
Температура застывания	38 °С	38 °С
Кислотное число жира	0,28	0,25
Содержание альдегидов	нет	нет

Измерение концентрации водородных ионов в отварном бульоне в контрольной группе составила, в среднем 5,7, в опытной – 5,68. Количество аммиака в мясе тушек всех групп было ниже 16 мг, характеризуя его доброкачественность. В опыте с реакцией на пероксидазу при добавлении 1 % перекиси водорода фарш из мяса кроликов приобрел сине-зеленый цвет, течении 1-2 минут перешедший в буро-коричневый, что говорит о присутствии этого фермента в составе фарша. Присутствие пероксидазы свидетельствует о свежести и доброкачественности мяса. Реакция с сернокислой медью показала

отсутствие желеобразных сгустков в бульоне, бульон после добавления реагента приобрел сине-голубой оттенок.

При микроскопии мазков-отпечатков из глубоких слоев мышечной ткани микробных клеток выявлено не было, с поверхности мяса при микроскопии мазков-отпечатков в одном поле зрения было отмечено $2,0 \pm 0,04$ микробные клетки, в контрольной группе – $2,02 \pm 0,05$ (показатели находились в предельно допустимом уровне).

Качество топленого жира исследовалось органолептическим и биохимическим методом. Жир был прозрачным, имел пастообразную консистенцию, температура плавления составила $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, температура застывания – $38\text{ }^{\circ}\text{C}$, резкий запах отсутствовал, цвет застывшего жира был белым. Кислотное число жира в опытной группе составило $0,27$, контрольной – $0,25$.

Реакция с флороглюцином в ацетоне (по Видману) проходила растворением в пробирке 3-5 г исследуемого жира, с добавлением к нему в таком же объеме 1 %-ного раствора флороглюцина в ацетоне и 2-3 капель концентрированной серной кислоты. При оценке жира в опытной и контрольной группе окрашивание жира отмечено не было, реакция была учтена как отрицательная.

Качественной реакцией на перекиси устанавливают окислительную порчу жиров. В пробирку из бесцветного стекла помещалось около 5 г жира, который был расплавлен на водяной бане, далее добавлялось 2-3 капли 5 %-ного водного раствора свежей крови опытного животного (кролика) и 6-8 капель 5 %-ного спиртового раствора гваяковой смолы, а также 5 мл теплой дистиллированной воды. После встряхивания смеси голубой цвет не проявился, что говорит об отрицательном результате образцов.

Таким образом, результаты проведенных исследований по оценке соответствующих стандартов органолептических, физико-химических и бактериологических показателей продуктов убоя, позволяют утверждать, что фитоглинол при его длительном использовании не влияет отрицательно на качество и вкусовые особенности мяса животных.

4.3 Специфическая активность фитоглинола

В данном разделе результаты исследования и их анализ опубликованы в виде научных статей в следующих изданиях: E3S Web Conf., 210 (2020) 06001. DOI: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202021006001>; Научные основы повышения продуктивности и здоровья животных. Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020. – Т.9. – №2. – С. 97-101; Актуальные проблемы повышения здоровья и продуктивности животных. Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2021. Т.10 – №1. – С.352-354.

4.3.1 Влияние фитоглинола на поведенческую активность крыс (анксиолитическое действие)

Любое стрессовое воздействие приводит к возникновению системной реакции, направленной на ослабление или устранение стресса, обусловленного поведенческими, вегетативными, двигательными и другими изменениями, протекающими в живом организме (Судаков К.В., Умрюхин П.Е., 2010). При этом поведение при стрессе является неотъемлемой частью общего поведения, при котором нормальное реагирование на окружающую среду сдвигается в сторону негативных реакций, таких, как страх, тревожность, депрессия (Юматов Е.А., Мещерякова О.А., 1990).

Для изучения качественных и количественных показателей поведения применяются общие и специальные поведенческие тесты. Многие методы основаны на наблюдении и измерении специфического поведения животных в определенных стимульных ситуациях.

Одним из таких тестов является тест «открытое поле» (open field test), позволяющий выявить значительные нарушения нервно-мышечной, сенсорной и вегетативной систем лабораторных животных (чаще всего крыс), с последующей оценкой их индивидуального и социального поведения. При этом

крысы реагируют замиранием на новые, потенциально опасные стимулы. Тревога является эволюционно выработанной адаптационной реакцией, реализующейся в мобилизации ресурсов организма в ситуации угрозы и изменяющихся условиях существования. Эта реакция имеет неоспоримую адаптивную значимость, так как неподвижность уменьшает возможность акустического или зрительного обнаружения животного хищниками (Геворгян В.С., Геворгян И.С., 2017; Пермяков А. А. с соавт., 2013; Мельников А.В., Куликов М.А., Новикова М.Р. и др., 2004).

Снижение тревожного состояния, возникающего на фоне стресса, и проявляющегося различными вегетативными явлениями, такими как ускорение сердечного ритма, расширение зрачков, учащенная дефекация, можно нивелировать проведением системной фармакокоррекции, включающей использование лекарственных средств различных групп (Пудовкин Н.А., 2017, Муруев Б.А., 2018).

Целью исследований явилась оценка влияния препарата фитоглинол на тревожное состояние взрослых белых крыс в условиях экспериментально созданного стресса. Тестирование проводилось на базе вивария на четырех группах беспородных белых крыс ($n=10$) с массой тела 200-250 г.

Для определения анксиолитического действия препарата использовался метод поведенческой активности и эмоциональности лабораторных животных в тесте «открытое поле», для чего в отдельном, ограниченном от посторонних шумов помещении, была размещена хорошо освещенная квадратная арена размером 1,2 x 1,2 м, высотой 50 см, разделенная линиями на 16 секторов, на пересечении которых были оборудованы лунки для изучения исследовательской активности животных. Цвет арены был выбран белый, так как в белом «открытом поле» наблюдается более сильное стрессорное поведение, обусловленное эффектом новизны и открытого пространства чем в черном и сером полях.

Эксперимент проводился в течение 3-х дней, при этом изучаемый препарат вводился крысам внутримышечно за два дня до опыта и на 1-й день тестирования в следующих дозах: в 1 группе – 0,2 мл/животное, во 2 – 0,1 мл/животное, в 3 – 0,05 мл/животное. Контрольной группе грызунов в том же режиме вводился физиологический раствор в дозе 0,1 мл/животное.

Оценка ориентировочно-исследовательского поведения осуществлялась путем помещения крысы в центр «открытого поля», в котором в течении 5 минут регистрировалась горизонтальная активность (количество пересеченных квадратов), вертикальная активность (количество вертикальных стоек), реакция груминга, исследовательская активность (число заглядываний в норки), дефекация (рисунок 23).



Рисунок 23 – Исследовательская и вертикальная активность крыс в арене

Результатами исследования установлено, что первая опытная группа лабораторных животных показала высокую горизонтальную активность – $45,1 \pm 1,08$ квадратов, превышая показатели других опытных групп в 1,4 (2 группа) и 1,56 (3 группа) раз (таблица 19). Значения между третьей опытной группой и группой контроля были аналогичными, оставаясь значимо низкими, что может свидетельствовать о высоком уровне тревожности. Вертикальная активность во всех группах варьировала менее значительно, при этом максимальное количество вертикальных стоек было зарегистрировано во второй опытной группе – $9,0 \pm 0,70$ шт.

Таблица 19 – Результаты тестирования крыс в «открытом поле» ($M \pm m$; $n=5$)

Показатель	Группы			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контроль
Кол-во вертикальных стоек, шт.	7,80±0,50	9,00±0,72	7,8±0,44	6,9±0,65
Кол-во пересеченных квадратов, шт.	45,1±1,08*	32,1±0,86	28,9±1,04	28,7±1,18
Исследовательская активность, шт. норок	3,2±0,12	3,5±0,07	3,4±0,41	4,0±0,14
Время неподвижности, с	20,5±1,84	20,4±1,01	28,1±2,17	25,4±1,37
Груминг, раз.	8,2±0,08*	7,1±0,14	6,4±0,06	6,8±0,15
Груминг, с	45,0±1,14	47,2±1,25	45,7±1,18	48,6±1,28
Дефекация (кол-во фекальных болюсов, шт.)	2,4±0,05	3,0±0,04*	3,8±0,07	4,2±0,24
Уринация, шт.	1,0±0,02	1,0±0,07	0,8±0,04	1,1±0,02

Степень достоверности: $*p \leq 0,05$ по отношению к контролю

Исследовательская активность в опытных группах была ниже чем в контрольной группе, что может свидетельствовать о наличии противотревожного эффекта у изучаемого препарата, поскольку высокую исследовательскую активность можно трактовать как состояние тревоги, так как длительная реакция замирания у грызунов связана с возникновением сильного страха.

В 3 опытной группе было отмечено увеличение времени неподвижности, составившее в среднем $28,1 \pm 2,17$ секунды. Различия с другими опытными группами в процентном отношении находились на уровне 27,0 %, тогда как разница с группой контроля была менее выражена и составила 9,6 %.

Реакция груминга у лабораторных животных в эмоциональных ситуациях является смешанной реакцией как следствие эмоционального напряжения на воздействие пугающих раздражителей и тесно связана с показателем времени неподвижности. Так, в третьей опытной и контрольной группах частота и продолжительность груминга составляла, в среднем, $6,4 \pm 0,06$ и $6,8 \pm 0,15$ раз. Во второй группе отмечалась тенденция к увеличению частоты проявления реакции на 4,0 % от значений контроля, а в первой опытной группе различия с контрольными крысами составили 20,6 % ($p \leq 0,05$) в сто-

рону увеличения частоты груминга. Причем, это показатель прямо коррелировал с длительностью груминга.

Высокий уровень дефекации, являясь надежным показателем эмоционального уклонения, повышенного страха у лабораторных крыс, тесно связан с интенсивностью питания и типом кормления. Повышение данного показателя отмечено в третьей опытной группе, где количество фекальных болюсов составляло $3,8 \pm 0,07$ шт., и контроле – $4,2 \pm 0,24$ шт. Показатели уринации в группах относительно не варьировались.

Таким образом, горизонтальная, вертикальная активность, исследовательское поведение и физиологические параметры дефекации и уринации у лабораторных крыс явились показателями общей возбудимости и свидетельствовали о том, что в условиях модельного стресса препарат фитоглинол проявил прямо пропорциональное дозам действие на уровень тревоги животных и снижения стрессового состояния при попадании в незнакомую ситуацию (Ланец О.В. и соавт., 2020).

4.3.2 Влияние препарата на организм крыс в условиях острого стресса

Исследования по воздействию различных стресс-факторов направлены на комплекс неспецифических изменений, заставляющих включаться защитным механизмам живого организма для его последующей адаптации.

При этом стресс-индуцированная патология может развиваться в ответ как на кратковременное стрессирование, так и при длительной стрессовой атаке. Для исследования ответной реакции организма на стресс используются биологические модели (главным образом, крысы) с многообразными вариантами поведенческих тестов, различающихся по природе раздражающего агента, силе и длительности воздействия.

Одним из таких тестов является метод острого стрессирования лабораторных животных (по Ю.И. Добрякову, 1978), применяемый для оценки основных критериев стресс-реакции, возникающей в короткий промежуток

времени и возможность ее специфической фармакокоррекции (Нестерова Ю.В., 2003).

Эксперимент по оценке влияния препарата фитоглинол на организм животных после слабого стрессирующего воздействия проведен на половозрелых белых нелинейных крысах со средней массой тела 200-220 г, разделенных на три группы по 6 особей в каждой.

Опытным группам крыс превентивно в течении 5 дней до начала эксперимента препарат фитоглинол вводился внутримышечно в следующих дозах: 1 опытная – 0,1 мл/животное; 2 опытная – 0,2 мл/животное, а затем за 2 часа до подвешивания была введена разрешающая доза препарата (0,1 мл и 0,2 мл соответственно по группам). Контрольной группе крыс в той же последовательности вводился физиологический раствор в дозе 0,2 мл/животное.

В качестве стрессирующего фактора использовалось подвешивание животных на 60 минут фиксацией под лопатки с помощью шпагата (рисунок 24).



Рисунок 24 – Моделирование острого стресса у лабораторной крысы

По окончании опыта проводилось усыпление крыс с помощью легкого эфирного наркоза с последующим забором крови методом кардиопункции

для оценки гематологических и биохимических показателей, а также определения процессов липопероксидации, индуцированных стрессовым воздействием.

Анализ гематологических показателей крови подопытных крыс выявил ряд изменений в ее клеточном составе (таблица 20).

Таблица 20 – Влияние острого стресса на гематологические показатели крови лабораторных животных ($M \pm m$; $n=6$)

Показатели	Группы		
	1 Опытная	2 Опытная	Контрольная
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$5,25 \pm 0,13$	$6,1 \pm 0,27^{**}$	$3,9 \pm 0,42$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	$5,8 \pm 0,86$	$6,49 \pm 0,51$	$6,04 \pm 0,18$
Гемоглобин, г/л	$130,2 \pm 2,04^*$	$139,1 \pm 3,02$	$114,6 \pm 5,48$
Гематокрит, %	$28,4 \pm 4,09$	$23,4 \pm 2,54$	$27,4 \pm 1,04$
Лейкоформула, %			
Эозинофилы	$1,3 \pm 0,03$	$1,4 \pm 0,02$	$3,5 \pm 0,04$
Палочкоядерные нейтрофилы	$2,7 \pm 0,03$	$3,2 \pm 0,01$	$5,6 \pm 0,02$
Сегментоядерные нейтрофилы	$39,2 \pm 0,36$	$41,4 \pm 0,25$	$48,6 \pm 0,27$
Лимфоциты	$53,9 \pm 2,23^*$	$52,2 \pm 5,70$	$40,3 \pm 4,80$
Моноциты	$2,9 \pm 0,18$	$1,8 \pm 0,06$	$2,0 \pm 0,04$
Средний объём эритроцита, фл	$51,2 \pm 0,52$	$45,1 \pm 0,40$	$45,4 \pm 1,30$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	$19,8 \pm 0,40$	$22,0 \pm 0,34$	$18,9 \pm 0,58$
Цветной показатель, ед.	$1,1 \pm 0,02$	$1,1 \pm 0,02$	$0,9 \pm 0,03$
Анизоцитоз эритроцитов, %	$17,3 \pm 0,32$	$17,6 \pm 0,23$	$14,2 \pm 0,55$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	$185,6 \pm 5,9$	$206,3 \pm 7,6^*$	$149,2 \pm 4,17$
Средний объём тромбоцитов, фл	$6,2 \pm 0,44$	$8,0 \pm 0,15$	$7,2 \pm 0,80$
Анизоцитоз тромбоцитов, %	$18,7 \pm 1,91$	$18,6 \pm 0,98$	$47,9 \pm 5,76$
СОЭ (по Панченкову), мм/час	1	1	1

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с группой контроля

Острая эмоциональная стрессорная нагрузка способствовала снижению общего количества лейкоцитов в периферической крови грызунов всех подопытных групп. Однако применение фитоглинола позволило предотвратить резкое падение лейкоцитов. Так, в первой опытной группе его концентрация снизилась относительно видовой нормы крыс на 25,0 %, во второй – на

12,9 %, тогда как в группе контроля снижение лейкоцитов от нижних границ нормы колебалось на уровне 44,3 %. Межгрупповые различия по данному показателю составили 34,6 и 56,4 % в пользу значений опытных животных.

Парентеральное введение препарата предупредило и изменение содержания клеток лейкоцитарного ряда в крови крыс. Данный вид стресса вызвал абсолютную лимфоцитопению на фоне нейтрофилии со сдвигом вправо (количество лимфоцитов по группам снизилось на 17,7; 19,6 и 38,0 %, тогда как уровень сегментоядерных нейтрофилов, напротив, увеличился на 12,0; 18,3 и 38,9 % соответственно). Снижение лимфоцитов может указывать на уменьшение в организме уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в периферической крови как ответную реакцию на стрессирование (Лелевич А.В., 2008). Однако в опытных группах подобная реакция была менее выраженной, из чего можно заключить, что применение фитоглинола обеспечило более корректное сохранение видового состава клеток белой крови.

При воздействии стресса отмечена еще одна стресс-зависимая реакция периферической крови – на фоне изменений со стороны лейкоцитов уровень эритроцитов значимо не изменился ни в одной из групп, тогда как концентрация гемоглобина в группе контрольных аналогов была снижена. Различия между опытными группами и крысами контроля составили 13,6 и 21,4 %.

В первой опытной группе и в группе контроля выявлено снижение концентрации тромбоцитов – на 7,2 и 25,4 %, тогда как во второй опытной группе общее количество красных кровяных телец сохранялось в пределах референсных значений. Основная роль тромбоцитов – участие в первичном гемостазе и поддержании структуры и функции клеток эндотелия кровеносных сосудов при различных повреждениях. В нашем случае, их снижение может быть обусловлено особенностями видовой и возрастной нормы и не зависеть от данного стрессового воздействия, которое не связано с образованием изъязвлений на слизистой оболочке желудка (язвенное поражение желудка, полученное при сильном стрессовом воздействии на организм живот-

ных как рефлекторный ответ симпатической нервной системы – Багинская А.И. и др., 2016).

Тем не менее, в контрольной группе на фоне тромбопении выявлен анизоцитоз тромбоцитов, свидетельствующий о неоднородности размеров кровяных частиц и их атипичности.

Остальные морфологические показатели крови крыс существенных изменений не претерпели.

При анализе биохимических показателей основные изменения регистрировались по уровню общего белка и глюкозы, концентрация которых в контрольной группе была существенно увеличена в сравнении с аналогичными значениями крыс опытных групп (таблица 21).

Таблица 21 – Влияние острого стресса на биохимические показатели крови лабораторных животных ($M \pm m$; $n=6$)

Показатели	Группы		
	1 Опытная	2 Опытная	Контрольная
Общий белок, г/л	58,5±4,5	48,3±2,1**	75,9±4,3
Мочевина, ммоль/л	8,01±0,8	8,55±0,6	9,9±0,7
Холестерин, ммоль/л	1,88±0,35	0,86±0,1	1,06±0,22
Глюкоза, ммоль/л	7,1±0,22*	6,4 ±0,4*	9,8±0,5
АлАт, Ед/л	78,3±1,25	66,8±0,9	73,2±2,1
АсАт, Ед/л	198,7±2,07	212,5±2,87	203,4±1,72
Креатинин, мкмоль/л	57,86±3,8	45,76±3,04	53,7±1,85
Билирубин, ммоль/л	9,63±0,45	9,63±0,24	8,24±0,4
Прямой билирубин ммоль/л	1,8±0,2	2,9±0,12	1,7±0,3
Кальций ммоль/л	1,13±0,14	1,37±0,23	1,16±0,12
Амилаза, Ед/л	493,2±4,8	466,7±6,7	523,1±14,2
Фосфор, ммоль/л	2,46±0,12	2,64±0,02	2,09±0,14
Щелочная фосфатаза, Ед/л	315,4±4,5	376,1±6,5	379,5±4,1
Хлориды ммоль/л	100,3±1,4	105,2±3,4	98,6±2,7

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с группой контроля

Межгрупповые различия по общему белку между контролем и опытом составили 1,3 (1 опытная группа) и 1,57 раза (2 опытная группа), по глюкозе – 1,38 и 1,53 раза соответственно. В данном случае, введение большей дозы

фитоглинола лабораторным крысам способствовало более выраженному стресс-протективному действию препарата.

По другим биохимическим константам достоверно значимых изменений отмечено не было. Их колебания по группам происходили в рамках референсных границ и информативности не имели.

Одним из основных изменений клеточного метаболизма при стрессе является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ). В нормальных условиях количество продуктов ПОЛ в тканях держится на определенном уровне, так как они необходимы для нормального функционирования организма. Однако у крыс, находящихся в состоянии острого стресса произошла активизация продуктов липопероксидации, что сопровождалось увеличением первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов и кетодиенов. А избыточное накопление гидроперекисей сопровождалось развитием синдрома цитолиза, о чем свидетельствовало накопление в крови крыс молекул средней массы (таблица 22).

Таблица 22– Влияние острого стресса на показатели ПОЛ и эндотоксикоза лабораторных животных ($M \pm m$; $n=6$)

Показатели	Группы, n=10		
	1 Опытная	2 Опытная	Контрольная
Параметры липопероксидации			
ДК ₍₂₃₂₎ , ед. опт. плотн./мл	0,78 ± 0,01	0,52 ± 0,03*	1,77 ± 0,21
КД ₍₂₇₃₎ , ед. опт. плотн./мл	0,64 ± 0,029*	0,57 ± 0,05*	0,83 ± 0,07
МДА (537), мкмоль/мл	0,071 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,081 ± 0,05
Молекулы средней массы			
254 нм, усл. ед.	0,40 ± 0,02	0,32 ± 0,03*	0,52 ± 0,01
280 нм, усл. ед.	0,243 ± 0,01	0,237 ± 0,01	0,268 ± 0,03

Различия достоверны * $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля

Наличие избыточного накопления в крови крыс промежуточных продуктов липопероксидации в условиях острого стресса явилось следствием недостаточного функционирования активности как ферментного, так и не-

ферментного звена АОЗ клеток организма животных. Тем не менее, превентивное инъекционное введение фитоглинола подопытным крысам привело к частичному сохранению антиоксидантной защиты и уменьшению концентрации токсических продуктов ПОЛ. Разница по диеновым конъюгатам между опытными и контрольной группами составили 2,27 (первая группа) и 3,4 (вторая группа) раза. Аналогичные изменения наблюдались и по кетодиенам. Межгрупповые различия находились на уровне 1,3 и 1,45 раза.

Следует отметить, что у стрессированных крыс произошло стремительное нарастание процессов ПОЛ в части образования первичных продуктов липопероксидации, обусловленных усилением липотропного эффекта стресс-реакции в результате секретирования адреналина, инициирующего образование свободных радикалов в мембранах клеток и субклеточных структур, в первую очередь, митохондрий, в результате окисления их фосфолипидного слоя. При дальнейшем окислении диеновых конъюгатов и кетодиенов происходит образование малонового диальдегида. В данном эксперименте процесс образования первичных продуктов ПОЛ во вторичные был прерван в связи с усыплением лабораторных животных, поэтому уровень МДА во всех подопытных группах был низким и статистически недостоверным, не подтверждая факт нарастания окислительного стресса.

Под действием фитоглинола в опытных группах произошло снижение отдельных фракций среднемолекулярных пептидов. В первой группе уровень МСМ при длине волны 254 нм был ниже аналогичного показателя группы контроля на 23,1 %, при длине волны 280 нм – на 9,3 %. Во второй опытной группе – на 38,5 и 11,6 % соответственно. При этом, в ходе проведенных исследований в данных группах произошло увеличение коэффициента распределения МСМ 280/254 (0,61 в первой опытной и 0,74 – во второй опытной), что свидетельствует об уменьшении интенсивности свободнорадикального окисления. В группе контрольных крыс коэффициент распределения 280/254 составил 0,52, являясь косвенным свидетельством избыточной генерации ак-

тивных кислородных метаболитов – супероксидных радикалов, гидроперекисей, которыми являются ДК и кетодиены и низкомолекулярных белков и пептидов.

Таким образом, проведенное исследование показало, что превентивное введение фитоглинола на фоне острого стрессирования частично угнетает интенсификацию процессов липопероксидации, снижает цитолиз и реактивирует состояние звеньев антиоксидантной и антирадикальной защиты, а также оказывает положительное влияние на метаболический статус лабораторных животных.

4.3.3 Стресс-протективная и антиоксидантная активность фитоглинола при тепловом стрессе у крыс

К числу причин, способствующих возникновению патологических сдвигов в системе гомеостаза живого организма, относятся различные негативные факторы внешней среды, вызывающие серьезные нарушения, обусловленные развитием стрессорных повреждений органов жизнеобеспечения (Родионова Л.П., 1984). В этом случае, моделируя определенное стрессовое воздействие в опытах на лабораторных животных, можно выявить закономерности развития патологии, начиная с момента взаимодействия стрессового фактора с организмом до его исхода, а также установить взаимосвязи между повреждением и функциональным состоянием различных органов и систем организма под действием стресс-фактора с последующей адекватной фармакокоррекцией адаптационных способностей животного.

Исходя из этого, целью данного эксперимента явилась оценка стресс-протекторного и антиоксидантного действия препарата фитоглинол на организм белых крыс, подвергнутых тепловому стрессированию, значимости процессов ПОЛ, функциональных систем организма животных при длительном воздействии высоких температур и повышенной влажности воздуха.

Эксперимент проведен на 45 белых нелинейных крысах-самцах со средней массой тела 260-300 г, разделенных на пять групп. Первая группа (n=5) – интактные здоровые животные, вторая, третья, четвертая группы (n=10) – опытные, пятая группа (n=10) – контроль.

Схема проведения эксперимента предполагала изучение различных доз и временных интервалов введения препарата фитоглинол опытным группам крыс на фоне повышенных температур. В связи с чем, в заднебедренные группы мышц с соблюдением правил асептики и антисептики препарат вводился внутримышечно в дозировках, представленных в таблице 23.

Интактные особи были взяты в эксперимент для контроля физиологического состояния организма животных, не подвергавшихся термированию. Контрольной группе грызунов в дозе 0,5 мл/животное внутримышечно вводился физиологический раствор.

Таблица 23 – Схема опыта

Группа, n	Кратность введения	Доза препарата, мл/жив
Интактные, n=5	Без применения препаратов	–
1 Опытная, n=10	Фитоглинол в течении 5 дней, 1 раз в день до опыта, за 1 час до термирования и в течении 4 дней термирования (всего 9 дней)	0,5 мл
2 Опытная, n=10	Фитоглинол в течении 5 дней, 1 раз в день до опыта, за 1 час до термирования и в течении 4 дней термирования (всего 9 дней)	0,25 мл
3 Опытная, n=10	Фитоглинол во время опыта за 1 час до термирования (всего 4 дня)	0,5 мл
Контрольная, n=10	Физиологический раствор в течении 5 дней до опыта, за 1 час до термирования и в течении 4 дней термирования (всего 9 дней)	0,5 мл

Животные содержались в боксах на мягкой подстилке из опилок, кормление осуществлялось 2 раза в день сбалансированным по витаминам и минералам злаковым кормом, в подкормку крысам давались фрукты и сухофрукты, для поения оборудованы автоматические поилки.

Тепловой стресс воспроизводили путем термирования исследуемых животных в специально оборудованной климаткамере, для чего ежедневно в течении четырех дней контрольную и опытные группы крыс групповым методом в специальных боксах с оборудованными отверстиями для поступления кислорода помещали на 20 минут в камеру при температуре + 40 °С и влажности 80-85 %.

О выраженности стрессорной реакции организма животных и эффективности фармакокоррекции судили по изменению гравиметрических показателей тела, терморегуляции, морфологическим и биохимическим показателям крови, процессам развития продуктов пероксидации и эндогенной интоксикации в организме крыс. Взвешивание подопытных животных проводилось на момент отбора особей в группы, а также за час до термирования и час после термирования.

Термометрия проводилась ректально электронным градусником перед посадкой животных в боксы за 10 минут до опыта и через 30 минут после процедуры термирования.

Кровь для лабораторных исследований отбиралась сразу же по завершению эксперимента после эфтаназии животных под тиопенталовым наркозом (50 мг/кг) путем забора крови из сердца до его остановки. Кроме этого, проводилось патологоанатомическое вскрытие трупов крыс с последующим наружным осмотром органов и их гистологическое исследование.

Полученные в ходе эксперимента данные показали, что длительное тепловое воздействие на животных приводит к характерному для стрессовой реакции снижению массы тела (таблица 24).

По данным таблицы установлено, что в контрольной группе крыс за период исследования на фоне ежедневного термирования отмечается убывание массы тела, которое к концу исследований в среднем, составило 4,6 г (или 59,6 % от массы тела интактных крыс).

Таблица 24 – Гравиметрические изменения массы тела экспериментальных животных в условиях теплового стресса (n=10; M±m)

Группы	Масса тела, г					Прирост	
	До начала опыта	Термирование				За период исследований, г	В % к интактным
		1 день	2 день	3 день	4 день		
Интактная	275,1±9,3	279,7±9,1	281,2±8,6	284,6±8,4	286,5±8,1	11,4±0,9	100,0
1 Опытная	284,3±7,6	286,4±7,5	287,5±6,9	286,8±7,2	287,4±7,7	3,1±0,6	27,2
2 Опытная	266,6±10,3	271,4±9,5	273,2±9,4	272,8±9,8	271,1±10,0	4,5±0,3	39,5
3 Опытная	277,1±7,1	284,6±6,9	280,4±7,1	281,0±7,2	282,9±6,8	5,8±0,5	50,9
Контроль	268,3±8,4	255,4±8,8	266,3±9,0	264,4±8,2	263,7±8,6	-4,6±0,2	-59,6

Тогда как введение фитоглинола в опытных группах способствовало сохранению гравиметрических показателей животных, с некоторыми колебаниями весовых показателей (на уровне тенденции). Так, в первой опытной группе (доза введения препарата – 0,5 мл, продолжительность 9 дней) был отмечен прирост массы тела на 3,1 г, во второй опытной группе (доза введения препарата – 0,25 мл, продолжительность 9 дней) – 4,5 г. Наибольший прирост был выявлен в 3 опытной группе, в которой фитоглинол вводился в дозе 0,5 мл за час до термирования – 5,8 г. При этом достоверность данного эффекта статистически подтверждена не была, поэтому возможным объяснением мы считаем отсутствие дополнительного стрессового фактора в первые пять дней экспериментального периода в связи с дополнительными диагностическими манипуляциями (внутримышечное введение), на что указывает и достаточно высокий уровень прироста массы тела крыс на момент термирования.

По данным термометрии (таблица 25) колебания температуры в первой и второй опытных группах, в которых фитоглинол вводился пролонгировано, регистрировались в пределах физиологической нормы, тогда как в 3 опытной группе отмечено повышение температуры в среднем на 0,8 °С (в пределах физиологической нормы).

Таблица 25 –Динамика температуры тела экспериментальных животных
в условиях теплового стресса (n=10; M±m)

Группы	Температура, °С							
	1 день		2 день		3 день		4 день	
	до тер- мирова- ния	после термиро- вания	до тер- мирова- ния	после термиро- вания	до тер- мирова- ния	после термиро- вания	до тер- мирова- ния	после термиро- вания
1-Опытная	38,2±0,6	38,4±0,4	37,5±0,3	38,1±0,2	38,4±0,3	38,9±0,1	37,6±0,1	38,7±0,2
2-Опытная	38,3±0,2	38,7±0,2	38,4±0,4	39,0±0,1	38,6±0,3	38,4±0,2	38,9±0,2	38,6±0,1
3-Опытная	37,7±0,1	38,8±0,5	39,1±0,3	39,4±0,1	38,4±0,1	39,1±0,2	38,4±0,2	39,4±0,3
Контроль	38,3±0,2	39,2±0,1	38,1±0,5	39,8± 0,4	37,9±0,5	38,9±0,3	38,2±0,4	40,1±0,3

В группе контроля (с применением физиологического раствора) в первые три дня опыта температурные колебания в сторону увеличения составили в среднем на $1,2 \pm 0,1$ °С, на 4 день различия между температурой до термирования и после него составили $1,9 \pm 0,2$ °С (рисунок 25).

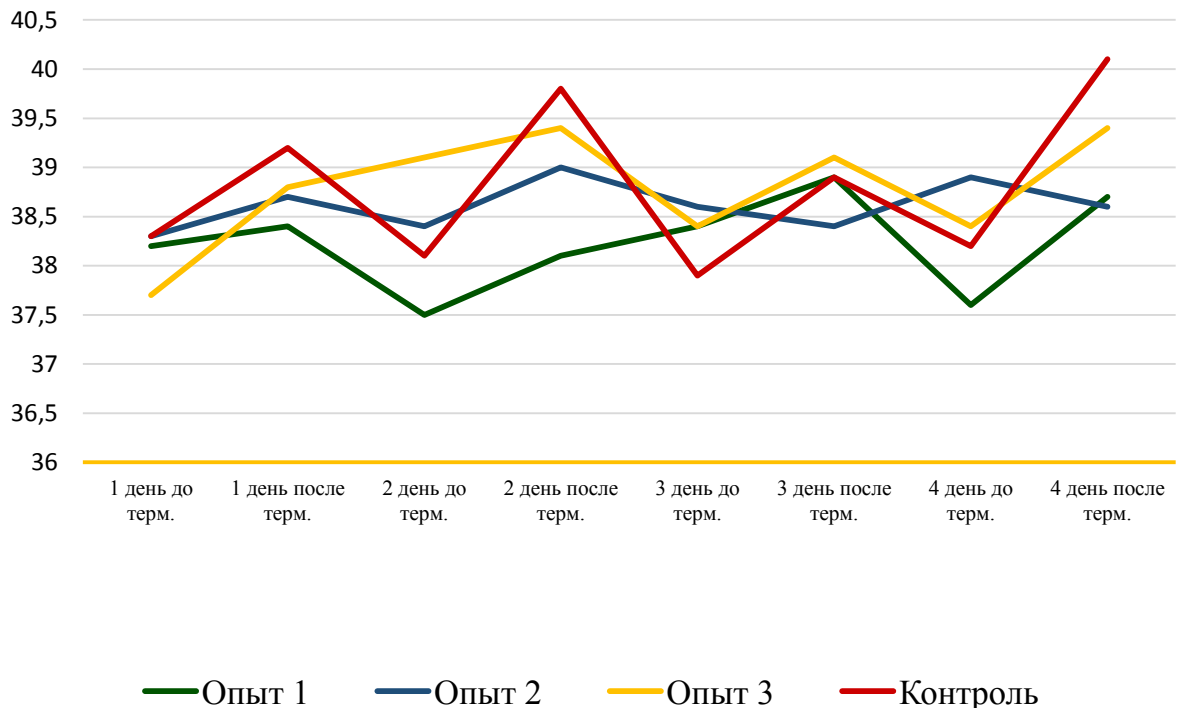


Рис. 25 – Динамика температуры тела крыс при термировании

Исходя из полученных данных можно сделать вывод что пролонгированное введение фитоглинола позволяет нормализовать терморегуляцию ор-

ганизма, т.к. при стрессовых воздействиях температура тела может значительно повышаться до высоких отметок.

При анализе гематологических показателей крови у крыс всех групп выявлено снижение абсолютного количества лейкоцитов и нейтрофилов, что можно характеризовать как абсолютную видовую лейкопению. Однако на фоне лейкопении у животных опытных групп к концу экспериментального периода выявляется увеличение общего количества лейкоцитов (таблица 26).

Наибольшие показатели отмечаются у крыс первой опытной группы, различия у которых с контрольными аналогами составили 1,93 раза, а с интактными животными – 2,04 раза. По другим опытным группам повышение регистрировалось на уровне 1,6 и 1,7 раза и 1,2 и 1,3 раза соответственно.

В данном случае, можно предположить, что применение фитоглинола оказало влияние на лейкопоз и выход в кровяное русло незрелых форм лейкоцитов без их дифференциации или частичного образования дифференцированных клеток белой крови, на что указывает увеличение сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов. Так, в третьей опытной группе процентное содержание нейтрофильных гранулоцитов в сравнении с группой контроля увеличилось на 7,1 %, с группой интактных крыс – на 55,1 %. По количеству моноцитов во второй и третьей опытных группах повышение было значительным, составляя 44,3 % и 16,0 % относительно контрольных аналогов и 84,4 % и 48,2 % относительно крыс, не подвергавшихся термированию. Следует отметить, что моноциты выполняют защитные функции в живом организме, принимая участие как в клеточном, так и гуморальном иммунитете, являясь самыми активными фагоцитами периферической крови (система фагоцитирующих мононуклеаров) и продуцируя иммунные тела (Федоров Б.М., 1990).

Исходя из этого, можно утверждать, что фитоглинол в условиях длительного теплового стресса способствует повышению неспецифической резистентности организма подопытных животных.

Таблица 26 – Влияние теплового стресса на морфологические показатели крови лабораторных крыс ($M \pm m$; $n=5$)

Показатель	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Контроль	Интактные
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6,44±0,67	5,33±1,91	4,0±0,67	3,33±1,14	3,15±1,45
Эозинофилы, $10^9/\text{л}$	0,03±0,03	0	0	0	0
Нейтрофилы, $10^9/\text{л}$	1,08±0,40	1,45±0,52	1,18±0,36	0,89±0,31	0,47±0,03
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	2,62±0,24	3,38±1,3	2,55±0,35	2,26±0,85	2,56±1,40
Моноциты, $10^9/\text{л}$	0,2±0,03	0,41±0,15	0,27±0,08	0,18±0,05	0,12±0,02
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	6,0±0,51	6,4±0,2	7,0±0,86	6,8±0,18	7,1±0,04***
Гемоглобин, г/л	125,7±11,02	121,7±9,17**	123,1±15,4	124,3±5,48	122,4±4,0***
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	582,0±304,9	284,7±148,4	302,7±140,9	404,3±40,2	93,0±45,0***
Лейкоформула, %:					
эозинофилы	1,0±1,0	0	0	0	0
сегментоядерны нейтрофилы	25,3±6,69	27,0±6,56	28,7±5,36	26,8±5,27	18,5±7,50
лимфоциты	68,7±5,70	63,7±4,91	64,7±6,23	67,5±4,99	77,0±9,0
моноциты	5±0,0	8,3±1,45	6,67±0,88	5,75±0,48	4,5±1,5
Гематокрит, %	24,3±2,54	24,9±1,97***	28,4±4,09	29,4±1,04	25,0±0,20***
Средний объём эритроцита, фл	49,3±0,40	47,4±1,84	48,9±0,52	49,1±1,30	47,6±0,05
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	17,4±0,34	19,5±1,04	19,8±0,40	18,2±0,58	19,2±0,60
Цветной показатель, ед.	0,71±0,02	0,97±0,05	0,72±0,02	0,87±0,03	0,8±0,03
Средняя концентрация корпускулярного гемоглобина г/л	421,7±6,17	427,7±3,48	417,7±7,22	402,5±13,37	404,0±13,0
Анизоцитоз эритроцитов, %	16,5±0,23	15,9±0,60	14,9±0,32	15,9±0,55	14,5±0,20*
Относительная ширина распределения эритро- цитов по объёму	30,37±0,57	31,0±0,62	28,8±0,61	30,93±1,26	28,5±0,95
Средний объём тромбоцитов, фл	5,0±0,15	6,7±1,07	5,33±0,44	6,13±0,80	6,3±0,50
Тромбокрит, %	39,1±16,65	22,3±3,20	15,2±6,35	22,4±1,92	5,65±2,35*
Анизоцитоз тромбоцитов, %	12,0±0,98	16,7±6,90	17,3±1,91	22,1±5,76	25,8±5,55
СОЭ (по Панченкову)	1	1	1	1	1

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ в сравнении с группой контроля

У всех крыс в группах наблюдалось процентное повышение тромбоцита, что может быть связано с техникой взятия крови у подопытных животных. Кроме того, в контрольной и интактной группах отмечено увеличение анизоцитоза тромбоцитов в сравнении с опытными крысами всех групп (в контрольной – среднем в 1,8-1,28 раза, в интактной – в 2,15-1,49 раза), что указывает на появление в крови тромбоцитов большего либо меньшего чем в норме размера. По остальным показателям значения животных всех групп были в пределах видовой нормы.

Результатами биохимического исследования подопытных крыс выявлен ряд изменений гомеостаза крови (таблица 27).

Таблица 27 – Влияние теплового стресса на биохимические показатели крови лабораторных крыс ($M \pm m$; $n=5$)

Показатель	1 Опытная	2 Опытная	3 Опытная	Контроль	Интактные
Общий белок, г/л	69,3±2,17**	64,5±1,84	71,5±3,02	75,2±1,14	72,0±2,47
Мочевина, ммоль/л	8,02±0,9	7,88±0,6	8,28±0,74	8,06±0,9	7,14±0,55
Холестерин, ммоль/л	1,65±0,2	1,2±0,1	1,4±0,24	1,14±0,17	1,15±0,26
Глюкоза, ммоль/л	11,96±0,97	8,15±0,48	13,9±0,83**	5,4±0,50	10,3±0,81
АлАт, Ед/л	58,0±1,27*	47,7±2,24*	88,0±3,16	76,1±2,74	93,2±4,55
АсАт, Ед/л	217,3±6,4	214,3±5,2	250,0±4,8	146,0±7,31	219,0±3,64
Щелочная фосфатаза, Ед/л	422,7±5,38	335,7±7,14	304,4±3,64	413,0±5,03	286,1±4,52
Амилаза, Ед/л	479,2±5,18	427,0±4,03	463,5±4,72	609,0±6,28*	531,2±3,49
Креатинин, ммоль/л	49,4±3,04	45,5±2,11	53,1±2,73	51,43±1,94	42,9±0,86
Билирубин, ммоль/л	5,98±0,34	5,33±0,57	5,74±0,51	6,03±0,79	5,92±0,33
Прямой билирубин, ммоль/л	2,0±0,12	1,7±0,27	2,0±0,16	2,4±0,32	1,73±0,09
Кальций ммоль/л	1,59±0,21	1,58±0,13	1,49±0,20	1,68±0,41	1,52±0,08
Фосфор, ммоль/л	1,87±0,01	1,86±0,012	2,54±0,24	1,18±0,09	2,1±0,16
Хлориды, ммоль/л	101,7±1,23	103,0±3,42	100,1±3,01	101,6±2,78	99,3±4,65

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с группой контроля

Уровень общего белка в группах, в которых фитоглинол вводился за 5 дней до термирования, был ниже значений интактного контроля на 3,75 (1 группа) и 10,4 % (2 группа) соответственно. При этом доза введения препара-

та оказала прямое влияние на степень снижения концентрации белка в сыворотке крови. То есть, большая дозировка (0,5 мл/животное) позволила предотвратить протеиновые потери, несмотря на наличие дополнительного стресса, обусловленного внутримышечными манипуляциями. Тогда как в третьей опытной группе уровень общего белка находился в пределах значений крыс, не подвергавшихся термированию.

Одним из ранних маркеров метаболических изменений при стрессовых ситуациях является резкое увеличение глюкозы в крови (так называемой стрессовой гипергликемии), обусловленной реакцией организма на критическую ситуацию. Стресс способствует активизации выработки гормонов контринсулярной системы – глюкокортикостероидов и катехоламинов, стимулирующих глюконеогенез и гликогенолиз в печени, вызывая гипергликемию. При этом запасы гликогена в организме быстро становятся свободными углеводами, обеспечивая энергетическую потребность для мобилизации организма в условиях стресса.

В нашем случае, во всех опытных группах стрессовое термирование животных на фоне повышенной влажности привело к перестройке и компенсации энергетического обеспечения, способствуя сохранению высокого уровня сахара крови, (в рамках значений интактных крыс), а в 3 опытной группе – даже превышая концентрацию глюкозы на 34,9 %. Тогда как в группе контрольных аналогов установлено значительное снижение (в 1,97 раза) уровня глюкозы по отношению к здоровым животным. По опытным крысам различия с группой контроля составили 2,21; 1,51 и 2,57 раза в пользу животных, которым проводилась фармакокоррекция.

Увеличение уровня холестерина в сыворотке крови крыс, перенесших хронический стресс (1 опытная группа – на 43,5 %, третья опытная группа – на 21,7 %), может быть связано с развитием компенсаторной реакции организма животных.

При оценке ферментной активности у подопытных крыс зафиксированы определенные изменения по уровню амилазы, концентрация которой была повышена только в контрольной группе грызунов. Следует учитывать, что стрессовые воздействия, как правило, приводят к снижению уровня инсулина в крови, что не позволяет покрыть возрастающих метаболических потребностей организма (в том числе, за счет углеводов) и при длительном течении способствует развитию диабетического кетоацидоза. Исходя из биохимических показателей животных контрольной группы, стрессовое термирование, хотя и не носило длительный затяжной характер, но привело к метаболической перестройке организма крыс, не позволяющей быстро запустить адаптационные механизмы организма крыс. Тогда как применение фитоглинола привело к активации адаптационных механизмов, предупреждая нарастание патологических процессов в организме животных.

У крыс, перенесших термирование после предварительной фармакокоррекции фитоглинолом, отмечалось статистически значимое снижение аланинаминотрансферазы – в 1,61 и 1,97 раза ($p < 0,05$) в сравнении с интактной группой животных. С контролем различия по данным группам составили 23,8 и 33,4 % соответственно. Поскольку АлАТ аккумулируется преимущественно в цитозоле клеток, снижение ее активности в крови можно расценивать как признак повышения липидного слоя плазматических мембран гепатоцитов.

Рассматривая активность аспаратаминотрансферазы, можно установить прямую корреляционную связь ее повышения во всех опытных группах (в среднем на 46,5-71,2 %) с увеличением концентрации глюкозы, поскольку АсАТ, помимо всего прочего, является маркером интенсивности энергетического обмена и степени его катаболической выраженности.

Остальные биохимические показатели сыворотки крови не имели статистически значимых различий у крыс опытных и контрольной групп.

Развитие стресс-синдрома у лабораторных животных характеризовалось накоплением в организме продуктов перекисного окисления липидов – как первичных (диеновые конъюгаты, кетодиены), так и вторичных (малонового диальдегида) и нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия, приводящего к повреждению клеточных мембран и повышению их проницаемости (таблица 28) (Мышкин В.А., 2018).

Таблица 28 – Влияние фитоглинола на состояние антиоксидантных процессов в организме белых крыс, подвергшихся тепловому стрессу ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	1 Опытная	2 Опытная	3 Опытная	Контроль	Интактные
ДК ⁽²³²⁾ , опт.ед/мг липидов	0,68±0,07	0,63±0,03	0,70±0,06	0,88±0,13	0,57±0,09
КД ⁽²⁷³⁾ , опт.ед/мг липидов	0,43±0,02	0,54±0,07	0,42±0,02	0,60±0,02	0,34±0,04
МДА ⁽⁵³⁷⁾ , мкМ/л	1,87±0,12*	2,06±0,16*	2,12±0,25	2,81±0,016	2,46±0,011

Различия достоверны * $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля

Негативный эффект теплового воздействия на крыс сопровождался активацией процессов ПОЛ и накоплением в крови продуктов перекисидации – увеличением содержания диеновых конъюгатов – на 19,3; 10,5; 22,8 % (опытные группы) и 54,4 % (группа контроля) относительно животных, не участвующих в процессе термирования и кетодиенов – на 26,5; 32,4; 23,5 и 47,1 % соответственно.

Концентрация малонового диальдегида (МДА) возросла только в контрольной группе крыс – на 14,2 %, тогда как у животных первых двух опытных групп, получавших в качестве превентивного курсового (5 дней) назначения фитоглинол в различных дозах, уровень МДА снизился как по отношению к группе контроля – в 1,5 и 1,36 раза, так и по отношению к интактным крысам – в 1,32 и 1,2 раза. Следует отметить, что подобная картина наблюдалась и в третьей опытной группе, в которой фармакокоррекция фитоглинолом осуществлялась непосредственно перед процедурой термирования, однако количество вторичных продуктов распада полиненасыщенных

жирных кислот в ней было выше (на 13,2 % в сравнении с первой опытной группой и на 2,9 % в сравнении со второй опытной группой).

Анализируя полученные данные, можно предположить, что постоянное длительное воздействие повышенных температур не позволяет на первой линии антиоксидантной защиты организма остановить образование первичных продуктов липопероксидации, которые, накапливаясь, повышают пул диеновых конъюгатов и кетодиенов в крови подопытных животных. Однако филоглинол достоверно препятствует накоплению в организме малонового диальдегида, который в настоящее время рассматривается в качестве маркера оксидативного стресса.

Таким образом, с учетом достоверности полученных результатов и наблюдаемой динамики содержания основных компонентов ПОЛ в сыворотке крови экспериментальных крыс, подвергнутых стрессорному влиянию, можно говорить об антиоксидантной активности филоглинола в условиях теплового воздействия. Активные компоненты препарата обладают взаимопотенцирующими эффектами, проявляя антиоксидантное, мембраностабилизирующее и гепатопротективное действие, что, в конечном итоге, способствует снижению интенсивности перекисных процессов.

При фармакокоррекции оксидативного стресса важное значение приобретает оценка патогенетических аспектов поражения организма токсическими продуктами липопероксидации – эндотоксикоза организма как универсального синдромакомплекса, выраженность которого выступает критериями тяжести заболевания и прогнозирования его исхода. Синдром эндогенной интоксикации обусловлен накоплением в тканях и биологических жидкостях эндотоксинов – так называемых молекул средней массы (МСМ) или среднемолекулярных пептидов (СМП) – недоокисленных продуктов как естественного обмена, так и образовавшихся в результате патологических состояний организма. Существенная особенность МСМ заключается в их отчетливо выраженной высокой биологической активности.

Поэтому, по окончании опыта нами была проведена оценка влияния повышенных температур на выраженность синдрома эндогенной интоксикации у лабораторных крыс, оцениваемая по концентрации МСМ в крови животных (таблица 29).

Таблица 29 – Влияние фитоглинола на уровень эндогенной интоксикации в организме белых крыс, подвергшихся тепловому стрессу ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	1 Опытная	2 Опытная	3 Опытная	Контроль	Интактные
237 нм, усл. ед.	0,89±0,002	0,79±0,012	0,87±0,025	0,98±0,13	0,80±0,016
254 нм, усл. ед.	0,28±0,014	0,28±0,018	0,25±0,009*	0,32±0,015	0,24±0,021
280 нм, усл. ед.	0,34±0,017	0,25±0,013*	0,29±0,011	0,38±0,010	0,27±0,03

Различия достоверны * $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля

При измерении использовались различные длины волн: 237 нм (результат нарушения внутриклеточного гомеостаза и накопления в избытке вторичных метаболитов – гидрофобных токсинов, обладающих высоким сходством с биологическими структурами, находящимися в плазме и в практически полностью связанном состоянии в виде комплексов с альбумином или липопротеинами низкой плотности), 254 нм (фракции МСМ, обусловленные накоплением промежуточных продуктов интенсивного протеолиза – гормонов, серотонина, продуктов деградации фибрина) и 280 нм (фракции МСМ, обусловленные накоплением биологически активных веществ – остатков ароматических (триптофан, тирозин, фенилаланин), гетероциклических (гистидин) и серосодержащих (цистин) аминокислот).

При проведении измерений на длине волны МСМ $\lambda=237$ нм, в двух опытных (1 и 3) и контрольной группах получены результаты, свидетельствующие о повышении содержания МСМ после термирования. Однако значения среднемолекулярных пептидов в опытных группах были близки к таковым у интактных крыс и колебались в пределах 1,2-10,1 %. Тогда как в группе контрольных крыс увеличение молекул средней массы составило 22,5 %.

При использовании длин волны $\lambda=254$ и 280 нм полученные данные были аналогичными – во всех опытных группах отмечалось умеренное увеличение СМП, за исключением контроля, значения которых превосходили показатели интактной группы на 25,0-33,3 %. Хотя данные оказались достоверными лишь при использовании длины волны $\lambda=280$ нм.

Обнаруженные повышения концентрации МСМ у крыс, подвергнутых термированию, могут быть обусловлены накоплением протеолитических ферментов в крови, а также катаболическими процессами и усилением реакций эндогенной интоксикации, сопровождающих развитие протеолиза клеточных мембран под действием агрессивных перекисей.

Таким образом, снижение содержания различных фракций молекул средней массы в крови крыс, получавших препарат фитоглинол, коррелирует с другими лабораторными тестами, проведенными в процессе эксперимента и не только отражает развитие компенсаторных реакций, направленных на восстановление гомеостаза, но и служит маркером эффективности проводимой терапии при активации процессов свободнорадикального окисления, возникающих на фоне стрессовых нагрузок на организм.

Характер поражения тканей внутренних органов у модельных животных на фоне длительной гипертермии оценивали по изменению гистологической картины печени, сердца, селезенки, почек и легких лабораторных крыс.

При гистологическом исследовании органов интактных животных визуализировались следующие явления:

– печень – представлена правильными гексанальными дольками с радиально расположенными печеночными балками, между которыми располагаются синусоидальные капилляры, выстланные эндотелием. Большинство гепатоцитов имеют одно хорошо окрашенное ядро и гомогенную цитоплазму;

– сердце – эпикард, миокард, эндокард и субэндокардиальный слой у большинства животных без патологических особенностей. Кардиомиоциты

имеют типичный вид и нормальное расположение, сосуды стромы умеренно кровенаполнены;

– селезенка – общая структура органа сохранена, отмечено нормальное соотношение красной и белой пульпы. Красная пульпа умеренно полнокровная, имеет нормальный клеточный состав, представленный зрелыми лимфоцитами. Сосудистые структуры без морфологических изменений;

– почки – строение коркового и мозгового слоев имеет типичное строение, структура клубочкового аппарата без нарушений, базальные мембраны не утолщены;

– легкие – структура стенок бронхов сохранена, морфологических изменений в легких не отмечено.

Гистологические исследования срезов тканей органов крыс контрольной группы выявили следующие изменения:

– в ткани печени – в большинстве случаев в гепатоцитах имеются очаги жировой и зернистой дистрофии, сосуды кровенаполнены, выявляются околососудистые пролифераты лимфоидных клеток (рисунок 26, 27);

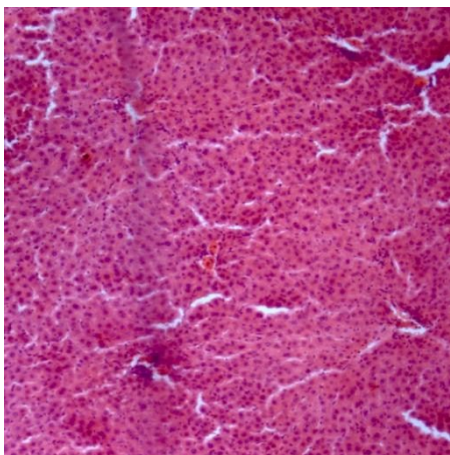


Рисунок 26 – Очаги зернистой и жировой дистрофии в печени

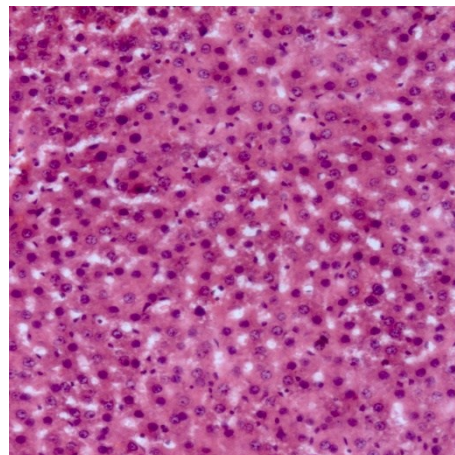


Рисунок 27 – Капли жира в печени

– почки – некоторые клубочки в состоянии атрофии, сосуды кровенаполнены, встречается пролиферация лимфоидных клеток (рисунок 28);

– в ткани легких – расширение воздушных пространств с деструктивными изменениями и разрывом стенок альвеол, эмфизема (рисунок 29);

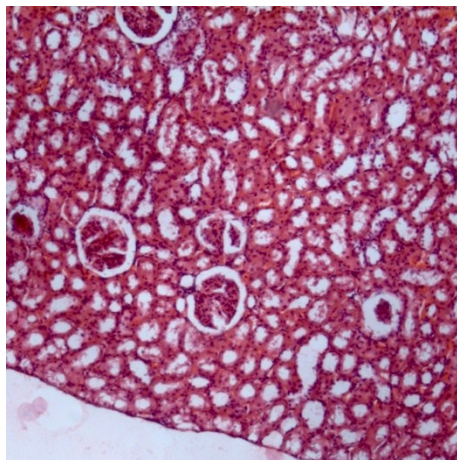


Рисунок 28 – Проллифераты лимфоидных клеток в почках

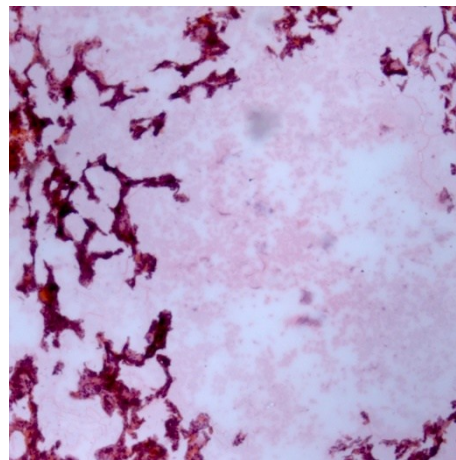


Рисунок 29 – Эмфизема легких

- сердце, желудок – без патологий;
- кишечник – диффузные пролифераты лимфоцитов;

При гистологическом исследовании тканей у крыс всех экспериментальных групп (100 %), подвергшихся термированию, наблюдались изменения, которые, тем не менее, имели определенные отличия:

– печень – во второй и третьей опытных группах, которым фитоглинол вводился в течение 5 дней до термирования и далее, на фоне стрессового воздействия, в большинстве срезов в гепатоцитах встречаются ацидофильные мелкие включения с небольшими очагами с жировыми каплями. Вокруг сосудов наблюдаются участки лимфоидной пролиферации (рисунок 30).

В почках – встречается кровенаполненность сосудов. В селезенке – умеренное наполнение красной пульпы, в большинстве срезов ткани строение фолликулов сохранено, незначительная лимфоидная пролиферация.

В тканях легких – основная часть органа без изменений. Во второй группе выявлен один очаг с эмфиземой (расширение воздушного пространства с деструктивным изменением), в третьей группе – подобные очаги встречаются в ряде случаев (рисунок 31).

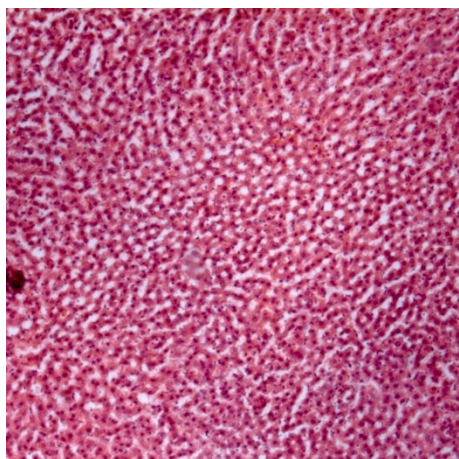


Рис. 30 – Ацидофильные включения с жировыми каплями

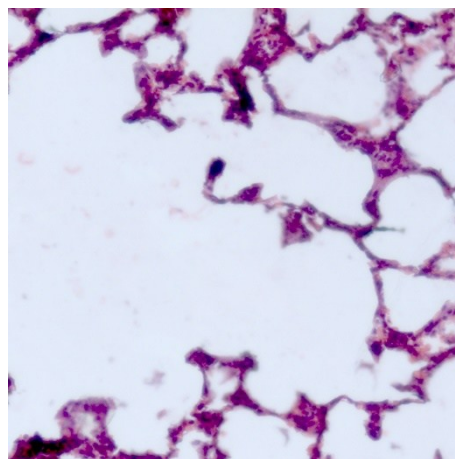


Рис. 31 – Эмфизема в легких

В группе с применением 0,25 мл фитоглинола в ткани желудка и кишечника выявлено нарушение архитектоники и структуры, встречаются диффузные пролифераты из лимфоцитов (рисунок 32). В группе с применением 0,5 мл фитоглинола подобные нарушения в желудке и кишечнике отсутствуют (рисунок 33).

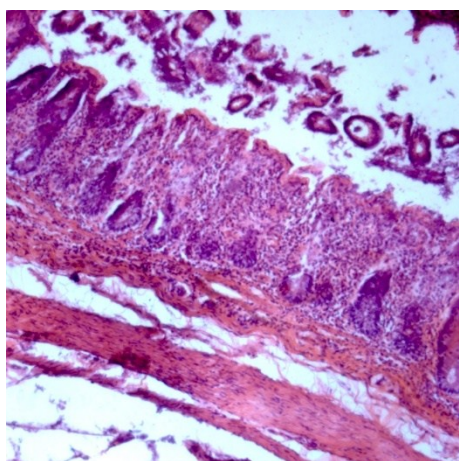


Рисунок 32 – Диффузные пролифераты из лимфоцитов в желудке

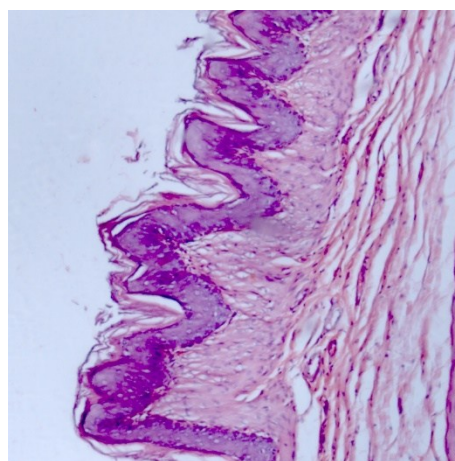


Рис. 33 – Ткань желудка без патологий

В четвертой группе крыс гистологические нарушения в органах были близки к изменениям, наблюдаемым у крыс контрольной группы.

Полученные данные позволяют предположить, что превентивное применение фитоглинола в большей дозировке снижает частоту развития пато-

логии внутренних органов лабораторных животных, возникающих на фоне длительного стрессорного воздействия, за счет непосредственного действия компонентов препарата, препятствующих разрушению клеточных структур органов продуктами липопероксидации, образовавшихся при развитии оксидативного стресса.

4.4 Оценка клинической эффективности препарата фитоглинол

4.4.1 Эффективность фитоглинола при профилактике оксидативного стресса у стельных коров в период сухостоя

В данном разделе результаты исследования и их анализ опубликованы в виде научных статей в следующих изданиях: Научные основы повышения продуктивности и здоровья сельскохозяйственных животных. Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2019. – Т.8. – № 2. – С. 269-274; Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции Сборник статей по материалам VI Международной научно-практической конференции. Краснодар, 2020. С. 165-171; Наука, образование и инновации для АПК: состояние, проблемы и перспективы: Материалы VI Международной научно-практической конференции. Майкоп, 2020. – С. 278-281.

Современные технологические условия кормления и содержания молочных коров, обусловленные интенсификацией производства, сопровождаются постоянным влиянием на их организм различных стрессовых факторов различной силы и длительности. Коровы подвергаются этому пагубному процессу в наиболее сложные периоды процесса эксплуатации, такие как, беременность, роды и послеродовой период. Переходный период между поздней беременностью и ранней лактацией ассоциируется с изменениями липидного и белкового обмена (Castillo C., Hernandez J. et al., 2006). Сокращение энергии в первые недели после родов приводит к увеличению мобилизации жира, что

связано с образованием перекисей липидов и активных форм кислорода (АФК). Эти АФК обычно нейтрализуются достаточными уровнями антиоксидантов в организме животного. Дисбаланс между производством АФК и оборонной способностью биологических систем организма для очистки этих реактивных промежуточных продуктов вызывают окислительный стресс (Trevisan et al. 2001). Активация свободнорадикальных процессов на фоне истощения антиоксидантной системы, приводит к нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма. Именно поэтому важно в процессе интенсивной метаболической перестройки организма коров, которым является сухостойный период, проводить фармакокоррекцию стрессовых состояний с помощью препаратов, обладающих адаптогенной и стресс-лимитирующей направленностью.

Опыт по изучению профилактической эффективности препарата фитоглинол при оксидативном стрессе у стельных коров проведен на базе учебно-опытного хозяйства «Кубань» Кубанского ГАУ на коровах 8-го месяца стельности со средней массой тела 520-600 кг. Предварительные исследования физиологического состояния животных, оцениваемые по клиническому статусу и биохимическому профилю сыворотки крови, показали, что в организме сухостойных коров в условиях промышленного содержания, характеризующегося наличием огромного количества факторов, к которым вынужден приспособляться организм, выявлен ряд метаболических нарушений (таблица 30).

Уровень общего белка во всех исследуемых пробах находился за нижней границей референсных значений, причем, дефицит протеина подтверждался низкими значениями альбуминовой фракции, концентрация которой едва достигала 73 % от физиологически нормальных показателей. При этом уровень гамма-глобулинов в большей части образцов был умеренно повышен, что, на фоне снижения β -глобулиновой фракции характеризовало наличие выраженной диспротеинемии в белковом спектре сыворотки крови коров.

Таблица 30 – Биохимические показатели сыворотки крови сухостойных коров ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Фоновые значения	Границы референсных пределов
Общий белок, г/л	76,47±3,24	79-89
Белковые фракции, %		
альбумины	33,4±2,14	40-52
α-глобулины	14,8±0,93	12,8-17
β-глобулины	9,2±1,07	10-17
γ-глобулины	42,6±5,21	24-40
Мочевина, ммоль/л	8,66±0,72	3,3-8,8
Холестерин, ммоль/л	2,18±0,14	4,7-6,2
Глюкоза, ммоль/л	3,78±0,86	2,2-3,9
АлАт, Ед/л	28,9±2,06	7-35
АсАт, Ед/л	72,4±6,12	45-110
Креатинин, ммоль/л	79,7±3,81	62-163
Билирубин, ммоль/л	7,4±1,2	0,17-5,13
Триглицериды ммоль/л	0,26±0,07	0,33-0,79
Кальций ммоль/л	1,92±0,53	2,5-3,8
Фосфор, ммоль/л	1,81±0,23	1,4-2,3
Щелочная фосфатаза, Ед/л	163,4±5,17	17,5-152
Кортизол., нг/мл	45,6	40,4-70,3
МСМ, длина экстинции		
237 нм	0,63±0,02	0,50-0,65
254 нм	0,31±0,017	0,10-0,20
280 нм	0,29±0,01	0,12-0,15
ДК ₍₂₃₂₎ , опт.ед/мг липидов	2,27±0,16	1,05-1,22
КД ₍₂₇₃₎ , опт.ед/мг липидов	0,26±0,09	0,08-0,20
МДА ₍₅₃₇₎ , мкМ/л	2,78±0,24	0,8-1,7

Состояние липидного обмена было обусловлено низкими значениями как холестерина, так и нейтральных жиров – триглицеридов. Рассматривая данные метаболического гомеостаза, можно отметить, что у коров дефицит этих показателей, скорее всего, обусловлен отрицательным энергетическим балансом, вызванным ограничением кормового рациона в сухостойный период. При этом концентрация глюкозы, как основного источника энергии, находилась в пределах видовых границ нормы и была достаточно высокой –

3,78±0,86 ммоль/л, что указывает на то, что в процессе метаболической перестройки в организме коров, находящихся на поздних стадиях стельности, происходит накопление энергетических запасов, которые частично пополняются за счет окисления липидов.

В образцах крови отмечено повышение общего билирубина (в 1,44 раза от верхних пределов видовой нормы), что может указывать на наличие деструктивно-дистрофических изменений в гепатоцитах печени.

Нарушен фосфорно-кальциевый баланс, связанный со снижением концентрации общего кальция.

Рассматривая показатели щелочной фосфатазы можно отметить, что ее умеренное увеличение, в данном случае, не являлось патологическим, а было связано с физиологическими процессами организма животных, обусловленными предстоящими родами.

Эндогенная интоксикация протекает как каскадный процесс, формируемый на ранней стадии реактивно-токсических реакций в организме. В качестве универсального биохимического маркера ЭИ наиболее перспективным является изучение содержания в крови метаболитов, названных «средними молекулами» (СМ), с которыми, в основном и связывают понятие токсемии (Карякина Е.В., Белова С.В., 2004; Малахова М.Я., 2000). Уровень СМ, прежде всего, отражает степень патологического белкового метаболизма и коррелирует с основными клиническими и лабораторными прогностическими критериями обменных нарушений.

При оценке показателей молекул средней массы в крови коров лабораторно просматривается увеличение их концентрации на длинах волны, составляющих 254 нм и 280 нм оптической плотности. Данные соединения, образующиеся в результате катаболизма, относятся к молекулам, содержащим неароматические аминокислоты, продукты распада клеток, пептидные гормоны, а также продукты аномального метаболизма. МСМ, нарушая физико-химические свойства клеточных мембран, делают их более доступными для

разного рода повреждений, включая процессы липопероксидации. При этом окислительная модификация липидов, со своей стороны, вызывает более глубокие изменения клеточного липидного слоя, подвергая клетки разрушению и протеолизу (расщеплению), что только усугубляет метаболические нарушения, ставшие причиной их синтеза (Кошоридзе Н.И. с соавт., 2010).

При оценке показателей липопероксидации у сухостойных коров установлено чрезмерное увеличение всех продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), обуславливающих развитие оксидативной стресс-реакции организма животных (Поносов, С.В., 2016). При этом содержание диеновых конъюгатов, являющихся первичными продуктами ПОЛ, в сыворотке крови превысило верхнюю границу нормативных критериев в 1,8 раза. Концентрация кетодиенов (продукты распада ненасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот), была увеличена на 30,0 %. Вторичные продукты ПОЛ, основным компонентом которых является малоновый диальдегид, были повышены в 1,63 раза. Таким образом, по результатам лабораторных исследований можно говорить о значительных метаболических нарушениях в организме стельных коров, обусловленных гиперактивацией системы ПОЛ на фоне эндотоксикоза.

Для проведения эксперимента было сформировано четыре группы коров по 10 животных в каждой. Первой и второй группам внутримышечно один раз в сутки вводился фитоглинол в дозах 7 и 10 мл/животное. Третьей группе коров ежедневно внутримышечно инъецировали препарат эмидонол 10 % (антиоксидант, ингибитор свободнорадикальных процессов) в дозе 10 мл/животное. Контрольным животным в том же режиме вводили физиологический раствор. Инъекции препаратов проводились в течение 10 дней с использованием адаптированного ветеринарного шприца-вакцинатора.

Анализ проведенных исследований сыворотки крови коров, взятой на 10 день эксперимента, показал, что использование фармакологических препаратов в условиях повышенной стрессогенности условий содержания и

кормления стельных животных и активизации на этом фоне процессов липопероксидации, оказало влияние на гомеостаз, а также выраженность эндогенной и окислительной индукции среднемолекулярных пептидов и продуктов ПОЛ у коров (таблица 31).

Таблица 31 – Биохимические показатели сыворотки крови коров по завершению эксперимента ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1-опытная	2-опытная	3-опытная	Контрольная
Общий белок, г/л	82,9±3,8	81,8±2,2*	73,5±3,6	74,4±4,5
Белковые фракции, %				
альбумины	37,1±1,4	38,4±2,53	32,5±1,8	30,8±3,7
α-глобулины	13,6±0,9	15,2±1,1	14,6±0,57	17,3±1,65
β-глобулины	11,7±0,4	12,0±0,88	13,3±1,02	11,8±0,43
γ-глобулины	37,6±1,5**	34,4±2,7	39,6±2,1	40,1±3,16
Мочевина, мМ/л	7,24±0,4	6,36±0,7*	8,01±0,8	11,84±1,2
Холестерин, мМ/л	2,34±0,23	2,9±0,23	1,92±0,24	2,16±0,12
Глюкоза, мМ/л	3,85±0,12*	3,67±0,3	3,5±0,5	2,9±0,4
АлАт, Ед/л	26,5±1,54	21,0±1,23	25,0±2,4	36,5±2,14
АсАт, Ед/л	75,0±3,12	72,1±3,4	96,5±2,45**	107,0±3,4
Креатинин, мМ/л	89,2±2,4	85,1±6,2	93,4±5,4	106,9±2,5
Билирубин, мМ/л	6,5±0,32	6,0±0,45	8,2±0,6	7,4±0,8
Триглицериды мМ/л	0,25±0,08	0,30±0,04	0,23±0,07	0,2±0,04
Кальций мМ/л	2,2±0,1	2,4±0,15	2,2±0,11	2,3±0,12
Фосфор, мМ/л	2,01±0,12	1,91±0,07	2,05±0,17	2,1±0,09
Щелочная фосфатаза, Ед/л	176,0±6,4*	183,0±6,8	178,0±5,8	210,0±6,0
Кортизол, нг/мл	38,6±1,05	37,7±0,72	39,5±0,81	63,6±1,24

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с группой контроля

При сравнении показателей белкового обмена в опытных группах, в которых применялся фитоглинол, установлено увеличение уровня общего белка – на 8,4 и 6,9 %, тогда как в группе с применением эмидонола и в группе контроля концентрация общего белка снизилась (в среднем на 3,0-4,8 %). Для данных групп характерным было и уменьшение уровня альбуминов по

сравнению с фоновыми значениями при сохранении более высоких показателей γ -глобулинов.

Концентрация мочевины в первых трех группах снизилась – на 16,7; 27,7 и 7,5 % соответственно, тогда как у контрольных коров ее уровень увеличился на 36,7 %. На поздних сроках стельности, как правило, происходит задержка и накопление азотистых веществ, при этом уровень мочевины снижается в связи с повышением утилизации белка, обусловленной положительным азотистым балансом. В нашем случае, оба препарата способствовали снижению концентрации азота и накоплению в крови продуктов распада мочевины, которые, накапливаясь в организме в виде вторичных метаболитов, могут выступать в качестве одного из маркеров эндогенной интоксикации.

В углеводном и липидном обмене значимых изменений установлено не было. Уровень глюкозы, триглицеридов и холестерина по группам имел тенденцию к повышению только в опытных группах с приоритетом по второй группе, в которой фитоглинол применялся в дозе 10 мл/животное.

В ферментной активности изменения были выявлены по содержанию аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, которые в группе контрольных коров превышали аналогичные значения опытных животных на 42,7; 48,4 и 10,9 % (АсАТ) и 19,3; 14,8 и 12,0 % (ЩФ) соответственно. Остальные показатели находились в пределах видовой нормы и существенных изменений не претерпевали.

Острый и хронический стресс у КРС сопровождается повышением в крови кортизола, что обусловлено изменениями в системе ПОЛ и антиоксидантной защиты организма (Макарова Я.С., 2010). При оценке содержания в крови кортизола после применения фитоглинола и препарата-аналога в сравнении с фоновыми показателями отмечено его снижение в первой опытной группе на 15,4 %, во второй – на 17,3 %, в третьей – на 13,4 %, тогда как у контрольных коров уровень кортизола увеличился на 37,3 %.

Применение фитоглинола позволило выявить положительную динамику при оценке показателей среднемолекулярных пептидов (таблица 32).

Таблица 32 – Влияние препаратов на уровень эндогенной интоксикации (МСМ) у коров ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели МСМ в зависимости от длины волны	Группы			
	1 Опытная	2 Опытная	3 Опытная	Контрольная
На 237 нм	0,57±0,04	0,53±0,08*	0,60±0,05*	0,72±0,04
На 254 нм	0,16±0,02*	0,18±0,01	0,19±0,06*	0,39±0,08
На 280 нм	0,11±0,01**	0,11±0,05*	0,12±0,03	0,24±0,04

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с группой контроля

Так, уровень среднемолекулярных пептидов в крови животных первых трех групп по прохождению курса фармакокоррекции был достоверно ниже показателей группы контроля на всех длинах волны.

В сравнительном аспекте с контрольными животными межгрупповые различия составили: в первой опытной группе – 20,8 % (при длине экспозиции 237 усл. ед.), 2,43 раза (при длине экспозиции 254 усл. ед.) и 2,18 раза (при длине экспозиции 280 усл. ед.); во второй опытной группе – 26,4 %, 2,17 и 2,2 раза; в третьей опытной группе – 16,7 %, 2,1 и 2,0 раза соответственно. При этом между опытными группами достоверных различий выявлено не было.

Введение эмидонола в схему фармакокоррекции показало хороший результат. Значения по уровню МСМ в этой группе были сопоставимы с показателями первой опытной группы, тогда как в группе, где фитоглинол применялся в дозе 10 мл/животное, снижение эндотоксикоза проявилось наиболее выражено. Можно сказать, что развитие эндотоксического состояния у опытных коров нивелировалось аналогично, как под действием фитоглинола, так и в ходе применения традиционной фармакокоррекции, обеспечивая снижение высоких уровней средних молекул в крови.

Применение фитоглинола и эмидонола, обладающих антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием в режиме ежедневного применения, оказало влияние на показатели липопероксидации (таблица 33).

Таблица 33 – Влияние препаратов на уровень продуктов ПОЛ у коров
($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	1 Опытная	2 Опытная	3 Опытная	Контрольная
ДК ₍₂₃₂₎ , опт.ед/мг липидов	1,98±0,21	2,05±0,12*	2,16±0,08	2,46±0,25
КД ₍₂₇₃₎ , опт.ед/мг липидов	0,23±0,04	0,18±0,05	0,20±0,09*	0,29±0,02
МД ₍₅₃₇₎ , мкМ/л	2,24±0,18	2,19±0,17**	2,38±0,13	3,54±0,24

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с группой контроля

В сравнении с фоновыми значениями уровень первичных метаболитов ПОЛ в опытных группах снизился на 12,8; 9,7 и 4,8 % (ДК) и 11,5; 30,8 и 23,1 % (КД). Однако указанные продукты являются неустойчивыми, поэтому в группах наблюдались достаточно широкие колебания показателей. Вместе с тем, содержание в крови коров малонового диальдегида, обладающего относительно устойчивым составом, было ниже у животных, которым применялся фитоглинол. Различия с третьей опытной группой составили 5,9 и 8,0 %, а с контрольными аналогами – 36,7 и 38,1 % соответственно.

Таким образом, у коров контрольной группы на фоне развития оксидативного стресса, обусловленного особенностями физиологического состояния и технологическими погрешностями в кормлении и содержании в крови наблюдалось накопление продуктов перекисного окисления липидов, тогда как использование предупредительной фармакокоррекции животным оказало нормализующее влияние на показатели метаболического статуса, препятствовало развитию эндотоксемии и инициации процессов липопероксидации на ранней стадии реактивно-токсических процессов. При этом фитоглинол в дозе 7 мл/животное оказал сопоставимый фармакологический эффект в сравнении с препаратом-аналогом, а в дозе 10 мл/животное его превзошел, обеспечивая высокое стресс-протекторное и антиоксидантное действие.

4.4.2 Эффективность фитоглинола для коррекции послеродового стресса у новотельных коров

Отел и, в целом транзитный период, является значительным стрессом для коров, поскольку, в это время организм животных подвержен ряду гормональных перестроек на фоне увеличения физиологических потребностей, смены условий кормления и содержания, что может привести к развитию серьезных послеродовых осложнений, потере массы тела и снижению продуктивности животного (Волкова С.В., 2008). Состояние физиологического стресса при родах сопровождается активацией прооксидантной системы, вызывающей усиление процессов окислительной деструкции биоструктур, как основу поражения тканей, нарушения физиологического состояния животного (Патюков А.Г., 2014)

Опыт по коррекции послеродового стресса был проведен на новотельных коровах (10-14 дней после отела). Данный эксперимент явился продолжением исследования эффективности фитоглинола на организм коров сухостойного периода. При этом структура опыта включала использование трех групп животных – две опытные и контрольную. Опытные группы были сформированы из коров, которым на 8-м месяце стельности вводился фитоглинол в дозах 7 и 10 мл/животное в течение 10 дней. Контрольным животным в этой серии вводился физиологический раствор в дозе 10 мл/животное.

Схема настоящего эксперимента предусматривала коровам опытных групп внутримышечное введение фитоглинола в дозах 20 и 15 мл/животное, контрольной группе – физиологического раствора в дозе 15 мл/животное в течении 7 дней (таблица 34).

Таблица 34 – Схема опыта (n=10)

Группа	Препарат	Доза
1 – опытная	фитоглинол	20 мл, внутримышечно
2 – опытная	фитоглинол	15 мл, внутримышечно
Контрольная	физиологический раствор	15 мл, внутримышечно

Кровь для оценки гомеостатической составляющей организма коров, включающей определение биохимических показателей, гормонального статуса (по уровню кортизола), продуктов липопероксидации и степени развития эндотоксикоза по содержанию МСМ отбиралась в динамике – на 10-14 дни после отела (фоновые показатели), а затем, по прошествии семи дней, после применения фитоглинола (таблица 35).

Таблица 35 – Динамика биохимических исследований крови коров в послеотельный период ($M \pm m$, $n=10$)

Показатели	На 10-14 дни после отела	После применения препаратов		
		1-опытная	2-опытная	Контрольная
Общий белок, г/л	78,31±3,2	80,2±4,2	77,4±3,4	77,31±3,5
Белковые фракции, %				
альбумины	35,7±2,6	45,4±4,1	40,8±2,6	33,6±4,2
α-глобулины	11,6±0,94	10,8±2,2	11,6±1,8	12,8±2,4
β-глобулины	8,3±0,51	7,9±1,2	8,6±1,6	8,3±1,2
γ-глобулины	44,4±0,16	35,9±4,6	39,0±4,3	45,3±4,3*
Мочевина, ммоль/л	6,3±0,8	7,6±0,51	7,2±0,5	6,9±0,26
Глюкоза, ммоль/л	2,45±0,24	2,74±0,11*	2,68±0,43	2,19±0,34
АсАт, Ед/л	129,3±8,12	111,5±4,1	131,0±2,4	145,3±3,5
АлАт, Ед/л	39,6±5,2	32,7±3,8	29,1±3,0	35,9±5,7
Щелочная фосфатаза, Ед/л	198,5±9,4	125,3±5,7**	134,2±6,7	186,0±5,7
Креатинин, ммоль/л	93,4±6,2	88,7±3,2	93,0±4,3	98,4±2,8
Общ. билирубин, мкмоль/л	6,1±0,9	4,0±1,2	5,5±2,3	7,6±1,8
Триглицериды ммоль/л	0,21±0,03	0,2±0,05	0,2±0,11	0,18±0,12
Кальций ммоль/л	2,2±0,11	2,2±0,07	2,15±0,08	2,2±0,04
Фосфор, ммоль/л	2,3±0,25	2,91±0,2	1,67±0,12	2,3±0,12
Хлориды, ммоль/л	92,16±5,1	90,8±3,2	91,3±2,3	94,4±3,2
Кортизол, нг/мл	65,7±2,2	48,3±4,3	35,0±2,5	104,2±4,04
МСМ, 237 нм	0,84±0,03	0,83±0,08	0,78±0,1*	0,82±0,08
МСМ, 254 нм	0,18±0,07	0,16±0,02	0,17±0,03	0,25±0,03
МСМ, 280 нм	0,29±0,02	0,21±0,02	0,14±0,01**	0,17±0,01
ДК ₍₂₃₂₎ , опт.ед/мг липидов	2,61±0,28	1,15±0,15	1,7±0,12	2,65±0,16
КД ₍₂₇₃₎ , опт.ед/мг липидов	3,23±0,43	0,97±0,05*	1,01±0,08	3,25±0,18
МДА ₍₅₃₇₎ , мкМ/л	1,06±0,09	0,51±0,12**	0,85±0,14	1,93±0,15

Различия достоверны * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с группой контроля

Анализ биохимических показателей сыворотки крови подопытных коров позволил выявить достоверное влияние фитоглинола на метаболическое состояние организма животных. При этом, наиболее значимые изменения регистрировались в углеводном и ферментном обменах. Так, в опытных группах использование стресс-протекторного средства позволило увеличить концентрацию глюкозы на 11,8 и 9,4 % соответственно, тогда как в группе контрольных коров уровень глюкозы, напротив, снизился на 10,6 % относительно фоновых значений.

По уровню ферментной активности была отмечена тенденция снижения АлАТ в опытных группах на 17,4 и 26,5 % при разнице с контрольными аналогами на 9,8 и 23,4 %. По АсАТ снижение на 13,8 % относительно показателей фона было установлено только в первой группе, однако межгрупповые различия по данному показателю у опытных и контрольных коров оказались существенными, особенно в группе с применением фитоглинола в дозе 20 мл/животное – 30,3 %. По второй группе различия составили 10,9 % в сторону снижения ферментной активности относительно контроля.

У животных в период новотельности значения показателей щелочной фосфатазы были повышенными, что является физиологичным. Тем не менее, применение фитоглинола позволило снизить ферментную активность на 36,9 и 32,4 % по группам, тогда как в группе контроля уровень ЩФ практически не изменился, из чего можно сделать вывод, что именно компоненты фитоглинола способствовали восстановлению цитоплазматической оболочки гепатоцитов и уменьшению её проницаемости, обуславливающей выход фермента в кровотоки. Эта сопряженность в концентрации ЩФ у животных всех групп подтверждалась динамикой изменения общего билирубина и имела закономерную прямую зависимость. Уровень общего билирубина в опытных группах коров был ниже фоновых значений на 35,5 и 9,8 %, показателей контрольной группы – на 47,4 и 27,6 % соответственно.

При оценке других биохимических констант крови существенного влияния фитоглинола на их динамику не установлено.

Уровень кортизола в крови новотельных коров первой опытной группы в сравнении с фоновыми показателями снизился на 26,5 %, второй – на 46,7 %, тогда как в контроле гормональная активность, напротив, увеличилась в 1,59 раз, что может указывать на усиление развития процессов оксидации.

Развитие синдрома эндогенной интоксикации у коров на завершающем этапе беременности сопровождается накоплением в крови молекул средней массы. Однако профилактическое введение фитоглинола сухостойным коровам позволило предотвратить их значимое увеличение, поэтому в период новотельности их концентрация у животных не была значимо высокой. Тем не менее, в опытных группах отмечены более низкие показатели на всех длинах волн: на 237 нм и 254 нм – на 1,2-7,4 % ($p < 0,05$) и 5,5-11,1 %, на 280 нм – в 1,38 и 2,1 раза ($p < 0,01$).

Следует отметить, что большое значение в развитии эндотоксикоза имеют процессы, ведущие к образованию свободных радикалов и инициируемые ими процессы перекисного окисления липидов. В нашем случае, применение фитоглинола, обладающего значительной антиоксидантной активностью, не только исключило метаболический эндогенный токсикоз, но и снизило в организме коров после отела промежуточные и конечные продукты липопероксидации, подтверждая интегральную картину между эндогенной интоксикацией и развитием оксидативного стресса. В первой опытной группе уровень диеновых конъюгатов по отношению к фоновым значениям снизился в 2,27 раза, кетодиенов – в 3,3 раза, малонового диальдегида – в 2,1 раза. Во второй опытной группе – в 1,53; 3,2 и 1,24 раза соответственно. Тогда как в контрольной группе новотельных коров значения всех продуктов ПОЛ сохранились на уровне фоновых, а по количеству МДА – даже увеличились в 1,82 раза.

Таким образом, фитоглинол способствовал ослаблению процессов липопероксидации на всех этапах формирования стресс-реакции, причем, его применение в дозе 20 мл/животное было более эффективно в плане снижения уровня эндогенного альдегида (МДА) – маркера оксидативного стресса, увеличение которого может привести к более выраженным нарушениям прооксидантно-антиоксидантного равновесия в органах и тканях и в значительной степени усугубить неблагоприятные последствия для организма.

Исходя из результатов эксперимента, можно сделать вывод о том, что для коррекции послеродового стресса у коров необходимы фармакологические средства с широким спектром защитно-восстановительной активности, действующие на клеточные процессы, определяющие способность клеток к репарации, а также повышающие общие адаптационные возможности организма животных. Рекомендуемой дозой фитоглинола для коров в этот период является 20 мл препарата.

5 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ФИТОГЛИНОЛА КОРОВАМ В РАННИЙ ПОСЛЕОТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Расчет экономической эффективности был произведен по результатам применения препарата фитоглинол новотельным коровам, принадлежащим учебно-опытному хозяйству «Кубань» Кубанского ГАУ имени И.Т. Трубилина. Для экономических расчетов была выбрана схема введения фитоглинола животным, при которой препарат показал наиболее выраженный терапевтический эффект, а именно: внутримышечное введение в дозе 20 мл 1 раз в сутки на протяжении 7 дней.

При определении экономической эффективности ветеринарных мероприятий проводится суммарная оценка таких показателей, как предотвращенный ущерб в хозяйствующем субъекте, дополнительная стоимость, полученная в результате увеличения количества и качества продукции, а также экономия трудовых и материальных затрат в результате применения новых ветеринарных методов и средств (Экономическая эффективность применения современных лекарственных средств в животноводстве, птицеводстве и звероводстве, Никитин Н.И., 2010, 2014).

В нашем случае, расчет проводился по оценке фактического экономического эффекта (Эф) – как отношение экономического эффекта (Ээ) к ветеринарным затратам (Зв), отражающего разницу между стоимостью продукции (молока), новорожденных телят и общехозяйственными затратами на их осуществление. В связи с чем, экономические показатели сравнивались между двумя группами животных – опытной и контрольной.

Показатель экономической эффективности рассчитывался по приведенной ниже формуле:

$$\text{Ээ} = \text{Дс} - \text{Зв}, \text{ где:}$$

Дс – стоимость продукции, полученной дополнительно в результате применения фитоглинола, руб.;

Зв – ветеринарные затраты, руб.;

Стоимость дополнительной продукции рассчитывалась по формуле:

$$Дс = А \times Ц \times (Впо - Впб), \text{ где}$$

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

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

А – количество животных в группе, голов;

Ц – стоимость реализации единицы продукции;

Зв – представляют собой затраты, объединяющие совокупность всех расходов, связанные с проведением ветеринарных мероприятий. Расчет производился по формуле:

$$Зв = Зм + Зот + Оот, \text{ где:}$$

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

Зот – затраты на оплату труда, руб.;

Оот – отчисление от оплаты труда, руб.;

Результаты расчета приведены в таблице 36.

Таблица 36 – Расчет экономической эффективности применения фитоглинола коровам

Показатели	
Расход фитоглинола, л	1,4
Стоимость 1 л препарата, руб.	1400,0
Заработная плата (Зот), руб.	25000,0
Начисления на фонд заработной платы (Оот), руб.	7550,0
Амортизация основных средств	–
Затраты на организацию производства	–
Прочие затраты (Пз), руб.	287,0

За период проведения профилактических мероприятий было израсходовано 1, 4 л препарата (20 мл на животное x на 7 инъекций x 10 голов).

Стоимость 1 литра препарата составила 1400,0 рублей.

Итого: $1400,0 \times 1,4 \text{ л} = 1960,0$ рублей.

Затраты на оплату труда и отчисления работника фермы составили:

$32550 : 30 \text{ (дней)} \times 7 \text{ (дней)} = 7595,0$ рублей.

В итоге, материальные затраты с учетом затрат на оплату труда и отчисление зарплаты работника фермы составили:

$Зв = 1960,0 + 7595,0 + 287,0 = 9842,0$ рублей;

где $7882,0 = Зот + Оот + Пз$;

Стоимость молока, полученного за счет применения коровам фитоглинола, составила:

$Дс = 10 \times 21,5 \times (1825,0 - 1515,0) = 66\ 650,0$ рублей.

Экономический эффект (Ээ) от применения фитоглинола составил:

$Ээ = 66650,0 - 9842,0 = 56808,0$ рублей.

Экономическая эффективность на 1 рубль затрат равна:

$Эр = 66650,0 : 9842,0 = 6,8$ рублей;

Из этого следует, что экономический эффект при профилактике послеродового стресса у коров составляет 6,8 рублей на один рубль затрат.

6 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование и разработка новых адаптогенных лекарственных препаратов для коррекции и профилактики патологий, связанных с стрессовой дезадаптацией, является актуальной проблемой современной ветеринарии. Оксидативный стресс, причиной которого выступает нарушение работы антиоксидантной системы и накопление в организме свободных радикалов, в настоящее время рассматривается как один из ведущих патогенетических механизмов возникновения различных физиологических отклонений и болезней у животных различной этиологии (Зенков Н.К., Ланкин Н.К., Меньшикова Е.Б., 2001). Так, высокопродуктивные животные в более высокой степени подвержены развитию отрицательных последствий стресс-синдромов.

Длительное стрессирующее воздействие приводит к нарушению регуляторной деятельности организма, где на фоне функционирования адренокортикотропной системы и напряженного функционирования всех органов, происходит главным образом, угнетение иммунитета, снижение воспроизводительной способности, патологии желудочно-кишечного тракта и желез внутренней секреции, снижение продуктивности животных (Бузлама С.В., 2003).

В свою очередь избыточное накопление свободно-радикальных продуктов приводит к повреждению биологических мембран клеток, снижению функциональной активности ферментов, нуклеиновых кислот, белков и липидов.

Большинство групп лекарственных препаратов, используемых в качестве антистрессантов, в частности, транквилизаторы и нейролептики, дают положительный седативный эффект, обладают выраженным противотревожным действием, но не всегда безвредно воздействуют на организм (Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., 2018; Мосолов С.Н., 1998). Применение аминокислот в сочетании с природными антиоксидантами и растительными компонентами позволит корректировать стрессовые состоя-

ния, оказывая успокаивающее действие на центральную нервную систему, устранить эмоциональную напряжённость, тревожность, а также нивелировать процессы перекисидации в организме (Хныченко Л.К., Сапронов Н.С., 2004; Хисамова А.А., Гизингер О.А., 2020).

При этом лекарственное средство на основе растительных и природных компонентов способно сочетать в себе не только безвредность, отсутствие побочных явлений, высокую переносимость животными, но и в экономическом аспекте, обладать доступными ценами, при их высокой фармакологической активности и терапевтической эффективности.

Данная работа посвящена разработке и исследованию фармако-токсикологических и терапевтических свойств нового комплексного инъекционного препарата фитоглинол, разработанного на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», в состав которого входит дигидрокверцетин (*Dihydroquercetinum*), аминокислота глицин (*Glycine*) и янтарная (*Acidum succinicum*) кислоты, водный экстракт душицы обыкновенной (*Origanum Vulgare L.*), диметилсульфоксид (*Dimethylsulfoxide*) и вода для инъекций.

По внешнему виду фитоглинол представляет собой водный раствор темно-коричневого цвета, специфического вкуса и запаха. Выпускается в стеклянных флаконах с затемненным стеклом объемом 100 мл, закупоренных резиновыми пробками с алюминиевыми колпачками. Срок годности при соблюдении условий хранения составляет 1 год со дня производства.

Все подобранные компоненты препарата обладают антиоксидантными, адаптогенными, стресс-протекторными и иммуномодулирующими свойствами, направленно действуя на механизмы угнетения свободнорадикального окисления, оказывая благоприятное действие на системные эффекты стресса, нормализацию метаболического фона и адаптационные возможности организма.

Исходя из результатов, полученных в ходе фармацевтической разработки фитоглинола было установлено, что препарат имеет рН, равный 4,09, не обладает апирогенностью, сохраняет стерильность и стабильность в течение 1 года.

Данные токсикометрии, а также наблюдения за подопытными лабораторными животными в постинтоксикационном периоде острого отравления, позволили отнести фитоглинол к 4-му классу опасности (вещества малоопасные), для которых диапазон доз LD₅₀ при внутрижелудочном введении в опытах на крысах составил более 5000 мг/кг (ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества»). Длительное внутримышечное введение препарата не оказывает токсического действия на органы и органокомплексы подопытных животных, проявляя, при этом ряд положительных эффектов на гравиметрические показатели и морфо-биохимический гомеостаз крови.

Препарат при длительном введении не вызывает отрицательного воздействия на органы пищеварительной и выделительной системы животных, не проявляет раздражающих и аллергизирующих свойств, эмбриотоксического и тератогенного действия, не влияет на течение беременности и роды лабораторных животных.

Ветеринарно-санитарной экспертизой мяса и бульона установлено отсутствие отрицательного влияния фитоглинола на качество и вкусовые особенности мяса кроликов.

В условиях экспериментально созданного модельного стресса в тесте «открытое поле» препарат фитоглинол проявил выраженное анксиолитическое действие, обусловленное снижением уровня тревоги и стрессового состояния лабораторных крыс при попадании в незнакомую ситуацию.

Оценка влияния препарата на организм лабораторных крыс после слабого стрессирующего воздействия, проведенного по методу Ю.И. Добрякова (1978), показала, что на фоне подвешивания животных с помощью шпагата, введение фитоглинола позволило предотвратить не только резкое снижение уровня лейкоцитов в крови, но и изменение содержания клеток лейкоцитар-

ного ряда, сохраняя более корректный состав белой крови животных, способствуя повышению неспецифической резистентности организма.

Парентеральное введение фитоглинола лабораторным крысам не позволило развиваться резкой гипергликемии как одному из маркеров стрессовой реакции, а также привело к частичному сохранению антиоксидантной защиты и уменьшению концентрации токсических продуктов ПОЛ. Разница по диеновым конъюгатам между опытными и контрольной группами составила 2,27-3,4 раза. Аналогичные изменения наблюдались и по кетодиенам. Межгрупповые различия находились на уровне 1,3-1,45 раза. Под действием фитоглинола в опытных группах произошло снижение отдельных фракций среднемолекулярных пептидов – на 23,1-38,5 % и на 9,3-11,6 %.

Оценка стресс-протекторного и антиоксидантного действия препарата на организм белых крыс, подвергнутых длительному тепловому стрессированию, показала, что превентивное введение фитоглинола позволило нормализовать терморегуляцию животных, повысить уровень лейкоцитов в 1,9-2,04 раза, процентное содержание нейтрофильных гранулоцитов – на 7,1-55,1 %, моноцитов – на 16,0-48,2 %, предотвратить протеиновые потери, сохраняя высокий уровень общего белка в сыворотке крови. Концентрация глюкозы в группах с применением фитоглинола была в 1,51-2,57 раза выше, чем у контрольных аналогов. Негативный эффект теплового воздействия на крыс сопровождался активацией процессов ПОЛ и накоплением в крови продуктов пероксидации – увеличением содержания диеновых конъюгатов и кетодиенов, однако в опытных группах их значения были менее выраженными, составляя 10,5-22,8 % против 54,4 % группы контроля. Таким образом, в условиях теплового воздействия можно говорить об антиоксидантной активности фитоглинола, а снижение содержания различных фракций молекул средней массы в крови крыс, получавших препарат фитоглинол, коррелирующее с другими лабораторными тестами, служит маркером эффективности

проводимой терапии при активации процессов свободнорадикального окисления, возникающих на фоне стрессовых нагрузок на организм.

Применение фитоглинола для профилактики оксидативного стресса у коров сухостойного периода оказало влияние на их гомеостаз, а также выраженность эндогенной и окислительной индукции спеднемолекулярных пептидов и продуктов ПОЛ. Препарат способствовал увеличению общего белка на 6,9-8,4 %, снижению уровня мочевины – на 7,5-27,7 %, ферментной активности – АсАТ – на 10,9-48,4 %, ЩФ – на 12,0-19,3 %. Уровень среднемолекулярных пептидов в крови опытных животных в зависимости от длины волны экспозиции был ниже в 2,17-2,43 раза. Процессы липопероксидации снизились на 9,7-12,7 % (ДК) и на 11,5-30,8 % (КД).

Проводимая фармакопрофилактика коровам, находящимся на 8 месяце стельности, оказала нормализующее влияние на показатели метаболического статуса, препятствовала развитию эндотоксемии и инициации процессов липопероксидации на ранней стадии реактивно-токсических процессов. При этом фитоглинол в дозе 7 мл/животное оказал сопоставимый фармакологический эффект в сравнении с препаратом-аналогом, а в дозе 10 мл/животное его превзошел, обеспечивая высокое стресс-протекторное и антитоксическое действие.

Внутримышечное введение фитоглинола в дозе 20 мл/животное в течение 7 дней способствует профилактике послеродового стресса у коров, снижая в крови уровень продуктов перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов – в 2,27 раз, кетодиенов – в 3,3 раза, малонового диальдегида – в 2,1 раза, предотвращает развитие эндотоксикоза и накопление в крови МСМ – в 1,2-2,1 раза, а также способствует восстановлению биохимических констант крови. Под действием препарата происходит увеличение концентрации глюкозы на 9,4-11,8 %, снижение ферментной активности – АсАТ – на 13,8 %, АлАТ – на 17,4-26,5 %, ЩФ – на 32,4-36,9 %. Уровень общего билирубина снижается на 9,8-35,5 %.

Экономическая эффективность от применения фитоглинола коровам в ранний послеотельный период составила 6,8 рублей на один рубль затрат.

Исходя из этого, можно сделать вывод, что использование нового инъекционного стресс-протекторного препарата не только обоснованно с точки зрения эффективности ветеринарных мероприятий, но и экономически выгодно.

В результате выполнения научно-исследовательской работы были сделаны следующие **выводы**:

1. Разработан новый инъекционный препарат фитоглинол, в состав которого входит дигидрокверцетин (Dihydroquercetinum), аминокислота глициновая (Glycine) и янтарная (Acidum succinicum) кислоты, водный экстракт душицы обыкновенной (Origanum Vulgare L.), диметилсульфоксид (Dimethylsulfoxide) и вода для инъекций. Лекарственное средство представляет собой раствор светло-коричневого цвета, со специфическим запахом и вкусом.

2. Препарат фитоглинол малотоксичен для теплокровных животных как в острых, так и в хронических опытах, и по степени воздействия на организм относится к IV классу опасности – вещества малоопасные (ГОСТ 12.1.007-76). Применение препарата не оказывает негативного влияния на физиологическое состояние, гомеостаз крови, пищеварение и мочеотделение лабораторных животных. Фитоглинол не оказывает местно-раздражающего, алергизирующего, эмбриотоксического и тератогенного действия, не вызывает патологических изменений в органах и тканях, не изменяет вкусовых качеств мяса животных.

3. В модельных опытах фитоглинол проявляет выраженную фармакологическую активность. В тесте «открытое поле» отмечено анксиолитическое действие препарата, обусловленное снижением уровня тревоги, страха и стрессового состояния лабораторных крыс, повышением ориентировочно-исследовательского поведения при попадании в незнакомую ситуацию. В условиях острого стресса введение фитоглинола в дозах 0,1-0,2 мл/животное

позволяет предотвратить падение лейкоцитов на 12,9-25,0 %, снизить уровень глюкозы на 27,5-34,6 %, ДК и КД – в 2,3 и 3,4 раза, МСМ – на 11,6-38,5 %.

4. Превентивное введение фитоглинола лабораторным животным в дозе 0,5 мл, подвергнутым длительному тепловому стрессированию, способствует нормализации баланса терморегуляции, повышению уровня лейкоцитов в 1,9-2,04 раза, нейтрофильных гранулоцитов – на 7,1-55,1 %, моноцитов – на 16,0-48,2 %. Влияние препарата на гомеостаз крови проявляется сохранением высокого уровня общего белка и глюкозы.

5. Фитоглинол оказывает выраженное антиоксидантное и антитоксическое действие, препятствуя накоплению продуктов липопероксидации, что проявляется в достоверном снижении ($p < 0,05$) различных звеньев системы ПОЛ: диеновых конъюгатов – на 31,6-43,9 %, кетодиенов на 14,7-23,6 %, малонового диальдегида – в 1,36-1,5 раза, среднемолекулярных пептидов – на 25,0-33,3 %.

6. Применение фитоглинола для профилактики оксидативного стресса у коров сухостойного периода в дозе 10 мл на животное оказывает влияние на их гомеостаз, а также выраженность эндогенной и окислительной индукции среднемолекулярных пептидов и продуктов ПОЛ. Препарат способствует увеличению общего белка на 6,9-8,4 %, снижению уровня мочевины – на 7,5-27,7 %, ферментной активности – АсАТ – на 10,9-48,4 %, ЩФ – на 12,0-19,3 %, кортизола – на 15,4-17,3 %, эндогенной интоксикации – в 2,17-2,43 раза, процессов липопероксидации – на 9,7-12,7 % (ДК) и на 11,5-30,8 % (КД).

7. Внутримышечное введение фитоглинола в дозе 20 мл/животное в течение 7 дней способствует профилактике послеотельного стресса у коров, снижая в крови уровень продуктов перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов – в 2,27 раз, кетодиенов – в 3,3 раза, малонового диальдегида – в 2,1 раза, предотвращает развитие эндотоксикоза и накопление в крови МСМ – в 1,2-2,1 раза, а также способствует восстановлению биохимических констант крови.

8. Экономическая эффективность от применения фитоглинола при профилактике послеродового стресса у коров составляет 6,8 рублей на один рубль затрат.

Предложения производству

Для отечественного животноводства разработан новый высокоэффективный инъекционный препарат фитоглинол, обладающий антиоксидантными и стресс-протекторными свойствами.

Препарат применяют крупному рогатому скоту внутримышечно, с соблюдением правил асептики и антисептики, в дозе 20,0 мл 1 раз в сутки в течении 7-10 дней.

С профилактической целью в дозе 10-15 мл на животное 1 раз в сутки в течении 5-7 дней, либо за 7-10 дней до проведения производственных манипуляций у животных (вакцинация, перегруппировка и т. д.)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве – СПб.: ДЕАН, 2002. – 400 с.
2. Абрамова Ж.И. Человек и противooksидлительные вещества / Ж.И. Абрамова, Г.И. Оксенгендлер – Л.: Наука, 1985 – 230 с.
3. Багинская А.И. Экспериментальное моделирование в гастроэнтерологии. Практические рекомендации. Часть 2. Экспериментальные модели «острых» язв желудка / А.И. Багинская, Е.В. Ферубко, Е.Н Курманова, И.В. Воскобойникова, В.К Колхир // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2016. – № 3. – С. 32-40.
4. Базарнова Ю.Г. Исследование состава биологически активных веществ экстрактов дикорастущих растений / Ю.Г. Базарнова, О.Б. Иванченко // Вопросы питания, 2016. – Т. 85. – №5. – С. 100-107.
5. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / М.В. Биленко // М.: Медицина; 1991 – 368 с.
6. Бильданова В.Р. Психология стресса и методы его профилактики / В.Р. Бильданова, Г.К. Бисерова, Г.Р. Шагивалеева // Елабуга: Издательство ЕИ КФУ, 2015 – 142 с.
7. Биоэтика / Под ред. В.Н. Запорожана. – Одесса, 2005. – 296 с.
8. Блинецова Г.Н. Оксидативный стресс и система оксида азота при постнатальной адаптации и развития заболеваний у сельскохозяйственных животных / Г.Н. Блинецова : автореферат дисс... доктора биологических наук / Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии. – Воронеж, 2010.
9. Бокзонади А. Тепловой стресс. Контроль состояния дойных коров / А. Бокзонади // Эффективное животноводство, 2021. – № 3 – С. 97-101.
10. Боков Д.О. Фармакотерапевтическое действие и использование в практической медицине травы душицы обыкновенной / Д.О. Боков, С.Л.

- Морохина // Медицина и здравоохранение: материалы I Междунар. науч. конф. (г. Чита, ноябрь 2012 г.). – Чита: Издательство Молодой ученый, 2012. – С. 52-59.
11. Боровков М.Ф. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства/ М.Ф. Боровков, В.П. Фролов, С.А. Серко. – Спб., 2010. – С. 249-251.
 12. Брынских Г.Т. Влияние глицина на активность антиоксидантной системы в условиях оксидативного стресса, вызванного антрациклиновыми антибиотиками / Г.Т. Брынских, А.Г. Маслакова, А.А. Игнатенко, О.С. Селиванова // Образовательный вестник «Сознание», 2008. – № 2. – С. 90-91.
 13. Бузлама С.В. Мероприятия по профилактике стресса и повышению резистентности животных / С.В. Бузлама, М.И. Рецкий // Комплексная экологически безопасная система ветеринарной защиты здоровья животных. М., 2000. – С. 29-45.
 14. Бузлама С.В. Стресс-корректорное действие и разработка показаний к применению лигфола для повышения резистентности свиней. Дис... канд. вет. наук : 16.00.04 : Воронеж, 2003. – 146 с.
 15. Буряков Н.П. Тепловой стресс и особенности кормления молочного скота / Н.П. Буряков, М.А. Бурякова, Д.Е. Алешин // Российский ветеринарный журнал. – 2016. – № 4 – С. 5-9.
 16. Бурбелло А.Т. Современные лекарственные средства: клинико-фармакологический справочник практического врача / А.Т. Бурбелло, А.В. Шабров. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: ОЛМА Медиа Групп, 2007. – 799 с.
 17. Бусловская Л.К. Энергетический обмен и кислотно-щелочной баланс у сельскохозяйственных животных при адаптации к стрессорам: дис... докт. биол. наук / Л.К. Бусловская. Белгород, 2004. – 352 с.

18. Вальковская Н.В. Влияние стресса на молочную продуктивность крупного рогатого скота / Н.В. Вальковская // Символ науки, 2016. – № 6. – С. – 1-3.
19. Вардаев Л.И. Комплексное лечение гнойных ран с использованием раневых покрытий с антиоксидантной, антибактериальной и сорбционной активностью: автореф. дисс.... канд. мед. наук / Л.И. Вардаев. М., 2005. – 23 с.
20. Васильева Л.С. Предупреждение глицином стресс-индуцированных нарушений эритропоэза и развития анемии / Л.С. Васильева, О.А. Макарова // Сибирский медицинский журнал, 2001. – № 2. – С. 20-23.
21. Веремеева С.А. Ветеринарно-санитарная оценка мяса кроликов при использовании кормовой добавки «Биомос» / С.А. Веремеева, К.А. Сидорова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета, 2011. – №3 – С. 102-103.
22. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН, 1998. – № 7. – С. 43-51.
23. Владимиров А.Ю. Свободные радикалы в биологических системах / А.Ю. Владимиров // Соросовский образовательный журнал, 2000. – Т. 6. – № 12. – С. 13-19.
24. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // Биохимия, 2004. – Т. 69. – № 1. – С. 5-7.
25. Волков А.А. Изучение терапевтической эффективности препарата «Мексидол-Вет» в ветеринарной гериатрии / А.А. Волков, С.А. Староверов, А.Н. Остапчук, С.В. Козлов, В.В. Арсениевич // Российский ветеринарный журнал, 2017. – № 10. – С. 33-37.
26. Волкова С.В. Стресс сельскохозяйственных животных, как ответная реакция на неблагоприятные условия окружающей среды / С.В. Волко-

- ва, С.Р. Мелешкина // Современные наукоемкие технологии, 2008. – №4 – С. 55-56.
27. Волчков А.И. Стресс, функциональное состояние и прогнозирование продуктивности крупного рогатого скота: автореф. дис... канд. биол. наук / А.И. Волчков. – Орел, 2000. – 22 с.
28. Воронина Т.А. Антиоксидант мексидол. Основные нейрпсихотропные эффекты и механизм действия / Т.А. Воронина // Психофармакология и биологическая наркология, 2001 – № 3. – С. 1-12.
29. Воронина Т.А. Перспективы применения антиоксидантов в ветеринарной практике / Т.А. Воронина, М.Г. Романов, Н.А. Фролова // Ветеринарный доктор, 2009. – №3. – С. 5.
30. Востроилова Г.А. Биохимический и иммунный статус поросят при отъемном стрессе и его фармакокоррекция аминокселетоном / Г.А. Востроилова, Н.А. Хохлова, Т.Е. Лободина [и др.] // Ветеринарная патология. – 2015. – № 1 (51). – С. 69-75.
31. Востроилова Г.А. Оценка эффективности аминокселетона для профилактики и коррекции отъемного стресса у поросят / Г.А. Востроилова, Н.А. Хохлова, Ю.А. Чаплыгина // В сборнике: Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии. Материалы V-го Межд. конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов. 2019. – С. 39-42.
32. Востроилова Г.А. Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия комплексного антибактериального препарата для лечения мастита у лактирующих коров / Г.А. Востроилова, А.А. Корчагина, Ю.А. Чаплыгина, Н.А. Хохлова // Ветеринария Кубани, 2020. – № 4. – С. 10-13.
33. Востроилова Г.А. Характеристика адаптогенных свойств аминокселетона на модели острого иммобилизационного стресса / Г.А. Востроилова, Н.А. Хохлова, Ю.А. Чаплыгина // Ветеринарный фармакологический вестник. 2020. – № 1 (10). – С. 16-26.

34. Габитов Д. М. Влияние антиоксидантных веществ на процессы свободно-радикального окисления / Д.М. Габитова, В.О. Рыжков, М.А. Рыжикова // Башкирский химический журнал, 2006. – Т.13. – № 4. – С. 120-122.
35. Габриэлян Н.И. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях / Н.И. Габриэлян, В.И. Липатова // Лаб. Дело. – 1984. – № 3. – С. 138-140.
36. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова – Ростов-на-Дону: Наука, 1990. – 156 с.
37. Геворгян В.С. Современные исследования воздействия различных стресс-факторов на крыс и мышей / В.С. Геворгян, И.С. Геворгян // Альманах пространство и время, 2017. – Т.15. – № 1. – С. 34.
38. Гильдииков Д.И. Окислительный стресс у животных: взгляд патофизиолога / Д.И. Гильдииков //Российский ветеринарный журнал, 2020. – № 4. – С. 10-18.
39. Голиков А.П. Свободнорадикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами / А.П. Голиков, С.А. Бойцов, В.П. Михин // Лечащий врач, 2003. – № 4 – С. 1-4.
40. Гончарова О.В. Метаболитная терапия: перспективы применения. Материалы Научно-практической конференции педиатров России «Фармакотерапия и фармакогенетика в педиатрии» / О.В. Гончарова, С.Н. Вахрамеева. – Москва, 2000 – С. 41.
41. Горизонтов П.Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова // . – М.: Медицина, 1983. – 240 с.
42. ГОСТ 20235.0-74 Мясо кроликов. Методы отбора образцов. Органолептические методы определения свежести. – М.: Стандартинформ, 2010. – 8 с.

43. Гринкевич Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич // М.: Высшая школа, 1983. – 176 с.
44. Гусакова Е.А. Физическая выносливость и поведение животных в различные стадии стресс-реакции / Е.А. Гусакова // В сборнике: Здоровоохранение: образование, наука, инновации. Матер. Всероссийской науч.-практич. конференции с международным участием, посвященной 70-летию Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. под редакцией Р.Е. Калинина, 2013. – С. 166-169.
45. Гуськов А.М. Стрессовая реакция организма коров при дисфункции молочной железы / А.М. Гуськов, Т.В. Попкова, Б.Л. Белкин // Научно-прикладные аспекты состояния и перспективы развития животноводства и ветеринарной медицины. – Курск, 2001. – С.62-63.
46. Данилкина О.П. Физиология стрессов животных / О.П. Данилкина // Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2016 – 32 с.
47. Дельцов А.А. Оценка антиоксидантной активности сыворотки крови у высокопродуктивных коров при введении комплексного препарата «Гидропептон-Плюс» / А.А. Дельцов, Л.П. Парасюк, Ц.Ц. Содбоев, М.В. Щукин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2020. – № 11. – С. 49-53.
48. Евглевский А.А. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты / А.А. Евглевский, Г.Ф. Рыжкова, Е.П. Евглевская, Н.В. Ванина, И.И. Михайлова, А.В. Денисова, Н.Ф. Ерыжевская // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2013. – № 3. – С. 22-25.
49. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. – Страсбург, 18 марта – 1986.

50. Ермакова Н.В. Гормональный статус коров при стойловом и пастбищном содержании / Н.В. Ермакова // Научно-методический электронный журнал «Концепт», 2015. – Т. 13. – С. 3656-3660.
51. Зенков Н.К. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова. – М.: Наука, 2001. – 343 с.
52. Зимин Н.Л. Гормоны и их роль в обмене веществ / Н.Л. Зимин // Ветеринария сельскохозяйственных животных, 2006. – №9. – С. 4-11.
53. Зуев Н.П. Влияние технологического стресса на резистентность животных / Н.П. Зуев, Р.А. Мерзленко, Р.П. Меженин // В книге: Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения. XIII международная научно-производственная конференция, 2009. – С. 60.
54. Зулев Г.С. Изменения концентрации общих липидов в крови телят под влиянием разных доз препарата «Эмицидин»/ Г.С. Зулев // Теоретический и научно-практический журнал Вестник Орел ГАУ, 2010. – №2(23). – С. 28-30.
55. Зыкова И.Д. Антирадикальная активность эфирного масла и водно-спиртовых экстрактов *origanum vulgare* L., произрастающей в красноярском крае / И.Д. Зыкова // Химия растительного сырья, 2021. – № 1. – С. 183-190.
56. Иванова А.Л. Метаболизм препарата глицин / А.Л. Иванова, М.Н. Ивашев, А.В. Сергиенко, И.А. Савенко // Международный журнал экспериментального образования, 2015. – № 2-1. – С. 37-39; URL: (дата обращения: 16.04.2020).
57. Иванова М. Влияние технической оснащенности на эффективность сельскохозяйственного производства / М. Иванова / Экономист. – 2009. – №1. – С. 86-90.

58. Казимирко В.К. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В.К. Казимирко, В.И. Мальцев, В.Ю. Бутылин, Н.И. Горобец – К.: Морион, 2004. – 160 с.
59. Кантемиров С.О. Адаптационные и продуктивные особенности коров ярославской породы в условиях Северного Кавказа : автореф. дис. канд. с. -х. наук / С.О. Кантемиров; Черкесск, 2008. – 22 с.
60. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике – М.: Ме.Дпресс-информ., 2004. – 911 с.
61. Карбышев М.С. Биохимия оксидативного стресса / М.С. Карбышев, Ш.П. Абдулаев – М.: Издательство ХХ, 2018. – 60 с.
62. Каркищенко В.Н. Фармакологические основы терапии / В.Н. Каркищенко, Н.Н. Каркищенко, Е.Б. Шустов // Руководство для врачей и студентов. Тезаурус. Издание третье – новая редакция. – М., СПб: Айсинг, 2018. – 288 с.
63. Катарашвили А.Ш. Физиология и продуктивность птицы при стрессе / А.Ш. Катарашвили, Т.Н. Колокольникова // Сельскохозяйственная биология, 2010 – № 4. – С. 25-37.
64. Карякина Е.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений / Е.В. Карякина, С.В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика, 2004. – №3. – С. 3-8.
65. Киреев И.В. Влияние мебисела на систему антиоксидантной защиты поросят / И.В. Киреев, В.А. Оробец, В.С. Скрипкин, Е.И. Лавренчук // Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2010. – №12. – С. 46-49.
66. Киреев И.В., Оробец В.А., Скрипкин В.С., Ковалев П.Ф. Препарат для коррекции стрессовых состояний у сельскохозяйственных животных. Патент на изобретение RU 2428992 С1, 20.09.2011. Заявка № 2010139029/15 от 22.09.2010.

67. Киреев И.В. Влияние препаратов «Мебисел» и «Эмицидин» на систему антиоксидантной защиты организма коров в послеродовой период / И.В. Киреев, В.А. Оробец, В.А. Беляев, Т.С. Денисенко, А.А. Петриченко // Ветеринария Кубани, 2016. – № 2. – С. 5-7.
68. Киреев И.В. Окислительный стресс у животных и пути его фармакологической коррекции / И.В. Киреев, Т.С. Денисенко, В.А. Оробец, В.А. Беляев // В сборнике: Актуальные проблемы современной ветеринарной науки и практики. материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института. ФГБНУ «Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт»; ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет», 2016. – С. 182-186.
69. Киселёва Ю.А. Влияние стресса на продуктивность сельскохозяйственных животных / Ю.А. Киселева, Н.Л. Лопаева // В книге: Современная аграрная наука: проблемы и пути решения. Сборник тезисов круглого стола в формате online, 2020. – С. 164-166.
70. Ковтун Е.В. Разработка технологии и норм качества жидкого экстракта душицы обыкновенной: автореф. канд. фарм. наук / Пятигорск. – 1999. – 23 с.
71. Козак В.Л. Влияние стресса па здоровье животных и человека / В.Л. Козак // Практик, 2007. – №4. – С. 6-9.
72. Козлова Е.В. Ветеринарно-санитарная оценка и показатели безопасности мяса кроликов при применении пробиотика Субтилис-С / Е.В. Козлова, Н.А. Малофеева // Иновационная наука. – 2019. – №6 – С. 198-201.
73. Корочкина Е.А. Воспроизводительная способность самцов в условиях стресса и методы ее коррекции: экспериментальное моделирование: дисс. ... канд. вет. наук : 06.02.06 / Корочкина Елена Александровна; Санкт-Петербург, 2013. – 125 с.

74. Костюк В. А. Биорадикалы и биоантиоксиданты / В.А. Костюк, А.И. Потапович – Мн.: БГУ, 2004. – 179 с.
75. Косяченко Н.М. Использование стрессоустойчивости и поведенческих функций крупного рогатого скота при современных технологиях производства молока / Н.М. Косяченко, А.В. Коновалов, А.В. Ильина, Д.В. Кононов. – Ярославль, «Ярославская ГСХА», 2013 – 118 с.
76. Кошоридзе Н.И. Количественные изменения продуктов перекисного окисления липидов в условиях стресса / Н.И. Кошоридзе, К.О. Менабде, З.Т. Кучукашвили, М.В. Чачуа, М.Д. Чипашвили // Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2010. – №6 – С. 4-9.
77. Кубассов Р.В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды / Р.В. Кубассов // Вестник РАМН, 2014. – № 9–10. – С. 102-109.
78. Кузнецов Ю.Е. Токсикологические свойства препарата Эмидонол 10 % / Ю.Е. Кузнецов, Н.Э. Борисовна, Д.Д. Новиков // Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2014. – № 1. – С. 53-56.
79. Кундышев П.П. Повышение репродуктивных качеств свиноматок за счет применения бета-каротина / П.П. Кундышев, А.С. Кузнецов // Свиноводство, 2010. – №7. – С. 41-42.
80. Курдеко А.П. Стресс: диагностика, лечение, профилактика / А.П. Курдеко, М.В. Богомольцева, А.В. Богомольцев. – Витебск: ВГАВМ, 2017. – 24 с.
81. Куликов В.Ю. Перекисное окисление липидов и холодовой фактор / В.Ю. Куликов, А.В. Семенюк, Л.И. Колесникова // – Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1988. – 192 с.
82. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд. перераб. и доп. Самара, 2007. – 1239 с.
83. Курьянова Е.В. Половые и типологические различия поведенческой активности нелинейных крыс в тесте «Открытое поле» / Е.В. Курьянова,

- А.С. Укад, Ю.Д. Жукова // Современные проблемы науки и образования, 2013. – № 5. – С. 460.
84. Ламонов С.А. Продуктивность коров разных типов стрессоустойчивости / С.А. Ламонов, С.Ф. Погодаев // Зоотехния, 2004. – №9. – С.26-27.
85. Ланец О.В. Оценка субхронической токсичности фитоглинола на этапе доклинического исследования / О.В. Ланец, М.П. Семенов, Е.В. Кузьмина, А.А. Абрамов, Е.В. Рогалева // Ветеринарный фармакологический вестник, 2020. – № 4. – С. 38-50.
86. Ланец О.В. Определение параметров токсичности нового препарата при длительном воздействии на организм крыс / О.В. Ланец, М.П. Семенов, Е.А. Рудь // Сборник научных трудов краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020 – Т. 9. – № 1. – С. 362-365.
87. Ланец О.В. Поведенческие маркеры стрессоустойчивости лабораторных животных в тесте «открытое поле» на фоне фармакологической коррекции / О.В. Ланец, К.А. Семенов, М.П. Семенов, В.А. Гринь // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2020 – Т. 9. – № 2. – С. 97-100.
88. Ланец О.В. Изучение репродуктивной токсичности препарата фитоглинол в эксперименте / О.В. Ланец, М.П. Семенов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии, 2021. – С. 93-96.
89. Лелевич А.В. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантный статус эритроцитов при острой и хронической алкогольной интоксикации крыс / А.В. Лелевич // Журнал Гродненского государственного медицинского университета, 2008 – № 4. – С. 46-49.
90. Лысенко В.И. Оксидативный стресс как неспецифический фактор патогенеза органных повреждений / В.И. Лысенко // Медицина неотложных состояний, 2020 – №1 – С. 24-34.

91. Лысенко Н.П. Современное представление об антиоксидантной системе организма животных / Н.П. Лысенко, М.В. Щукин, Ц.Ц. Содбодаев, А.А. Дельцов // Москва, Учебное пособие, 2018. – с. 25.
92. Лысиков Ю.А. Аминокислоты в питании человека / Ю.А. Лысиков // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2012. – №2. – С. 88-106.
93. Ляпунов Н.А. Современная методология фармацевтической разработки лекарственных препаратов / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая // Фармацевтическая отрасль, 2013. – № 1 (36). – С. 79-86.
94. Мадянов И.В. Особенности функционального состояния коры надпочечников и щитовидной железы при метаболическом синдроме / И.В. Мадянов, В.А. Кичигин, Т.Н. Маркова // Ожирение и метаболизм, 2011. – № 3(28). – С. 46-50.
95. Маилян Э. Профилактика теплового стресса / Э. Маилян // Птицеводство, 2007. – №11. – С. 29-33.
96. Макарова Я.С. Характеристика антиоксидантной системы и содержание стресс-гормонов крови крупного рогатого скота в связи с возрастом и физиологическим состоянием : дис. ... канд. биол. наук / Я.С. Макарова. – Троицк, 2010. – 162 с.
97. Маколкин В.И. Метаболический синдром / В.И. Маколкин. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 144 с.
98. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферентная терапия, 2000. – Т 6. – №4. – С. 3-14.
99. Машковский М.Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. 14-е изд. / М.Д. Машковский – М.: Изд-во Новая Волна, 2002. – Т.1. – С. 506-510.
100. Мельников А.В. Выбор поведенческих тестов для оценки типологических особенностей поведения крыс / А.В. Мельников, М.А. Куликов,

- М.Р. Новикова // Журнал высшей нервной деятельности, 2004. – Т. 54. № 5. – С. 712-717.
101. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика – М.: Изд-во Наука, 1981. – 279 с.
102. Методические рекомендации по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии. Воронеж, 1998. – 24 с.
103. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма. ВНИВИПФиТ. Воронеж, 2010. – 72 с.
104. Методические рекомендации по определению общего экономического эффекта от использования результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в Агропромышленном комплексе. – М: РАСХН, 2007. – 12 с.
105. Морфологические исследования в ветеринарных лабораториях: (диагностика, исследование сырья и продукции) / Методические указания по патоморфологической диагностике болезней животных, птиц и рыб в ветеринарных лабораториях: (сб. метод. указ. и рек.) / Ред.: А.В. Жаров, М. И. Гулюкин, И.И. Барабанов, Ю.П. Жарова. – М., 2008. – С. 93-163.
106. Морохина С.Л. Сравнительное изучение химического состава БАВ и анатомо-диагностических признаков травы душицы обыкновенной и душицы турецкой / С.Л. Морохина, Д.О. Боков // Новые химико-фармацевтические технологии, 2012. – № 1 – С. 69-74.
107. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия). Под ред. проф. И.В. Саноцкого. – М.: «Медицина», 1970. – 340 с.
108. Мещеряков Н.П. Фармакологическая регуляция резистентности и стресса продуктивных животных / Н.П. Мещеряков, В.С. Бузлама, И.В. Трутаев, С.В. Шабунин // Ветеринарный консультант, 2008. – № 21. – С. 12-15.

109. Миревич В.М. Исследование качественного состава эфирного масла душицы обыкновенной, произрастающей в Восточной Сибири / В.М. Миревич, Т.А. Коненкина, Г.М. Федосеев, Н.Н. Головных // Химия растительного сырья, 2008. – №2. – С. 61-64.
110. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общ. Редакцией А.Н. Миронов. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
111. Мосолов С.Н. Клиническое применение современных антидепрессантов. – М.: Восток, 1998. – 268с.
112. Муруев Б.А. Противострессовое и антидепрессивное действие растительного средства при хроническом умеренном стрессе / Б.А. Муруев, С.М. Гуляев, Л.Н. Шантанова, А.Г. Мондодоев // Обзоры клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2018. – №2. – С. 69-72.
113. Мухамедьярова Л.Г. Оксидативный стресс и его коррекция у коров в условиях агроэкосистемы Южного Урала / Л.Г. Мухамедьярова, А.Р. Таирова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана, 2013. – № 6. – С. 302-308.
114. Мышкин В.А. Коррекция нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия после тяжелых острых отравлений / В.А. Мышкин, А.И. Савлуков, И.Л. Гуляева, Д.А. Еникеев, Р.Б. Ибатулина, С.А. Сергеева, А.Р. Шафиков // Общая реаниматология, 2007. – №5. – С. 69-74.
115. Нагорная Н.В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки / Н.В. Нагорная, Н.А Четверик // Здоровье ребенка, 2010. – №2. – С. 140-145.
116. Нестерова Ю.В. Некоторые механизмы стресс-протекторного действия препаратов из *Inula helenium* / Ю.В. Нестерова, К.Л. Зеленская, Т.В. Ветошкина, С.Г. Аксиненко, А.В. Горбачева, Н.А. Горбатых // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2003. – № 4. – С. 63-65.

117. Никитин В.Я. Влияние антропогенного стресса на становление половой функции телок / В.Я. Никитин, М.Г. Миролубов, В.П. Гончаров – М.: Колос, 2003. – 208 с.
118. Никитин Н.И. Организация и экономика ветеринарного дела / Н.И. Никитин // Лань, 2014. – 6-е изд., перераб. и доп. – 368 с.
119. Никитченко С.Л. Совершенствование специализированного технического обслуживания техники в сельхозпредприятиях / С.Л. Никитченко, С.В. Смыков / Механизация и электрификация сельского хозяйства. 2014. – №6. – С. 25-28.
120. Овсянников В.Г. Патологическая физиология – Изд-во Ростовского университета, 1987 – 192 с.
121. Огородников П.И. Внедрение современного техсервиса оборудования ферм молочного скотоводства как фактор динамического развития производства молока / П.И. Огородников, Г.Л. Коваленко, И.В. Спешилова // Вестник АПК Верхневолжья, 2018. – № 2(42). – С. 70-72.
122. Оробец В.А., Некрасова И.И., Сапожникова О.Г. Стресс и его коррекция у животных. Учебное пособие. Ставрополь, 2011. – с. 52.
123. Оробец В.А. Фармакологическая коррекция метаболических процессов у высокопродуктивных животных / В.А. Оробец, И.В. Киреев, О.И. Севостьянова // В сборнике: Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности. сборник научных статей по материалам 85-й Международной Научно-практической конференции «Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу», 2020. – С. 314-321.
124. Остапчук П.С. Роль антиоксидантов и использование их в животноводстве и птицеводстве (обзор) / П.С. Остапчук, Д.В. Зубоченко, Т.А. Кувейда // Аграрная наука Евро-Северо-Востока, 2019. – Т. 20. – № 2. – С. 103-117.

125. Паршин П.А. Метаболический статус белых крыс при гипокинезии и его фармакокоррекция аминоселетоном / П.А. Паршин, Г.А. Востроилова, Н.А. Хохлова, Ю.А. Чаплыгина // Ветеринарная патология, 2019. – № 4 (70). – С. 49-54.
126. Патюков А.Г. Взаимосвязь содержания стресс-гормонов крови с показателями свободнорадикального окисления биомолекул у телок чернопестрой породы / А.Г. Патюков, И.П. Степанова, Я.С. Макарова, О.В. Атавина // Зоотехния, 2012. – № 10. – С. 21-28.
127. Патюков А.Г. Содержание кортизола и адренокортикотропного гормона в крови крупного рогатого скота при различных физиологических состояниях / А.Г. Патюков, Я.С. Макарова, В.В. Мугак, А.Г. Патюков, И.П. Степанова // Зоотехния, 2014. – № 4. – С. 28-29.
128. Пермяков А.А. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной устойчивостью к стрессу в тесте «Открытое поле» / А.А. Пермяков, Е.В. Елисеева, А.Д. Юдицкий, Л.С. Исакова // Вестник Удмуртского Университета, 2013. – №3. – С. 83.
129. Петрушина М.В. Профилактика окислительного стресса у высокоудойных коров голштинской породы с использованием в кормлении хотынецких целиолитов и лецитина / М.В. Петрушина, Н.И. Ярован // Вестник ветеринарии, 2012. – № 1. – С. 30-31.
130. Письменная С.В. Исследование содержимого кишечника: Учебно-методическое пособие. – Архангельск: ГАОУ СПО АО «АМК», 2013. – 61 с.
131. Плященко С.И. Стрессы у сельскохозяйственных животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров – М.: Агропромиздат, 1987. – 190 с.
132. Поносов С.В. Диагностика окислительного стресса у импортного крупного рогатого скота / С.В. Поносов // Пермский аграрный вестник, 2016. – № 1. – С. 104-106.

133. Потупчик Т. Спектр фармакологических эффектов глицина / Т. Потупчик, О. Веселова, Л. Эверт, Я. Нарциссов, И. Гацких // Врач, 2015. – № 12. – С. 14-18.
134. Преображенский О.Н. Влияние стрессов на половую систему и молочную железу домашних животных / О.Н. Преображенский, С.Н. Преображенский // Ветеринария с.-х. животных, 2006. – №9. – С. 54-58.
135. Пудовкин Н.А. Влияние различных стресс-факторов на свободно-радикальное окисление липидов и поведение белых крыс / Н.А. Пудовкин, В.В. Салаутин, Т.М. Прохорова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2017. – № 3. – С. 3-5.
136. Путинцева И.И. Антиоксидант-антигипоксикант эмицидин – средство профилактической и неотложной помощи в схеме лечения животных с гипертермическим синдромом в жаркий летний период / И.И. Путинцева А.С. Матвеева, В.С. Герке, В.И. Мельниченко// Ветеринария Кубани, 2008. – № 3. – С. 23-26.
137. Рапиев Р.А. Биохимический статус организма животных как компенсаторно-регуляторная реакция на фоне действия стресса / Р.А. Рапиев, Р.Т. Маннапова // Фундаментальные исследования, 2013. – № 10-12. – С. 2663-2666.
138. Рецкий М.И. Система антиоксидантной защиты у животных при стрессе и его фармакологической регуляции: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Воронеж, 1997. – 396 с.
139. Рецкий М.И. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М.И. Рецкий, С.В. Шабунин, Г.Н. Блиднецова и др. – Воронеж, 2010. – 72 с.
140. Родионова Л.П. Влияние сезонного фактора на состояние антиоксидантной системы головного мозга крыс / Л.П. Родионова // Сборник научных трудов под ред. В. В. Соколовского. – Л.: ЛСГМИ, 1984. – 54 с.

141. Русаков Р.В. Морфологический и биохимический состав крови новорожденных коров при скормливания комплекса биологически активных веществ / Р.В. Русаков, Н.А. Гарифуллина // Аграрная наука Северо-Востока, 2018. – №2. – С. 50-57.
142. Сафонов В.А. Влияние дефицита селена на состояние системы антиоксидантной защиты у коров в период стельности и при акушерской патологии / В.А. Сафонов, Г.Н. Блиднецова, А.Г. Нежданов, М.И. Рецкий, И.Г. Конопельцев // Доклады РАСХН, 2008. – №6. – С. 50-52.
143. Северин Е. С. Биохимия – ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 784 с.
144. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медгиз, 1969. – 352 с.
145. Смирнов А.М. Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных / А.М. Смирнов, В.И. Дорожкин // Москва, 2008. – 120 с.
146. Сокологорский С.В. Компьютерный мониторинг, отражающий взаимосвязь показателей доставки кислорода и перекисного окисления липидов/ С.В. Сокологорский, В.А. Бурлев, В.Ф. Ковалев, И.И. Лапшина // Анестезиология и реаниматология, 2003. – № 3. – С. 37-40.
147. Соловьева А.Г. Влияние мексидола на систему липопероксидации консервированной крови при воздействии активных форм кислорода в эксперименте *in vitro* / А.Г. Соловьева, Н.В. Диденко / Биорадикалы и антиоксиданты, 2016. – № 3. – С. 98-100.
148. Сотникова Е.Д. Изменения в системе крови при стрессе / Е.Д. Сотникова // Вестник Российского университета дружбы народов, 2009. – № 1. – С. 50-55.
149. Сидорова В.Ю. Эколого-технологический стресс у крупного рогатого скота: как определить и как бороться / В.Ю. Сидорова // Нивы Зауралья, 2014. – №9 – С. 10-14.

150. Степанова И.П. Состояние антиоксидантной системы у крупного рогатого скота / И.П. Степанова // Зоотехния, 2005. – № 7. – С. 9-11.
151. Судаков К.В. Системные основы эмоционального стресса / К.В. Судаков, П.Е. Умрюхин – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 112 с.
152. Супрун И.А. Генезис стресса сельскохозяйственных животных /И.А. Супрун // Биология тварин, 2012. – Т.14. – № 1-2. – С. 55-63.
153. Суханова Г.А. Биохимия клетки / Г.А. Суханова, В.Ю. Серебров. – Томск: Чародей, 2000. – 183 с.
154. Татарчук Т.Ф. Стресс и репродуктивная функция женщины / Т.Ф. Татарчук // Международный эндокринологический журнал, 2006. – № 3 (5). – С. 6-8.
155. Технология переработки жиров: лабораторный практикум / Я.В. Смольникова, Л.П. Рубчевская; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2010. – 24 с.
156. Ткаченко Т.Е. О приспособлении животных к условиям окружающей среды / Т.Е. Ткаченко //Молочное и мясное животноводство, 2003. – №3. – С. 36-37.
157. Тугушева Ф.А. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в норме и у больных с хроническим гломерулонефритом. Часть 1 / Ф.А. Тугушева // Нефрология, 2001. – №1. – С. 19-27.
158. Учасов Д.С. Эффективность применения пробиотика «Проваген» при технологическом стрессе у свиней / Д.С. Учасов, Н.И. Ярован, О.Б. Сеин // Вестник аграрной науки, 2013. – № 13. – С. 129-133.
159. Учасов Д.С. Профилактика нарушений в оксидантно-антиоксидантной системе у сельскохозяйственных животных / Н.И. Ярован, Е.В. Бондаренко, Бойцова О. А. // Фундаментальные исследования, 2013. – № 10 – С. 584-588.

160. Федоров Б.М. Стресс и система кровообращения / Б. М. Федоров – М.: Медицина, 1990.
161. Фиалков Ю.Я. Растворитель как средство управления химическим процессом / Ю.Я. Фиалков – Л.: Химия, 1990.
162. Фурдуй Ф.И. Адаптация, стресс и железы внутренней секреции / Ф.И. Фурдуй, Г.М. Бабарэ – В кн.: Стресс и адаптация. Кишинев: Штиинца, 1978.
163. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – М.: Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.
164. Хавинсон В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон, В.А. Баринов, А.В. Арутюнян. – СПб.: Наука, 2003. – 327 с.
165. Хасанов В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // Химия растительного сырья, 2004. – № 3. – С. 63-65.
166. Хисамова А.А. Роль метионина в коррекции оксидативного стресса при повышенных физических нагрузках / А.А. Хисамова, О.А. Гизингер // Терапевт, 2020. – № 5. – С. 18.
167. Хныченко Л.К. Фармакологическая активность аминокислоты таурина / Л.К. Хныченко, Н.С. Сапронов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2004. – № 4. – С. 15-19.
168. Хренов П.А. Экспериментальное изучение влияния препарата «Димексид» на вирулентные свойства *Staphylococcus aureus* изолированных из ран / П.А. Хренов, Т.В. Честнова // Вестник новых медицинских технологий, 2013. – № 2. – С. 406-409.
169. Хуцишвили М.Б. Свободнорадикальные процессы и их роль в патогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения / М.Б. Хуцишвили, С.И. Рапопорт // Клиническая медицина, 2002. – № 10. – С. 10-16.

170. Цыганенко А.Я. Клиническая биохимия / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, И.В. Завгородний – М.: «Триада-Х», 2002. – 504 с.
171. Чанчаева Е.А. Современное представление об антиоксидантной системе организма человека / Е.А. Чанчаева, Р.И. Айзман, А.Д. Герасев // Экология человека, 2013. – № 3. – С. 50-53.
172. Ческидова Л.В. Оценка эмбриотоксических и тератогенных свойств комплексного препарата «Виापен» / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова, И.В. Брюхова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология, 2016. – № 11. – С. 64-68.
173. Чеченихина О.С. Влияние стресса на молочную продуктивность крупного рогатого скота / О.С. Чеченихина, Н.И. Сорокина, Е.В. Банникова // Символ науки, 2016. – № 6-2. – С. 33-35.
174. Чеченихина О.С. Стрессоустойчивость и показатели продуктивного долголетия коров разных пород / О.С. Чеченихина, Ю.А. Степанова // Молочнохозяйственный вестник, 2019. – №4 – С. 133-139.
175. Чекман И.С. Янтарь, янтарная кислота, сукцинаты / И.С. Чекман, А.О. Сырская, В.А. Макаров, В.В. Макаров, В.В. Лапшин. – Х.: ТОВ «Планетапринт», 2017. – 107 с.
176. Чмыхова А.Н. Экспериментальное обоснование применения дигидрокверцетин при распространенном перитоните / А.Н. Чмыхова, Е.Б. Артюшкова // Ветеринария, 2017. – № 5 – С. 71-75.
177. Шабунин С.В. Взаимосвязь про- и антиоксидантного статуса и цитокинового профиля у поросят при технологическом стрессе / С.В. Шабунин, А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Г.А. Востроилова, Т.Г. Ермолова, Ю.Ю. Владимирова // Российская сельскохозяйственная наука. 2020. – № 5. – С. 63-66.
178. Шатилов А.В. Роль антиоксидантов в организме в норме и при патологии / А.В. Шатилов, О.Г. Богданова, А.В. Коробов // Ветеринарная патология, 2007. – Вып. 21. – №2. – С. 207-210.

179. Шендеров Б.А. Базовые механизмы регуляции гомеостаза и их модуляция нутриентами / Б.А. Шендеров // Клиническое питание. –2004. – № 3. – С. 14-19.
180. Юматов Е.А. Прогнозирование устойчивости к эмоциональному стрессу на основе индивидуального тестирования поведения / Е.А. Юматов, О.А. Мещерякова // Журнал высшей нервной деятельности, 1990. – Т. 40. – № 3. – С. 575-580.
181. Юрьев Е.А. Стресс сельскохозяйственных животных / Е.А. Юрьев, А.В. Котиков, Н.В. Чулкова // Ветеринария с.-х. животных, 2007. – №12. – С. 3-8.
182. Яковлева Е.В. Влияние глицина на психоэмоциональные и вегетативные нарушения у больных ревматоидным артритом / Е.В. Яковлева // Рецепт, 2006. – № 2. – С. 103-109.
183. Ярован Н.И. Влияние препаратов природного происхождения на биохимический статус сельскохозяйственных животных и птиц при окислительном стрессе / Н.И. Ярован, Е.Ю Меркулов, Н.А. Комиссарова // Аграрная наука, 2015. – № 6. – С. 18-20.
184. Atrian P. Heat Stress in Dairy Cows (A Review) / P. Atrian, HA. Shahryar // Research in Zoology, 2012. – № 2(4) – P. 31-37.
185. Baumgard L.H. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics / L.H Baumgard, R.P Rhoads // Ann Rev Anim Biosci, 2013. – № 1. – P. 311-337.
186. Bains J.S., Forman H. J., Zhang H., Rinna A. Neurodegenerative disorders in human: the role of glutathione in oxidative stressmediated neuronal death / J.S. Bains, H. J. Forman, H. Zhang, A. Rinna // Brain Res. Rev., 1997. – № 25. – P. 335-358.
187. Bezdíček J. The effect of mild temperature stress on the ovarian activity in cows / J. Bezdíček, L. Stádník, A. Makarevich, E. Kubovičová, F. Louda, Z.

- Hegedüšová, R. Holásek // *Journal of physics: conference series*, 2019. – V. 9. – № 3. – P. 639-642.
188. Bueno A. Evaluating Stress in Calves Weaned at Three Different Ages / A. Bueno, T. Cappel, C. Story, J. Richard, E. Clemens // *Nebraska Beef Cattle Reports*, 1998. – № 326. – P. 22-26.
189. Burton G.J. Oxidative stress / G.J Burton, E. Jauniaux // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 2011. – № 25. – P. 287-299.
190. Castillo C. Plasma malondialdehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows / C. Castillo, J. Hernandez, I. Valverde, V. Pereira, J. Sotillo, M. Alonso-Lopez, JL. Benedito // *Res Vet Sci.*, 2006. – Vol. 80 – P. 133-139.
191. Chen M.D. Hypoglycemic «stress» and gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the rhesus monkey: role of the ovary / M. D. Chen, K.T. O'Byrne, S.E. Chiappini, J. Hotchkiss, E. Knobil // *Neuroendocrinology*, 1992. – Vol. 56 – P. 666-673.
192. Chernenko O.M. The quality of colostrum and vitality of calves, born from cows with different reaction to stress experiences/ O.M. Chernenko, O.I. Chernenko, R.A. Sanjara // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2017. – № 8(2). – P. 299-303.
193. Collier R.J. Stress physiology including heat stress / R.J. Collier, B.J. Renquist, Y. Xiao // *J Dairy Sci.* 2017. – № 3. – P.10367-10380.
194. Dantzer R. Stress in Farm Animals: A Need for Reevaluation. 1983. – Vol. 57(1). – P. 6-18.
195. Dantzer R. Stress, emotions and health: where do we stand? / R. Dantzer // *Social Science Information.* 2001, – №40 (1) – P. 61-78.
196. Darenskaya M.A. Lipid peroxidation, antioxidant defense parameters, and dynamics of surgical treatment in men with mechanical jaundice of various origins[J]. / M.A. Darenskaya, O.V. Smirnova, B.G. Gubanov, N.V. Se-

- menova, L.I. Kolesnikova, S.I. Kolesnikov // AIMS Molecular Science, 2020. – № 7(4) – P. 374-382.
197. D'Occhio M.J. Influence of nutrition, body condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review / M.J. D'Occhio, P.S. Baruselli, G. Campanile // Theriogenology, 2019. – № 2. – P. 277-284.
198. Dobson H. What is stress, and how does it affect reproduction? / H. Dobson, R.F. Smith // Anim. Reprod. Sci., 2000. – № 3 – P. 743-752.
199. Engelking L.R. Properties of Amino Acids // Extbook of Veterinary Physiological Chemistry 2015. – P. 7-15.
200. Esposito G. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows / G. Esposito, P.C. Irons, E.C. Webb, A. Chapwanya // Anim. Reprod. Sci., 2014. – Vol. 24. – P. 60-71.
201. Fletcher B.L. Measurement of Fluorescent Lipid Peroxidation Products in Biological Systems and Tissues / B. L. Fletcher, C.J. Dillard, A.L. Tappel // Analytical Biochemistry, 1973. – № 52. – P. 1-9.
202. Forman H.J. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis / HJ. Forman, H. Zhang, A. Rinna // Mol Aspects Med., 2009. – № 30. – P. 1-12.
203. Ganaie A.H. Biochemical and Physiological Changes during Thermal Stress in Bovines / A.H. Ganaie, G. Shanker, A. Nazir, R.S Ghasura, N.A. Mir, SA. Wani, GB. Dudhatra // J Veterinar Sci. Technology, 2013. – P. 1-6.
204. Ganaie A.H. Effect of vitamin C supplementation on immune status and oxidative stress in pregnant Murrah buffaloes during thermal stress/A. H. Ganaie, O.K. Hooda // The Indian journal of animal sciences, 2013. – Vol. 83. – № 4. – P. 649-655.
205. George P. Interactions between the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis and the Female Reproductive System / P. George, M.D. Chrousos, J.D. Torpy, W.P. Gold // Annals of Internal Medicine, 1998. – № 3. – P. 229- 240.

206. Gilbert R.O. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows / R.O. Gilbert // *J Dairy Sci.*, 2010. – Vol. 93 – P. 2926-2937.
207. Gilbert R. O. Symposium review: Mechanisms of disruption of fertility by infectious diseases of the reproductive tract. *J Dairy Sci.*, 2019. – Vol. 102. – P. 3754-3765.
208. Halliwell B. Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System / B. Halliwell // *Journal of Neurochemistry*, 1992. – P. 1609-1620.
209. Han Q. Selenomethionine protects against ammonia-induced apoptosis through inhibition of endoplasmic reticulum stress in pig kidneys / Q. Han, H. Liu, R. Zhang, X. Yang, J. Bao, H. Xing // *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021 Aug 2;223:112596.
210. Haumgard L.H. Regulation of nutrient partitioning to support lactation / L.H. Haumgard, R.J. Collier, D.E. Bauman // *J Dairy Sci.*, 2017. – Vol. 100. – P. 10353-10366.
211. Hansen P. J. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Phil Trans Royal Soc. London* / P. J. Hansen // *Biol. Sci.*, 2009. – P. 3341-3350.
212. Huzzey J. M. Stocking density and feed barrier design affect the feeding and social behavior of dairy cattle / J. M. Huzzey, T. J. DeVries, P. Valois, M. J. Keyserlingk // *Dairy Sci.*, 2006. – Vol. 89. – P. 126-133.
213. Hsu S. P. Oxidative Stress Targeting Therapy-from Bench to Clinical Application / S. P. Hsu // *American Journal of Biomedical Science & Research*, 2020. – № 7 (5). – P. 412-416.
214. Kataria A. K. Evaluation of oxidative stress in sheep affected with peste des petits ruminants / A. K. Kataria, N. Kataria // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 2012. – Vol. 8. – № 4. – P. 72-77.
215. Khaled A. Q. Oxidative Stress in Calves with Acute or Chronic Bronchopneumonia / A. Q. Khaled // *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2009. – № 5. – P. 231-236.

216. Konopelniuk V. V. Efficacy of Fenugreek-based bionanocomposite on renal dysfunction and endogenous intoxication in high-calorie diet-induced obesity rat model-comparative study / V. V. Konopelniuk, I. I. Goloborodko, T. V. Ishchuk et al. // EPMA J, 2017.– № 8(4). – P. 377-390.
217. Konvičná J. Oxidative stress and antioxidant status in dairy cows during prepartal and postpartal periods / J. Konvičná // Veterinaria Brno, 2015. – № 2. – P. 133-140.
218. Kotova U. A. Markers of Oxidative Stress in Patients with Coronary Heart Disease / U. A. Kotova, A. V. Zuikova, A. N. Pashkov, N. V. Strahova, O.N. Krasnorutskaya // International Journal of Biomedicine, 2018. – № 2. – P. 115-117.
219. Kumar B. Stress and its impact on farm animals / B. Kumar, A. Manuja, P. Aich // Front Biosci (Elite Ed), 2012 – № 4. – P. 1759-67.
220. Lambert G. P. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects / G.P. Lambert // J Anim Sci, 2009. – № 87(14). – P. 101-108.
221. LeBlanc S. J. Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows / S.J. LeBlanc // Theriogenology, 2011. – № 2. – P. 1610-1618.
222. Lima M. L. P. Minor corral changes and adoption of good handling practices can improve the behavior and reduce cortisol release in Nellore cows / M. L. P. Lima, J. A. Negrão, T. Grandin // Trop Anim Health Prod., 2018. – P. 525-530.
223. Locher L. Die Bedeutung, Erhebung und Bewertung des antioxidativen Status bei landwirtschaftlichen Nutztieren [Relevance, measurement and assessment of the antioxidative status in farm animals] / L. Locher, T. Sattler, T. Wittek // Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 2011. – № 124(9-10). – P. 419-31.
224. Lykkesfeldt J. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals / J. Lykkesfeldt, O. Svendsen // Vet J, 2007. – № 173(3). – P. 502-11.

225. Matthew C. L. Stress, strain, and pregnancy outcome in postpartum cows / C.L. Matthew // *Animal Reproduction*, 2019. – № 16(3). – P. 455-464.
226. Meister A. Glutathione. / A. Meister, M.E. Anderson // *Annu. Rev. Biochem.*, 1983. – Vol. 52. – P. 711-760.
227. Moolchandani A. A Review: Oxidative Stress during Lactation in Dairy Cattle / M. Sareen, A. Moolchandani // *Dairy and Vet Sci*, 2018. – P. 001-003.
228. Moncado S. Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal diseases // *Br. Med. Bull*, 1983. – Vol. 39. – P. 209-212.
229. Pearce S. Heat stress and reduced feed intake alter the intestinal proteomic profile / S. Pearce, E. Huff-Lonergan, S. Lonergan, L. Baumgard, N.F. Gabler // *ASEB Journal*, 2014. – Vol. 28. – P. 241-246.
230. Rivest S. The role of corticotropin-releasing factor and interleukin-1 in the regulation of neurons controlling reproductive functions / S. Rivest // *Endocrine Rev.*, 1995. – № 16. – P. 177-99.
231. Rhoads R. P. Nutritional interventions to alleviate the negative consequences of heat stress / R.P. Rhoads, L.H. Baumgard, J.K. Suagee, S.R. Sanders // *Adv Nutr*, 2013. – №4(3). – P. 267-76.
232. Semenenko M. Research of the detoxification properties of the preparation phytoglinol on the heat stress model / M. Semenenko, O. Lanets, A. Abramov, E. Kuzminova and Inna Zholobova // *E3S Web Conf.*, 210 (2020) 06001.
233. Sinbad O. O. Vitamins as Antioxidants / O.O. Sinbad, A.A. Folorunsho, O.L. Olabisi, A. Ayoola, E.J. Temitope // *J Food Sci. Nutr. Res*, 2019. – № 2 (3). – P. 214-235.
234. Samal L. Heat Stress in Dairy Cows: Reproductive Problems and Control Measures / L. Samal // *International Journal of Livestock Research*, 2013. – № 3. – P. 14-23.

235. Sies H. Vitamins E and C, Beta-Carotene, and Other Carotenoids as Antioxidants / H. Sies, W. Stahl // *American Journal of Clinical Nutrition*, 1996. – Vol. 62. – № 6. – P. 1315S-1321S.
236. Soomro S. Oxidative Stress and Inflammation /S. Soomro // *Open Journal of Immunology*, 2019. – Vol.9 – № 1. – P. 24-26.
237. Senthilkumar R. Protective effect of glycine supplementation on the levels of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in the erythrocyte of rats with alcohol-induced liver injury / R. Senthilkumar, M. Sengottuvelan, N. Nalini // *Cell Biochemistry and Function*, 2004. – № 22. – P. 123-128.
238. Shulga N. Diagnosis and pathology of stress in newborn calves / N. Shulga, N. Trush, I. Sayapina, L. Bugaeva // *Ecological and Biological Well-Being of Flora and Fauna*, 2020. – № 9 – P.1-9.
239. Sordillo L. M. 2018. Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis / L. M. Sordillo // *Vet Clin. N Amer Food Anim Prac.*, 2018. – № 3. – P. 507-523.
240. Tarr B. Cold Stress in Cows / B. Tarr // *NUTRIFAX*, 2015. – P. 1-5.
241. Teixeira B. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil / B. Teixeira, A. Marques, C. Ramos, C. Serrano, O. Matos, N.R. Neng, J.M.F. Nogueira, J.A. Saraivab, M.L. Nunes // *Journal Science of Food and Agriculture*, 2013. – Vol. 93. – P. 2707-2714.
242. Thompson K.H. Tissue antioxidant status in streptozotocin-induced diabetes in rats. Effects of dietary manganese deficiency / K.H. Thompson, D.V. Godin, M. Lee // *Biol. Trace Elem. Res.*, 1992. – Vol. 35. – P. 213-224.
243. Trevisan M. Correlates of markers of oxidative status in the general population / M. Trevisan, R. Browne, M. Ram, P. Muti, J. Freudenheim, AN. Carosella, D. Armstrong // *Am J Epidemiol*, 2001. – Vol.154. – № 4. – P. 348-356.

244. Vona R. Biomarkers of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome and Associated Diseases / R. Vona, L. Gambardella, C. Cittadini, E. Straface, D. Pietraforte // *Oxid Med Cell Longev*. 2019:8267234.
245. Weidmann A.E. Dihydroquercetin: more than just an impurity? / A.E. Weidmann // *Eur. J Pharmacol.*, 2012. – № 1. – P. 19-26.
246. West J.W. Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle / JW. West // *Journal of Dairy Science*, 2003. – № 6. – P. 2131-44.
247. Wilde D. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle / D. Wilde // *Anim. Reprod. Sci.*, 2006. – Vol. 86. – P. 240-249.
248. Yoshikawa T. What Is Oxidative Stress? / T. Yoshikawa, Y. Naito // *JMAJ*, 2002. – № 7. – P. 271-276.
249. <http://biocentr.org/dimeksid-dmsol.html>. [Электронный ресурс] (дата обращения 20.07.2020).
250. <https://www.vetlek.ru/articles/?id=242>. [Электронный ресурс] (дата обращения 13.02.2021).
251. <https://zooexpress.by/vetapteka/a-z/stressol-oral-11/>. [Электронный ресурс] (дата обращения 12.03.2019).

ПРИЛОЖЕНИЯ

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
(РОСПАТЕНТ)**

Бережковская наб., 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП-3, 125993. Телефон (8-499) 240-60-15. Факс (8-495) 531-63-18

На № 202/01-18 от 22.06.2021

Наш № 2020132529/04(059241)

При переписке просим ссылаться на номер заявки

Исходящая корреспонденция от

19.08.2021

ФГБНУ КНЦЗВ
ул. Первомайская, 4
пос. Знаменский
г. Краснодар-55
350055

РЕШЕНИЕ

о выдаче патента на изобретение

(21) Заявка № 2020132529/04(059241)

(22) Дата подачи заявки 30.09.2020

В результате экспертизы заявки на изобретение по существу установлено, что заявленное изобретение относится к объектам патентных прав, соответствует условиям патентоспособности, сущность заявленного изобретения (изобретений) в документах заявки раскрыта с полнотой, достаточной для осуществления изобретения (изобретений)*, в связи с чем принято решение о выдаче патента на изобретение.

Заключение по результатам экспертизы прилагается.

Приложение: на 5 л. в 1 экз.

Начальник Управления
организации
предоставления
государственных услуг

Документ подписан электронной подписью
Сведения о сертификате ЭП
Сертификат
024B597C0071ACE48242DDD2C8EF47F77C
Владелец Травников
Дмитрий Владимирович
Срок действия с 12.11.2020 по 15.10.2035

Д. В. Травников



*Проверка достаточности раскрытия сущности заявленного изобретения проводится по заявкам на изобретения, поданным после 01.10.2014.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКСПЕРТИЗЫ

(21) Заявка № 2020132529/04(059241) (22) Дата подачи заявки 30.09.2020
(24) Дата начала отсчета срока действия патента 30.09.2020

ПРИОРИТЕТ УСТАНОВЛЕН ПО ДАТЕ

(22) подачи заявки 30.09.2020

(72) Автор(ы) Семененко Марина Петровна, Гринь Владимир Анатольевич, Кузьминова Елена Васильевна, Осепчук Денис Васильевич, Черных Олег Юрьевич, Ланец Ольга Вадимовна, Лазаревич Любовь Викторовна, RU

(73) Патентообладатель(и) Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии" ФГБНУ КНЦЗВ, RU

(54) Название изобретения ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ АНТИОКСИДАНТНЫМИ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМИ СВОЙСТВАМИ

(см. на обороте)

01	2	ДОМ 22.06.2021	041401
		ИЗФ 22.06.2021	

ВНИМАНИЕ! С целью исключения ошибок просьба проверить сведения, приведенные в заключении, т.к. они без изменения будут внесены в Государственный реестр изобретений Российской Федерации, и незамедлительно сообщить об обнаруженных ошибках.

Рассмотрено и одобрено Ученым советом
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по
зоотехнии и ветеринарии»

Протокол № 7
от 06 сентября 2021 года

Председатель совета,
доктор сельскохозяйственных наук
Д.В. Осепчук
"06" "09" 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

По применению препарата фитоглинол в ветеринарии
(в порядке производственных испытаний)

ИЗГОТОВЛЕНО:

Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350004, Россия, г. Краснодар, ул. 1-я Линия, 1.

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 ФИТОГЛИНОЛ (PHYTOGLINOL), комплексный инъекционный препарат для внутримышечного введения. В 1 мл фитоглинола содержится: дигидрокверцетин – 10 мг; аминокислота – 50 мг; экстракт душицы – 10 мг; янтарная кислота – 10 мг диметилсульфоксид (ДМСО) – 0,2 мл, вода для инъекций – остальное.

1.2. По внешнему виду представляет собой раствор тёмно-коричневого цвета со специфическим запахом и вкусом.

1.3. Фармакологическая группа – адаптоген, антиоксидант.

2. ФАСОВКА И МАРКИРОВКА

2.1 Фитоглинол выпускают в стеклянных флаконах ТУ 9461-010-00480514 объёмом 100 мл, которые укупоривают резиновыми пробками ТУ 9467-001-44111344 и закатывают алюминиевыми колпачками.

2.2 Препарат хранят в закрытой упаковке в сухом, защищённом от прямых солнечных лучей месте, отдельно от пищевых продуктов и кормов, при температуре от 2 до 25°C.

2.3 Каждый флакон сопровождается инструкцией к применению на русском языке с указанием наименования организации производителя, ее адреса, названия и назначения продукта, его состава, гарантированных показателей, массы нетто, способа применения, срока и условия хранения, номера партии, мер предосторожности, даты изготовления, надписи «Для животных».

2.4 Срок годности препарата указан на флаконе, при соблюдении условий хранения – 1 год с даты производства. Запрещается использование препарата по истечению срока годности.

3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

3.1 Фитоглинол относится к группе комбинированных лекарственных препаратов адаптогенного и антиоксидантного действия. Активные действующие вещества препарата обладают анксиолитическим, стресспротективным, адаптогенным и антиоксидантными свойствами.

Действие фитоглинола обусловлено входящими в состав компонентами:

Дигидрокверцетин – природный биофлавоноид, антиоксидант, является самым мощным антиоксидантом прямого действия, обладает гепатопротективными, радиопротективными, противовоспалительными, обезболивающими, иммунокорректирующими свойствами.

Глицин (аминоуксусная кислота) – простейшая алифатическая аминокислота, обладает антиоксидантными и антиоксидантными свойствами, снижает экзогенное токсическое воздействие на организм, проявляет седативный, успокаивающий эффект, снижает гиперактивность, замедляет дегенерацию мышечной ткани, обладает некоторыми ноотропными свойствами.

Экстракт душицы – обладает противовоспалительной и мембраностабилизирующей активностью, стресспротекторными и антиоксидантными свойствами.

Янтарная кислота – дикарбоновая кислота, антиоксидант, оказывает антигипоксическое, актопротекторное и противовирусное действие, усиливает анаболические процессы в организме, способствует нормализации обмена веществ, повышению иммунобиологической реактивности.

Диметилсульфоксид (ДМСО) – обладает бактерицидным, противовоспалительным и анестезирующим действием, хорошо проникает через биологические мембраны, повышая их проницаемость, проявляет антиоксидантную активность.

3.2 По степени воздействия на организм животных фитоглинол относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.007-76), в терапевтических дозах не оказывает местно-раздражающего, эмбриотоксического и тератогенного действия.

4. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Фитоглинол назначают животным самостоятельно или в составе комплексной терапии для профилактики и терапии стрессовых состояний (производственные стрессы, физиологические: отел, ранний послеродовой период), оксидативного стресса.

4.2 Противопоказанием к применению препарата является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам препарата.

4.3 Дозы и способ введения:

Препарат применяют крупному рогатому скоту внутримышечно, с соблюдением правил асептики и антисептики, в дозе 20,0 мл 1 раз в сутки в течении 7-10 дней.

С профилактической целью в дозе 10-15 мл на животное 1 раз в сутки в течении 5-7 дней, либо за 7-10 дней до проведения производственных манипуляций у животных (вакцинация, перегруппировка и т. д.)

4.4 Симптомы передозировки не выявлены. Особенности действия препарата при его первом применении и отмене не установлено.

4.5 Убой животных на мясо разрешается не ранее, чем через 24 часа после последнего применения фитоглинола.

4.6 При применении препарата в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений, как правило, не наблюдается.

4.7 В случае проявления аллергических реакций использование препарата прекращают и назначают животному антигистаминные и симптоматические средства.

5. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

5.1 При применении фитоглинола следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, при попадании препарата на кожу и слизистые оболочки, немедленно промыть водой.

5.2 При работе с препаратом запрещается пить, курить и принимать пищу.

5.3 По окончании работы следует тщательно вымыть руки с мылом.

5.4 Флаконы из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, пустые флаконы утилизируются с бытовыми отходами.

Инструкция разработана: Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт - обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350004, Россия, г. Краснодар, ул. 1-я линия, 1

УТВЕРЖДАЮ:

Директор учебно-опытного хозяйства
«Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский
государственный аграрный университет
имени И.Т. Трубилина
Т.В. Логойда
2021 г



АКТ

о влиянии препарата фитоглинол на биохимический статус и антиоксидантную защиту организма коров

Нами, ведущим ветеринарным врачом учебно-опытного хозяйства «Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина Левченко С.С., заведующей отделом фармакологии ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», д.в.н. Семененко М.П., ведущим научным сотрудником отдела фармакологии ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», д.в.н. Рогалевой Е.В. и аспирантом отдела Ланец О.В., в период с марта по май 2021 года на МТФ №3 проводились исследования по оценке влияния препарата фитоглинол на биохимические показатели крови и уровень антиоксидантной защиты коров.

В опыте было задействовано четыре группы коров 4-5 летнего возраста, находящихся на 8 месяце стельности, по 10 животных в каждой. Первой и второй группам внутримышечно один раз в сутки вводился фитоглинол в дозах 7 и 10 мл/животное. Третьей группе коров ежедневно внутримышечно инъецировался препарат Эмидонол 10 % в дозе 10 мл/животное. Контрольным животным в том же режиме вводился физиологический раствор. Инъекции препаратов проводились в течение 10 дней.

Кровь у коров для оценки биохимического статуса и антиоксидантной защиты организма отбиралась перед началом опыта и на 11 день эксперимента.

При оценке биохимических показателей опытных и контрольных групп было отмечено снижение концентрации мочевины в первых трех группах – на 16,7; 27,7 и 7,5 % соответственно, тогда как у контрольных коров ее уровень увеличился на 36,7 %. В ферментной активности изменения были выявлены по содержанию аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, которые в группе контрольных коров превышали аналогичные значения опытных животных на 42,7; 48,4 и 10,9 % (АсАТ) и 19,3; 14,8 и 12,0 % (ЩФ) соответственно.

Анализ содержания продуктов перекисного окисления липидов в крови коров свидетельствовал о снижении накопления продуктов липопероксидации при применении препаратов, как и фитоглинола, так и Эмидонола. В сравнении с фоновыми значениями уровень первичных метаболитов ПОЛ в

опытных группах снизился на 12,8; 9,7 и 4,8 % (ДК) и 11,5; 30,8 и 23,1 % (КД). Содержание в крови малонового диальдегида у опытных коров, которым применялся фитоглинол, было ниже показателей третьей опытной группы на 5,9 и 8,0 %, контрольных аналогов – на 36,7 и 38,1 % соответственно.

При оценке показателей среднемoleкулярных пептидов в первой и второй опытной группах отмечено снижение МСМ на 5,2-6,5 % (длина волны 237 нм) и 11,8 % (длина волны 280 нм).

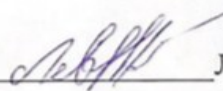
Таким образом, можно сделать вывод что фитоглинол в дозе 10 мл, на ранней стадии реактивно-токсических процессов в организме коров позволил снизить выработку активных метаболитов перекисного окисления липидов, уровень эндогенной интоксикации, а также способствовал нормализации биохимического гомеостаза крови коров сухостойного периода.

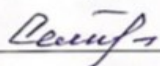
Ветеринарный врач МТФ № 3 учебно-опытного хозяйства «Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина

Заведующая отделом фармакологии, д.в.н.

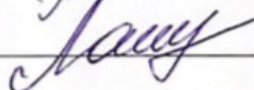
Ведущий научный сотрудник отдела фармакологии, д.в.н.

Аспирант отдела фармакологии


Левченко С.С.


Семененко М.П.


Рогалева Е.В.


Ланец О.В.

УТВЕРЖДАЮ:

Директор учебно-опытного хозяйства
«Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский
государственный аграрный университет
имени И.Т. Трубилина
Т.В. Логойда
2021 г



АКТ

об эффективности фитоглинола при коррекции послеродового стресса у новотельных коров

Нами, ведущим ветеринарным врачом терапевтом, акушером-гинекологом МТФ № 3 учебно-опытного хозяйства «Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» Левченко С.С., заведующей отделом фармакологии ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», д.в.н. Семененко М.П., ведущим научным сотрудником отдела фармакологии ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», Рогалевой Е.В. и аспирантом отдела Ланец О. В., в период с марта по май 2021 года проводились исследования по влиянию препарата фитоглинол на показатели биохимического и гормонального статуса, а также уровень антиоксидантной защиты организма коров.

Эксперимент по коррекции послеродового стресса был проведен на новотельных коровах (10-14 дней после отела). Структура опыта включала использование трех групп животных – две опытные и контрольную. Опытные группы были сформированы из коров, которым на 8-м месяце стельности уже вводился фитоглинол в дозах 7 и 10 мл/животное в течение 10 дней.

В этой серии коровам опытных групп фитоглинол вводили в дозах 20 и 15 мл/животное один раз в сутки на протяжении 10 дней, контрольной группе – физиологический раствор в дозе 15 мл/животное в том же временном периоде.

Кровь для оценки биохимического и гормонального статуса, антиоксидантной защиты организма отбиралась у всех трёх групп коров перед началом опыта и по завершению на 11 день эксперимента.

Окислительный стресс в ранний послеотельный период развивается на фоне гормональных перестроек организма, увеличения физиологических потребностей, смены условий кормления и содержания. Стресс приводит к накоплению в организме токсических продуктов перекисного окисления липидов и к деструктивным изменениям клеточных мембранных образований, что усугубляет отрицательные последствия стресса.

При оценке биохимических показателей опытных и контрольных групп было отмечено увеличение концентрации глюкозы в опытных группах на 11,8 и 9,4 % при снижении в контроле на 10,6 % относительно фоновых значений. Снижение АлАТ в опытных группах составило 17,4 и 26,5 % при разнице с контрольными аналогами на 9,8 и 23,4 %, АсАТ – 13,8 % относительно показателей фона. В опытных группах произошло снижение щелочной фосфатазы на 36,9 и 32,4 %, общего билирубина – на 35,5 и 9,8 %.

Уровень кортизола в крови новотельных коров при введении фитоглинола первой опытной группе в сравнении с показателями фона был выше на 58,6 %, в контроле показатели увеличились на 67,9 %. Во второй опытной группе уровень гормона снизился на 22,8 %.

При оценке показателей среднемолекулярных пептидов в опытных группах отмечаются более низкие значения на всех длинах волн: на 237 нм и 254 нм – на 1,2-7,4 % ($p < 0,05$) и 5,5-11,1 %, на 280 нм – в 1,38 и 2,1 раза ($p < 0,01$).

Уровень ДК в первой опытной группе по отношению к фоновым значениям снизился в 2,27 раза, КД – в 3,3 раза, МДА – в 2,1 раза. Во второй опытной группе – в 1,53; 3,2 и 1,24 раза соответственно. В контрольной группе у новотельных коров значения всех продуктов ПОЛ сохранились на уровне фоновых, а по количеству МДА – даже увеличились в 1,82 раза.


Таким образом, фитоглинол способствовал ослаблению процессов липопероксидации на всех этапах формирования стресс-реакции, причем, его применение в дозе 20 мл/животное было более эффективно в плане снижения уровня эндогенного альдегида (МДА).

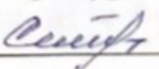
Ветеринарный врач МТФ № 3 учебно-опытного хозяйства «Кубань» ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина

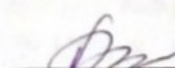
Заведующая отделом фармакологии, д.в.н.

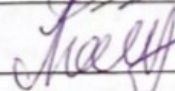
Ведущий научный сотрудник отдела фармакологии, д.в.н.

Аспирант отдела фармакологии


Левченко С.С.


Семенов М.П.


Рогалева Е.В.


Ланец О.В.

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО Самарский ГАУ



П.А. Ишкин

2021 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований Ланец Ольги Владимовны по диссертационной работе на тему: «Разработка, фармако-токсикологические свойства и эффективность применения препарата фитоглинол в ветеринарии», приняты к внедрению в учебный процесс. Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий по фармакологии и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей кафедры «Эпизоотология, патология и фармакология» ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет»

Заведующий кафедрой
«Эпизоотология, патология и фармакология»
доктор ветеринарных наук, профессор

А.В. Савинков

УТВЕРЖДАЮ:

Врио директора ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»
доктор ветеринарных наук, профессор
П.А. Паршин
« 18 _____ 2021 г.



КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований Ланец Ольги Вадимовны по диссертационной работе на тему: «Разработка, фармако-токсикологические свойства и эффективность применения препарата фитоглинол в ветеринарии», приняты к внедрению в учебный процесс. Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий по фармакологии и терапии и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии».

Заведующий отделом
экспериментальной фармакологии,
кандидат ветеринарных наук

Е.В. Михайлов