

**КРАСНОДАРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ –
обособленное структурное подразделение**

**ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«КРАСНОДАРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПО ЗООТЕХНИИ И ВЕТЕРИНАРИИ»**

На правах рукописи



САХНО ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И
КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛИВАЗЕНА
ПРИ ГЕПАТОЗАХ КОРОВ**

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	Физиологическая роль печени и ее значение в жизнедеятельности организма.....	11
2.2	Этиопатогенез гепатозов у коров.....	17
2.3	Методы диагностики гепатозов.....	23
2.4	Средства и методы профилактики и терапии гепатозов у коров	29
2.5	Классификация и механизм действия основных групп гепатопротекторных препаратов.....	33
3	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	43
4	РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	51
4.1	Состав и физико-химические свойства ливазена.....	51
4.2	Определение стабильности и сроков годности ливазена.....	57
4.3	Токсикологическая оценка препарата ливазен.....	61
4.3.1	Острая токсичность	61
4.3.2	Субхроническая токсичность.....	66
4.3.3	Влияние ливазена на мочеотделение.....	75
4.3.4	Влияние ливазена на пищеварение.....	76
4.3.5	Местно-раздражающее и алергизирующее действие	78
4.3.6	Эмбриотоксическое и тератогенное действие.....	82
4.3.7	Влияние ливазена на гистологию внутренних органов животных.....	83
4.3.8	Ветеринарно-санитарная оценка качества мясных продуктов после применения ливазена.....	86
4.4	Гепатозащитное действие препарата ливазен на биологических моделях поражения печени лабораторных животных.....	89
4.4.1	Модель острого токсического гепатита у крыс.....	89

4.4.2	Модель экспериментальной гиперлипидемии у крыс.....	98
4.5	Бактериостатическое и бактерицидное действие ливазена.....	106
4.6	Влияние ливазена на уровень эндогенной интоксикации.....	109
4.7	Лечебно-профилактическая эффективность ливазена при гепатозах коров.....	113
4.7.1	Лечебная эффективность	113
4.7.2	Профилактическая эффективность	124
4.7.2.1	Влияние на биохимические показатели крови стельных коров.....	128
4.7.2.2	Влияние на биохимические показатели крови новотельных коров.....	132
5	ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛИВАЗЕНА ПРИ ПРОФИЛАКТИКЕ ГЕПАТОЗОВ У КОРОВ.....	139
6	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	142
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	149
	ПРИЛОЖЕНИЯ	178

1 ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Молочное скотоводство в России занимает ведущее место среди отраслей сельскохозяйственного производства и в значительной степени определяет экономическую эффективность всего агропромышленного комплекса страны. Молоко относится к базовым продуктам питания, и в соответствии с Доктриной продовольственной безопасности Российской Федерации, уровень самообеспечения страны по молоку и молочным продуктам должен быть не менее 90 %. Между тем, развитие рыночных отношений в животноводстве привело к существенным изменениям в отрасли и, в первую очередь, к сокращению общего поголовья крупного рогатого скота и уменьшению молочной продуктивности коров (Шаталов С.В. и др., 2015; Хазиева А.М., 2014; Толыбаев О.Н., 2021).

Обеспечить рост объемов молока в сложившихся условиях можно только на основе всестороннего развития молочного скотоводства, предусматривающего внедрение технологических и экономических инноваций за счет оптимизации кормовой базы отрасли, улучшения условий содержания животных, а также повышения племенных и продуктивных качеств молочного стада, обусловленных совершенствованием их генетического потенциала (Артемова Е.И., Кремянская Е.В., 2015; Тузов И.Н., Григорьева М.Г., 2016; Милостивый Р.В. с соавт., 2016).

Однако стремление хозяйств к увеличению производства и получению максимально возможной мясной и молочной продукции без учета физиологических особенностей животных приводит к нарушению функционального состояния органов и систем организма, снижению резистентности и дестабилизации адаптационных возможностей крупного рогатого скота, обуславливающих развитие полисиндромных обменных патологий.

Обширные исследования, проведенные Н.Д. Бариновым (2009), А.А. Евлевским (2017), И.И. Калюжным (2008, 2016), В.В. Мищенко (2012), Е.В.

Кузьминовой, М.П. Семененко (2011, 2018, 2019), позволяют сделать вывод о глубоких метаболических изменениях в организме высокопродуктивных животных и, в первую очередь, в печени, являющейся важным центром поддержания гомеостаза и функциональной стабилизации организма. При нарушении работы печени запускаются патологические процессы, приводящие не только к снижению производственного использования животных, но и к развитию гепатопатий различного генеза.

Мировой опыт борьбы с гепатозами животных показал, что основная роль при этом отводится лекарственной терапии и профилактике, позволяющей значительно снизить наносимый экономический ущерб за счет препаратов направленного действия на клетки печени – гепатопротекторов, обеспечивающих улучшение функционального состояния гепатоцитов, оказывающих репаративное, мембраностабилизирующее, липотропное и антиоксидантное действие (Jacobs B. et al., 2002; Bobe G., Young J. & Beitz D., 2004; Belugin N.V. et al., 2015; Semenenko M. P. et al., 2020).

Именно поэтому, разработка, изучение и внедрение в клиническую практику новых высокоэффективных, безопасных гепатопротекторных средств для животных, является перспективным направлением ветеринарной фармакологической науки.

К препаратам, обладающим гепатопротекторными свойствами, относится дипромоний (диизопропиламмония дихлорацетат), по биологическому действию и химической природе сходный с пангамовой кислотой и применяемый в медицинской практике как в таблетированной, так и инъекционной формах. В ветеринарии с учетом изменения технологического цикла был получен новый продукт, получивший название дипромоний-М (ООО «Поливит», г.Уфа) (Струнин Б.П. и др., 2013; Шах-Меликьян Т.А., 2012). Однако с учетом особенностей пищеварительной системы полигастричных животных, к которым относится крупный рогатый скот, данная лекарственная форма не нашла широкого приме-

нения в ветеринарной практике. В связи с чем, в ООО «УНИФАРМ» (г. Славянск-на-Кубани, Краснодарский край) разработана инъекционная форма препарата на основе диизопропиламмония дихлорацетата – ливазен.

С учетом актуальности применения инъекционных гепатопротекторов в клинической ветеринарии, изучение фармако-токсикологических свойств и терапевтической эффективности ливазена при гепатозах у крупного рогатого скота и явилось основанием для выбора темы диссертационного исследования.

Степень разработанности проблемы. Решением проблем гепатопатологии у высокопродуктивного молочного скота занимались и занимаются многие российские и зарубежные ученые, такие как Б.В. Уша (1979-2004, 2021), В.Н. Байматов (1990, 1998-2008), М.З. Ан-дрейцев (2000-2001), Ю.Н. Алехин (1992-2012), Р.А. Мерзленко (2012-2018), Е.В. Душкин (1993-2015), В.А. Мищенко (2008-2014), И.И. Калюжный (2013-2017), А.А. Воинова, С.П. Ковалев (2015-2017), Н. West (1997), G. Vobe (2004), E. Read (2016), T.C. Faccin (2016) и другие.

Теоретической базой и предпосылкой для проведения исследований в направлении изучения фармакокоррекции болезней печени незаразной этиологии у высокопродуктивных коров с помощью инъекционных гепатопротекторных препаратов послужили труды таких учёных, как М.П. Семенов, Е.В. Кузьминовой, (2014-2020), О.А. Фомина (2019), А.А. Абрамова (2020).

Следует отметить, что изыскание ветеринарными фармакологами гепатопротекторных препаратов, имеющих патогенетическую направленность, для восстановления нарушенного функционального и метаболического состояния печени, а также нормализации обменных процессов в организме животных, вызывает большой интерес. Поэтому, несмотря на наличие работ в области фармакокоррекции гепатопатий у животных, можно говорить о необходимости дальнейших разработок инъекционных препаратов, проявляющих гепатозащитные свойства при заболеваниях гепатобиллиарной системы организма, что и стало основой для определения цели и задач настоящего исследования.

Цель и задачи исследования. Основной целью исследования явилась фармако-токсикологическая оценка нового инъекционного препарата ливазен и клинико-терапевтическое обоснование его применения при гепатозах коров.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- изучить параметры общетоксического действия препарата ливазен на организм животных;
- установить специфическую гепатозащитную активность препарата на биологических моделях поражения печени *in vivo*;
- изучить влияние ливазена на снижение эндогенного («метаболического») токсикоза у стельных и новотельных коров;
- изучить клиническую эффективность ливазена при гепатозах у коров.

Научная новизна работы. В результате комплексных научных исследований проведена доклиническая оценка нового инъекционного гепатопротекторного препарата ливазен, изучены его основные токсикометрические и фармакологические параметры. На экспериментальных моделях повреждения печени установлено выраженное гепатозащитное действие ливазена, проявляемое улучшением клинического и метаболического статуса организма. Выявлено положительное влияние препарата на снижение интенсивности липолиза, улучшение гомеостатических показателей крови, активность гепатоиндикаторных ферментов печени, степень и развитие эндотоксикоза в организме животных, а также на структуру и функции гепатоцитов. Установлена лечебно-профилактическая эффективность ливазена при гепатозе коров.

По результатам исследования получен патент РФ на изобретение № 2680393 «Инъекционное средство для лечения гепатозов у крупного рогатого скота».

Теоретическая и практическая значимость. Теоретически обоснована перспективность использования ливазена в условиях современных животноводческих комплексов для повышения эффективности проводимых ве-

ветеринарных мероприятий в молочном скотоводстве. Практической ветеринарной медицине предложен новый безопасный инъекционный препарат, обладающий выраженной гепатопротекторной активностью при гепатозах у высокопродуктивных молочных коров, оказывающий положительное влияние на гомеостаз и обменные процессы организма животных. Разработана инструкция по применению препарата ливазена, рассмотренная и одобренная Ученым советом ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» (протокол №5 от 09.07. 2019 г).

Методология диссертационной работы. Методология диссертационной работы спланирована в соответствии со структурой и задачами исследования и опирается на труды отечественных и зарубежных ученых в области ветеринарной токсикологии и фармакологии гепатопротекторных средств и их применения при гепатозах у животных. В работе использовались физико-химические, клинические, токсикологические, гематологические, биохимические, фармакологические, ультрасонографические, патоморфологические и гистологические методы исследования. В ходе проведения экспериментов использовались методы научного поиска, анализа, сравнения и обобщения материалов, а также экономические методы и методы статистической обработки полученных материалов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Физико-химические свойства препарата ливазен;
- Токсикометрические параметры препарата ливазен;
- Экспериментальные данные по изучению гепатозащитной активности препарата;
- Влияние ливазена на уровень эндогенной интоксикации у коров;
- Клиническая эффективность препарата при гепатозе коров и в составе комплексной системы мероприятий по профилактике гепатозов у стельных и новотельных коров.

Степень достоверности работы. Основные положения исследования, а также выводы и практические предложения, сформулированные в диссертационной работе, отвечают поставленным целям и задачам. Достоверность результатов обусловлена значительным объемом экспериментальных и клинических исследований, выполненных с использованием современных аналитических и статистических методов, а также высокотехнологического оборудования, позволяющего получать воспроизводимые результаты.

Апробация и реализация результатов научных исследований. Основные результаты диссертационного исследования доложены, обсуждены и одобрены: на заседаниях Ученого совета Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института, Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии (2015-2021 гг.); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2015); Международной научно-практической конференции «Наука, образование и инновации» (Челябинск, 2015); Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института (Краснодар, 2016); XXI студенческой научной конференции «Студенттік ғылым – агроөнеркәсіптік кешенді дамыту үшін» атты студенттердің ххі ғылыми конференциясының, Республика Казахстан (Алматы, 2017); XI Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ и 80-летию со дня образования Краснодарского края «Научное обеспечение агропромышленного комплекса» (Краснодар, 2017); Международной научно-практической конференции «Научные основы повышения продуктивности и здоровья животных» (Краснодар, 2020); Международной научно-практической конференции «Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК», посвященной 100-летию кафедры фар-

макологии СпбГУВМ (Санкт-Петербург, 2021); Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии» (Самара, 2021).

Личный вклад соискателя. Организация и проведение экспериментальной части работы, а также статистическая обработка результатов выполнена лично автором под научным руководством заслуженного деятеля науки Кубани, доктора ветеринарных наук, доцента ВАК Семененко М.П. Доля участия соискателя при выполнении работы составляет 87 %.

Публикации. Основные научные результаты, включенные в диссертацию, опубликованы в 13 печатных работах, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 1 статья, входящая в международную библиографическую базу данных «Scopus».

Объем и структура диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 178 страницах стандартного компьютерного текста и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, собственные исследования, обсуждение результатов исследования, заключение, выводы и практические предложения, а также список использованной литературы и приложения. Библиографический список состоит из 287 источников, в том числе 51 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 37 таблицами, 17 рисунками и 9 ультрасонографическими снимками.

2 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1 Физиологическая роль печени и ее значение в жизнедеятельности организма

Печень (hepar) является крупнейшей железой пищеварительного тракта млекопитающих, выполняющей разнообразные функции. Структурной единицей, выполняющей роль строительного материала органа, являются гепатоциты – паренхиматозные клетки, объединенные в дольчатые ряды. Кроме гепатоцитов, печень содержит эпителиальные клетки, выстилающие желчные протоки, клетки ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), а также соединительную ткань, с помощью которой происходит формирование капсулы печени. На клетки печени приходится более 60 % всей массы органа, все остальное складывается из эндотелиальных клеток (до 20 %), клеток протоков и соединительной ткани.

При этом сформированная печеночная долька (конгломерат гепатоцитов) имеет центральную вену, представляющую часть общей системы печеночной вены, разветвляющуюся к периферии. По периметру дольки располагаются портальные тракты, в которых выделяются разветвления воротной вены, печёночной артерии и желчных протоков. Таким образом, каждая печеночная долька составляет один из сегментов органа с собственной системой крово- и лимфотока, а также иннервации (Бажибина Е.Б и др., 2007; Полищук Ф.И. Трофименко А.Л., 2007).

Печень обладает уникальной функцией регенерации, она является единственным органом, способным восстанавливаться до своего первоначального размера при условии сохранения 30 % здоровой ткани (Cienfuegos J.A. et al., 2014; Brill M.S. et al., 2009). Это происходит благодаря уникальной способности ткани печени. Однако процесс регенерации занимает длительное время и происходит за счет митостатического деления оставшихся клеток, увеличива-

ющих объем самого органа. Таким образом происходит не деление резецированной доли, а увеличение объема клеток, обусловленное гиперплазией гепатоцитов (Cotran R.S., Kumar V. Robbins S.L., Saunders W.B., 1989; Бикхард К, 2005; Кондрахин И.П., 2004; Ленинджер А., 1985).

Печень играет ключевую роль в функционировании всего организма, принимая участие в большинстве биохимических процессов и поддержании метаболического гомеостаза (Нугуманова Г.Н. и др. 2010).

К важнейшей функции печени следует отнести барьерную функцию, в результате которой происходит защита между кровообращением желудочно-кишечного тракта и остальными органами и системами организма. В этом случае, венозная кровь, проходящая по капиллярам, вступает в близкое соприкосновение с гепатоцитами. Благодаря такой особенности, в печени происходит нейтрализация многих токсичных метаболитов, а также диссимиляция из крови углеводов с дальнейшим депонированием в клетках в виде гликогена, мочевины, гормонов и других веществ (Акаевский А.И., 2009; Барановской А.Ю., 2013; Налетов Н.А. и др., 1991; Слободяник В.С., 2007; Гичев Ю.П., 1993; Вермель, А.Е., 2005).

Печень играет существенную роль в регуляции белкового обмена за счет синтеза, расщепления, перестройки белков и аминокислот, а также утилизации продуктов их обмена в гепатоците. В печени синтезируется более половины клеточных и сывороточных белков организма, в том числе 100 % альбуминов, 75-90 % α -глобулинов, 50 % β -глобулинов; белков, участвующих в свертывании крови – фибриногена, протромбина, акцелерина, антигемофилических глобулинов; гепарина (Денисенко В.Н., Кесарева Е.А, 2006; 2012). При этом, в печени не только происходит синтез аминокислот, но и регуляция их состава. Синтез γ -глобулина осуществляется в плазмоцитах и Купферовских клетках (Казаков Д.Н., 2004; Кайзер С, 2010; Каркищенко Н.Н., 1995).

Печень активно участвует в липидном обмене. При попадании растительных и животных жиров, содержащихся в кормовых рационах, в начальный отдел тонкого кишечника, происходит их эмульгация – смешивание с водой под действием солей конъюгированных желчных кислот, таких как гликохолевая, дезоксихолевая, литохолевая и других. В процессе эмульгации образуются жирные кислоты, которые могут вовлекаться в синтезобразующие процессы организма, такие как образование липидов, либо тратиться на энергетические нужды. Другим продуктом расщепления жиров становится глицерин, который может проходить две стадии – полное и неполное окисление. При полном окислении формируются конечные продукты – CO_2 и H_2O , при неполном – кетонные тела: β -оксимасляная кислота, ацетоуксусная кислота и ацетон.

Изменение содержания холестерина, его концентрации довольно чётко связано с функциональным состоянием печени. Если при нормальном функционировании гепатоцитов либо при развитии компенсаторных реакций в организме может происходить увеличение концентрации холестерина, то при декомпенсации органа как правило, уровень холестерина в крови животных значительно снижается (Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л., 2003; 2008; Кошкин В.М., 1983).

Следует учитывать, что глюкоза, поступающая с кормами, является одним из важнейших источников энергии, преобразуемая в АТФ и глюкуроновую кислоту, имеющие прямое отношение к синтезу гепарина. Поглощая большую часть поступающих из кишечника углеводов, печень в гепатоцитах преобразует их в глюкозу, что способствует сохранению стабильности гликемии (Байматов В.Н., Давлетов Э.Г., 1998). Механизм регуляции углеводного обмена предполагает распад депонированного в гепатоцитах гликогена до физиологически приемлемых величин, поскольку дефицит углеводов приводит к нарушению метаболизма не только энергетического, но и белкового обменов, а также накоплению в организме недоокисленных продуктов (Бабкина Т.Н., Таран Г.Т., 2002; Диксон М., Уэбб Э., 1982; Щербаков Г.Г., 2009).

В печени осуществляются процессы формирования и выделения желчи, что, в свою очередь, способствует утилизации билирубина и других желчных пигментов (Байматов В.Н., Мешков В.М., Савойский А.Г., 1966; APEX2 (Version 2.1), (Version 7.31A), 2006; Simeone J.F., Brink J.A., Mueller P., 1989), которые вырабатываются в процессе распада белковой части гемоглобина – гема в клетках эндотелия ретикулоцитов селезенки и некоторых других органов. Билирубин может быть в свободной (непрямой билирубин) или конъюгированной форме (прямой билирубин). Различие этих форм обусловлено тем, что свободный билирубин, взаимодействуя с альбуминами крови, связывается с ними, и в таком виде транспортируется к клеткам печени. Следующим этапом трансформации является присоединение к его полярным группам глюконовой кислоты, в результате чего происходит образование прямого билирубина (глюкуронида). Прямой билирубин в норме практически не поступает в кровь, а экскретируется с желчью в кишечник, где, под действием кишечной микрофлоры метаболизируется и далее, выводится из организма с фекалиями (Воскобойников В.Ф., 1999; Гаевый М.Д., 2008; Машковский М.Д., 2002; Mandjori S., 2004; Белоусов Ю.Б. и др., 2009).

Холестерин, вырабатываемый в клетках печени, в свою очередь, образует соли желчных кислот – холевую и хенодезоксихолевую, которые обеспечивая необходимую среду для эмульгирования жиров (Слесаренко Н.А. и др., 2004; Фрейм М., 2008).

В печени происходит метаболизация стероидных гормонов, которые, хоть и не образуются в клетках, но способствуют частичной или полной потере их активности и разрушению. К таким гормонам следует отнести тироксин, АДГ, альдостерон, эстрогены, инсулин. С печенью связана надежность синтеза адреналина, норадреналина, дофамина из тирозина. Последний синтезируется в самой печени (Уша Б.В., 2002).

С участием печени происходит усвоение большого количества витаминов, поступающих с кормом (Уша Б.В., 2021). Всасывание из кишечника жирорастворимых витаминов, таких как А, Д, Е и К, обеспечивается путем эмульсации желчью жира. А далее – в печени происходит синтез витамине К и активация витамина Д (Кукес В.Г., 2006). Кроме того, печень служит депо для витаминов группы В, и микроэлементов и регулятором их обмена (Подымова С.Д., 2005).

В гепатоцитах происходит метаболизм ферментов – внутриклеточных, секреторных и экскреторных.

К внутриклеточным ферментам относят такие, как АСТ, АЛТ, LDG, γ -GGT, участвующие в метаболических процессах, происходящих внутри клетки. Их резкое увеличение активности при патологии печени и других органов обусловлено повышением проницаемости мембран, некрозом и лизисом клеток.

Аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспартатаминотрансфераза (АсАТ) – ферменты, участвующие в обмене аминокислот и в максимальных количествах содержащиеся в гепатоцитах и сердце (Денисенко В.Н., Кесарева Е.А., 2012; Венгеровский А.И., Саратикова А.С., 1988; Волкова Е.С., Байматов В.Н., 2002). Причем, наибольшая концентрация АсАТ содержится все-таки в клетках миокарда, и только потом в печени, тогда как относительно АлАТ отмечается обратная картина. Поэтому их резкое увеличение может служить диагностическим параметром при дифференциации сердечной или печеночной патологии, даже при отсутствии клинических признаков заболевания (Бергхов П.К., 2006; Серов В.В., Лапиш К., 1989).

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент, принимающий участие в одном из конечных этапов превращения глюкозы. Находится в клетках разных органов и тканей, содержится в организме в форме 5 изоферментов – ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃, ЛДГ₄, ЛДГ₅. Увеличение активности ЛДГ₁ и ЛДГ₂ происходит при поражении сердечной мышцы, а ЛДГ₅ – при болезнях печени и повреждении

скелетной мускулатуры. Повышение активности ЛДГ свидетельствует о гипоксическом состоянии организма (Кокуричев П.И., 1994).

γ -глутамилтрансфераза (ГГТ) – еще один из внутриклеточных ферментов, по активности которого можно диагностировать заболевания печени и, в первую очередь, желчевыводящих путей, поскольку его максимальная локализация находится в клеточном эпителии, выстилающем желчные протоки (Маркова И.В. и др., 2001).

К секреторным относят ферменты, которые выделяются в кровь гепатоцитами, позволяя оценивать функциональную активность клеток печени. В группу секреторных ферментов входит холинэстераза (псевдохолинэстераза, ХЭ), концентрация которой снижается при гепатитах, циррозе, застойных явлениях и злокачественных опухолях печени. Повышение активности ХЭ наблюдается при сахарном диабете и нефрозе.

Экскреторные ферменты выводятся из организма с экскретами. Из них диагностическое значение имеют α -амилаза и щелочная фосфатаза (Ettinger S.J., 2010).

α -амилаза – фермент, участвующий в расщеплении гликогена, крахмала и ряда других углеводов. Образуется в поджелудочной железе и слюнных железах.

Щелочная фосфатаза (ЩФ) – фермент, участвующий в реакциях обмена ионов фосфорной кислоты. Содержится не только в стенках желчных протоков печени, но и костях, почках, слизистой оболочке кишечника в виде различных изомеров. Активность ЩФ возрастает при нарушении оттока желчи из печени, при поражении почек злокачественными опухолями. Повышение активности ЩФ также характерно для некоторых поражений костей, таких как остеосаркомы, остеодистрофии, рахит, деформирующий остит (Венгеровский А.И., Саратикова А.С., 1988; Уша Б.В., Жавнис Э.В., Горовая Т.Б., 2004).

Каждый из гепатоцитов обладает определенным набором ферментов и при нарушении проницаемости клеточных оболочек происходит выход ферментов в кровь (Shanani S., 1999).

Печень является важнейшим биологическим фильтром организма, выполняющим обезвреживающую функцию по инаktivации и выведению токсических веществ экзо- и эндогенного происхождения (Williams, J.M., 2005; Чандлер Э.А. и др., 2011).

Однако в связи с ее многогранностью и близким расположением относительно других органов, она чаще подвергается негативному влиянию различных факторов, что приводит к развитию патологических процессов, приводящих к нарушению обменных процессов во всем организме и заболеваниям гепатобилиарной системы, из которых наиболее часто встречаются гепатозы.

2.2 Этиопатогенез гепатозов у коров

Гепатоз — это общее название заболеваний печени незаразной этиологии, характеризующееся первичным нарушением обмена веществ в клетках печени (гепатоцитах) с последующим развитием дистрофических изменений со слабовыраженным или отсутствием признаков воспалительных явлений. (Андрейцев М.З., 2000; Кузьминова Е.В., Семенов М.П. и др., 2013; Купчинская С.С., 2014; Киреев В.С. и др., 2017).

Гепатоз отмечается у 40-50 % коров продуктивностью от 5000 до 6000 л молока за 305 дней лактации, если удой превышает 6000 л после 3-х лактаций заболевание отмечается у 80-90 % (Мищенко В.А., 2008).

В животноводческих комплексах при гепатозах ухудшается воспроизводство поголовья и происходит ранняя выбраковка, которая доходит до 27 %, из которых в 12-34 % уже наблюдается клиническая форма поражения печени; отклонение биохимических показателей крови отмечается у 17-65 %, показы-

вая развитие цитолиза, холестаза и нарушение витаминно-минерального обмена; отмечается снижение до 40 % производство молока и до 20 % уменьшение прироста живой массы (Мерзленко Р.А., 2014; Самотин А.М., 2002).

При проведении ветеринарно-санитарной экспертизы на мясокомбинатах происходит выбраковка печени коров до 30 % (Бивалькевич Н.В., 2014; Душкин Е.В., Дерезина Т.Н. и др, 2014; Удинцев С.Н., Жилиякова Т.П., 2009).

Такие исследователи, как Ю.Н. Алехин (2012), Э.М. Баширова (2010), А.Я. Батраков (2015), И.Ф. Хазимухаметова (2010), М.П. Семененко (2016), М.Б. Исакова (2017), Е.В. Душкин с соавт. (2015), выделяют основные причины развития гепатозов у высокопродуктивного молочного скота: несбалансированное и неполноценное кормление, нарушение зоогигиенических требований содержания животных, недостаток микроэлементов, в особенности селена.

По мнению В.Н. Орлова (1988), Б.А. Тимофеева (1989), Е.Г. Яковлевой (2003), возникновение гепатозов у крупного рогатого скота связано с наличием солей тяжелых металлов, остатками пестицидов и наличием алкалоидоносных растений в кормах, а также применением лекарственных препаратов тетрациклинового ряда, стероидов, фенотизинов и др.

М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова и др. (2016), отмечают развитие вторичных гепатозов при нарушении обменных процессов в организме и функциях эндокринных систем.

Механизмы возникновения и развития гепатозов, а также их отдельных специфических проявлений обусловлены формированием общей неспецифической реакции организма на фоне длительного отсутствия выраженных клинических признаков заболевания (Кононенко С.И., 2011, 2016; Кузьминова Е.В., Семененко М.П., Старикова Е.А. и др., 2013; Семененко М.П., Зотова Т.А., Кузьминова Е.В. и др., 2017). Вследствие нарушения работы печени в организме происходит нехватка питательных веществ, интоксикация, нарушение обмена веществ и водно-электролитного баланса.

Отмечают внутренние и внешние факторы развития гепатоза. К развитию внутренних патологических процессов приводит инсулинорезистентность, захват из тока крови печенью жирных кислот, увеличение периферического липолиза, усиление синтеза жирных кислот с дальнейшей этерификацией, нарушение в митохондриях окисления жирных кислот, повышенный синтез ЛПНП, функциональная недостаточность печени, нарушение выведения из гепатоцитов липопротеидов, ухудшение белоксинтезирующих процессов (Никулин И.А., 2004; Méndez-Sánchez N. et al., 2007; Dietz W.H., 2005; McAvoy N. C. et al., 2006).

К внешним факторам приводит избыточное поступление в гепатоциты продуктов гидролиза липидов и накопление жира (Новикова В.П., 2010; Mari M. et al., 2010).

В основе развития патологии лежит нарушение функции печени, приводящих к повреждению гепатоцитов, дистрофическим изменениям, воспалительным процессам, некрозу, цитолизу, фиброзу (Карташова О.Я., 2000).

Гепатозы характеризуются сочетанием некрозов гепатоцитов с воспалениями разной степени. В основе многообразия этиологических факторов можно констатировать постадийность патогенезов. Вначале наблюдаются первичная мобилизация и истощение резерва питательных веществ в печени, нарушение в ней синтетических, антитоксических и регенерационных процессов с развитием гипогликемии, диспротеинемии и гипоальбуминемии, с накоплением недоокисленных продуктов обмена, которые ведут к усугублению развития ацидоза и дистрофии. Далее происходит мобилизация и перераспределение резервов питательных веществ из жировой и мышечной ткани организма животного, с усилением смещения кислотно-щелочного баланса в сторону увеличения кислотности, развитием голодного кетоза, а затем кетозного истощения. Последующее развитие патологии вызывает общую дистрофию и лактационное истощение, с нарушениями не только синтетических, регенерационных, антитоксических процессов, но и распадом структурных белков,

других соединений, гиповитаминозами, микроэлементами, остеомоляцией, алиментарным бесплодием, гипофункцией яичников. При этом на фоне метаболических стрессов и снижения неспецифической резистентности возникают инфекционные маститы, эндометриты, остеомалация и остеопороз, дистрофические изменения в нейрогуморальной, сердечно-сосудистой системах, функций воспроизводства (Жаров А.В., 2012; Луцкий Д.Я., 1978; Постников В.С. 1981; Higgins R.J., 1983).

Как отмечает А.Н. Елисеев (1981), действие токсинов экзо- и эндогенного характера приводит к глубоким изменениям в структуре клеток печени, проникая через воротную вену или в желчь. Действие продуктов перекисного окисления липидов приводит к повреждению мембран гепатоцитов, клеточных органелл и ядерных мембран.

При увеличении проницаемости мембран гепатоцитов происходит высвобождение протеаз, за счет этого стимулируется расщепление белков, повышается аутолиз паренхимы органа с увеличением печеночных показателей аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ).

Аутолиз клеток печени превращает продукты распада гепатоцитов в антигены, стимулируя образование аутоантител и дальнейшее развитие распада, аутолиза гепатоцитов. Происходит нарушение детоксикационной функции печени, начинается накопление в крови кетоновых тел и других токсических веществ (Шарабрин И.Г., 1976; Анохин Б.М., 1996). Фиксирование аутоантител происходит на мембране гепатоцита, провоцируя активное воздействие сенсибилизирующих лимфоцитов на них. Данная аутоиммунная реакция проходит по типу замедленного гиперчувствительности (Шулутко Б.И., 1995). Отмечается изменение морфогенеза гепатоцитов и строение печени в целом (Карташова О.Я., Максимова Л.А., 2000).

А.Ф. Блюгер (1988), Н.Б. Губергриц (2002), отмечают, что длительное бесконтрольное употребление большого количества жиров ведет сначала к

развитию жировой инфильтрации паренхимы печени, переходящей в последующем к белково-жировой дистрофии. Клетки печени способны регенерировать. Если не произошло разрушение ядер клеток, то устранение токсического действия приводит к восстановлению пролиферативных процессов и замене поврежденных гепатоцитов новыми.

По мнению Б.В. Уша (1979), гепатоз иногда называют токсической дистрофией печени так, как патогенез действия токсинов приводит к нарушению структуры гепатоцитов и обменных процессов.

Депонирование жировых кислот осуществляется в жировой ткани (адипоцитах) в составе с триглицеридами (этерифицированные жирные кислоты). Их утилизация происходит в печени и мышцах, куда транспортируются в виде неэтерифицированных (свободных) жирных кислот при помощи альбумина. В печени большая часть неэтерифицированных жирных кислот реэтерифицируется (связывается) с образованием фосфолипидов и триглицеридов. Свободные жирные кислоты, особенно пальмитиновая, олеиновая, линолевая накапливаются в виде триглицеридов в жировой ткани. Мобилизация триглицеридов зависит от гормончувствительной липазы, действие норадреналина и глюкокортикоидов увеличивают ее активность.

При кетозах у коров под воздействием липазы происходит расщепление жировой ткани (Рябова Е.В., Калюжный И.И., 2012; Баринов Н.Д. и др., 2014). Поступление с кормом большого количества жиров и углеводов усиливает синтез жирных кислот в печени, когда происходит его подавление увеличивается образование триглицеридов и угнетение липопротеидов (Хенниг А., 1986; Mudron P., 1997).

Поступление гепатотропных ядов в организм приводит к угнетению синтеза апопротеина – белка, входящего в состав липопротеидов, что приводит к замедлению транспорта триглицеридов, накапливая их в гепатоцитах (Pechova A., 2002).

При нарушении метаболизма липидов у высокопродуктивных коров в транзитную фазу происходит накопление липидов в печени и активизация жировых резервов, которые следует рассматривать как один из патогенетических факторов развития дистрофических нарушений в гепатоцитах. И этот фактор может быть напрямую связан с селекционной работой по получению высокопродуктивных стад в молочном скотоводстве (Душкин Е.В., 2010).

Как отмечает во многих своих трудах Е.В. Душкин (1993, 2007, 2008), скорость развития плода в глубокостельный период определяется затратами энергии и пластического материала, которые несет корова при беременности, тогда как сразу после отела происходит перераспределение этих затрат на усиленный синтез и секрецию молока. И в этом случае, несбалансированное и дефицитное по ряду питательных и биологически активных веществ кормление, приводит к интенсивному задействованию депонированных запасов жира и белка организма животного. Чтобы предотвратить их дефицит, происходит «сдаиванием» животных с последующими сдвигами в липидном обмене, которые определяют дальнейшую продуктивность и здоровье коров (Душкин Е.В., 2011; Еременко В.И. и др., 2013).

Повышенное отложение в гепатоцитах липидов (особенно триацилглицеролов) приводит к нарушению глюконеогенеза, синтеза гликогена, различным обменным заболеваниям.

Высокопродуктивные коровы физиолого-генетически предрасположены к патологической мобилизации запасов своего организма для молочной продукции, что является причиной развития белковой и токсической дистрофии печени (Кузнецов Н.И., Никулин И.А., Вислогузов А.М., 2001).

Таким образом, исходя из разнообразных этиологических факторов необходимо своевременно проводить диагностические мероприятия при гепатозе.

2.3 Методы диагностики гепатозов

В настоящее время для диагностики гепатозов в основном применяются методы пальпации, перкуссии и аускультации, а также биохимические анализы крови. Используют специальные методы диагностики: пункцию, биопсию, ультрасонографию, компьютерную томографию (Жаров А.В., 2012; Кондрахин И.П., 2004; Постников В.С., 1989; Смирнов А.М., 2007).

Научные исследователи – такие, как М.З. Андрейцев (2000), считают, что пальпация обладает ограниченным диагностическим значением, тогда как И.А. Никулин (2002), Е.В. Душкин (2008, 2013), отмечают перкуссию, как важный инструмент в диагностике увеличения границ печени. Увеличение области печеночного притупления наблюдается в 12 межреберье до линии седативного бугра и может опускаться ниже. При этом перкуссионные границы печени увеличиваются непостоянно и зависят от течения и степени развития гепатоза (Хазимухаметова И.Д., 2008, 2010).

По мнению И.И. Калюжного с соавт. (2016), проведение плановой диспансеризации больных гепатозом лактирующих коров показало у 52 % увеличение области печеночного притупления, а болезненность печени – у 48 % животных.

Для определения нарушения в печени белокообразующей функции, в клинической практике используют коллоидно-осадочные пробы. Развитие диспротеинемии, особенно на фоне снижения альбуминов, нарушает устойчивость коллоидной системы в крови. Данные реакции просты в выполнении и достаточно информативны, способствуя своевременному определению функционального состояния печени. И.П. Кондрахин (2004), считает, что для ветеринарной практики использование цинк-сульфатной осадочной печеночной пробы будет наиболее универсальной.

Ведущим исследованием для определения гепатозов у высокопродуктивных животных является изучение состава крови. Система крови выполняет в организме важные коммуникативные и интегрирующие функции, поэтому

любые отклонения гомеостаза находят свое отражение, а при использовании общих методов исследования информативность будет только при выраженном прогрессировании заболевания (Алехин Ю.Н., 2011; Семененко М.П., Кузьмина Е.В., Фомин О.А., 2014).

При проведении биохимических исследований у больных животных отмечают гиперпротеинемию, гипогликемию, гиперкетонемию, гиперкетонурию, понижение щелочного резерва. В организме животного происходит нарушение теплообмена, гипертермия и гипергидроз (Косинцев В.Л., 2010).

Клинический анализ крови больных коров может выявить тенденции к эритропении, лейкоцитозу, эозинофилии, индикации единичных форм атипичных клеток, снижению уровня сахара в крови, повышению концентрации кетоновых тел. Большинство заболеваний печени, связанные с повреждениями паренхимы, сопровождаются снижением ее белковосинтетической функции при диагностике повышения уровня свободных аминокислот, понижения уровня альбуминов и α -глобулинов. Гипоальбуминемия является характерным признаком острой и хронической недостаточности в печени. Может наблюдаться умеренная гипергаммаглобулинемия и гипербетаглобулинемия со сниженной коллоидной стойкостью белков, сопровождающаяся повышением сывороточных трансаминаз (АлАТ и АсАТ). Субклинический анализ показателей крови показывает увеличение кетоновых тел до 20 % (норма 4-6 %) при понижении глюкозы в среднем на 55 % и гемоглобина, большую концентрацию неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) и низкие β -липопротеиды (Кузнецов В.М., Ревина Г.Б., Асташенкова Л.И., 2017; Мищенко В.А., 2008).

Известно, что содержание кетоновых тел, мочевины в молозиве и молоке идентичны их количествам в крови, где их чуть меньше, а при скрытом кетозе концентрация кетоновых тел в молоке повышается, а мочевины снижается. Полуколичественный экспресс-метод с образованием комплексного соединения розово-фиолетового цвета, проявляющегося при взаимодействии ацетона и ацетоуксусной кислоты с нитропруссидом натрия в щелочной среде,

меняющего интенсивность окраски от количества кетоновых тел, позволяет определять уровень кетоновых тел в молоке, моче и сыворотке крови.

Заболевания печени, связанные с клеточным распадом, отражаются на показателях крови повышением активности образующихся ферментов: сорбитдегидрогеназы, фруктозо-1-фосфатаальдозазы, глутаматдегидрогеназы, орнитинкарбамоилтрансферазы и неспецифических ферментов: фруктозодифосфатаальдозазы и лактатдегидрогеназы, а также увеличением щелочной фосфатазы, ГГТП, холестерина (признаки холестатического синдрома) и глубокими нарушениями липидного обмена (Жаров А.В., 2012; Подымова С.Д., 2005; Покровский Б., 2007; Постников В.С., 1981; Щербаков Г.Г. и др., 2002).

Многочисленные обменные процессы, происходящие в организме животных, представляют собой согласованное действие ряда ферментных реакций, нарушающихся при заболеваниях. По локализации в клетке печени различают цитоплазматические ферменты (ЛДГ) и митохондриальные (АсАТ). При легкой форме поражения печени в сыворотке накапливаются цитоплазматического происхождения ферменты, при тяжелой – митохондриального, являясь индикатором возникновения отдельных патологических процессов, поэтому гиперферментемия считается важным показателем диагностики гепатоза.

На практике активность заболевания, как правило, оценивают на основании динамики цитолитического синдрома (преобладание активности аспаратаминотрансферазы над аланинаминотрансферазой) выражающегося определением коэффициента де Ритиса. Определение данного показателя дает сравнительно высокую диагностическую информативность развития гепатоза (Еремеева Е.В. et al., 2013).

Большую ценность для диагностики состояния печени представляет определение лактатдегидрогеназы – ЛДГ, катализирующей превращение лактата в пируват и обратно, одна из ведущих реакций гликолиза, присутствующего в организме в виде пяти разных изоферментов. При гипофункциях печени в крови возрастает содержание характерных ЛДГ-4 и ЛДГ-5. Активность

печеночной фракции у здоровых животных ЛДГ-4 и, особенно, ЛДГ-5 минимальна (меньше 2 %), наличие деструктивных процессов отражается на увеличении в сыворотке крови активности ЛДГ-5 (в 4-5 раз относительно физиологической нормы), наряду с общим увеличением ЛДГ (Луцкий Д.Я., Жаров А.В., Шишкин В.П., 1978).

Наиболее чувствительным тестом является определение холинэстеразы (ХЭ), которая отражает функциональное состояние печени, чувствительность превосходит общепринятые функциональные пробы, очень низкий показатель является признаком неблагоприятного прогнозом течения заболевания. Холинэстераза выполняет ряд немаловажных функций инактивирует ацетилхолин за счет расщепления его на уксусную кислоту и холин, влияет на клеточную проницаемость. Некачественное кормление также уменьшает уровень холинэстеразы, что может диагностироваться и при отравлении ксенобиотиками (И.П., 2004; Соболева Ю.Г. и др., 2012; Большаков Д.С., Никешина Т.Б., 2015).

Увеличение в периферической крови печеночных ферментов алкалинфосфатазы (ALP), гамма-глутамилтрансферазы (GGT) и уровня билирубина указывают на воспалительные процессы в печени.

Увеличение ALP и GGT чаще наблюдается при заболеваниях желчевыводящих путей. Билирубин представляет водорастворимую фракцию, и растворимую в жирах, непрямую, представляющую неконъюгированный билирубин. Конъюгированная гипербилирубинемия при увеличении показателей прямого и непрямого билирубина, отражает нарушение секреции желчи; неконъюгированная гипербилирубинемия происходит при нарушении процесса конъюгации, что отмечается при болезнях печени. Большинство печеночных заболеваний и желчных путей происходит с развитием конъюгированной гипербилирубинемией (Хазанов А.И., 1988; Камышников В.С., 2013).

Гамма-глутамилтрансфераза (GGT) ускоряет перенос пептидов, таких как глутатиона с γ -глутамиловой группы, участвует в транспортировке аминок-

кислот, содержится во всей гепатобилиарной системе. При заболеваниях печени гамма-глутамилтрансфераза коррелирует с уровнем щелочной фосфатазы, становясь более выраженным показателем заболеваний желчевыводящих путей (Камышников В.С., 2016).

Исследования, проведённые Н.Г. Личук и соавт. (2016), установили, что в сыворотке крови высокопродуктивных коров, больных гепатозом, снижается уровень холестерина, который можно рассматривать как один из патогенетических факторов развития вторичных патологии.

М.И. Рецким и соавт. (2008), установлено, что усиление перекисного окисления липидов происходит при развитии у бычков жировой дистрофии печени.

Ю.В. Зимин (2001), М.Р. Баратова (2016), D. Cheng et al. (2017), в своих исследованиях механизмы патогенетической пролиферации соединительной ткани в печени достоверно не установили. Исследователи выдвигают предположение, что синтез гликозаминогликанов и коллагена усиливают продукты перекисного окисления липидов – малонового диальдегида и флуорисцирующих оснований Шиффа, высвобождающихся из некротизированных клеток печени.

Такие исследователи, как А.С. Расщектаев и П.Н. Щербаков (2013), утверждают, что тяжесть патологического процесса у больных животных трудно оценить только на основании проведения биохимического мониторинга крови и для более точной постановки диагноза следует подключать инструментальные методы, например, ультрасонографию печени. УЗИ-исследование позволяет выявить изменения, характерные при гепатозе в печени: гепатомегалию, расширение портальных трактов, повышение эхогенности.

Проведение сонографических исследований печени показало, что увеличение жировых отложений в просвете сосудов делают их более узкими, приводя к нарушениям макро – и микроциркуляции (Farrell G.C., et al., 2004; McCuskey R.S., Ito Y., Robertson G.R., 2004; Weijers G. et al., 2010; А. Шпарке, 2015).

В.А. Мищенко с соавт. (2014), и Н.В. Белугин с соавт. (2014), отмечают, что при проведении патоморфологических исследований туш от высокопродуктивных животных в результате вынужденного убоя, дистрофия печени отмечалась у 79,6 %.

И.А. Никулиным (2002), установлено, что при гепатозе патологоанатомические изменения характеризуются различной степенью тяжести дистрофических изменений (диффузная, энтролобулярная, перилобулярная дистрофии).

Такие ученые, как J. Jiang, N. Torok (2008), и Р.А. Добрунов (2017), установили, что при сохранении стромы печени патологические изменения обратимы, однако при тяжелых поражениях наступает печеночная кома.

Гистологическими исследованиями образцов печени возможно выявить дистрофические изменения клеточной структуры гепатоцитов, которая может проявляться нарушением балочной структуры долек, их дисконплектацией, зернистыми и жировыми включениями, а также сосудистым гемостазом (Шкуратова И.А., Дроздова Л.И., Белоусов А.И., 2016). За счет фракций триаглицеролов определяется высокая степень инфильтрации тканей печени липидами (Neuschwander-Tetri В.А., Caldwell S.H., 2003).

П.Д. Шабанов и соавт. (2010), при проведении гистологического исследования после убоя животных установили признаки жировой дистрофии печени – клеточный лизис с нарушением структуры клеток, мелко- и крупнопельные жировые вакуоли, слабо выраженную лимфоцитарную инфильтрацию портальных трактов и очаги некроза. Печень при разрезе имеет напряженную капсулу, глинистый цвет, рыхлую консистенцию, увеличена в размерах (Калюжный И.И. с соавт., 2016)

Большие возможности представляют лапаротомия и биопсия органа, которые, однако требуют профессионального подхода (Смирнов А.М., 2007).

2.4 Средства и методы профилактики и терапии гепатозов у коров

Ввиду того, что гепатозы длительное время протекают скрыто и сложно диагностируются, происходит несвоевременное применение лекарственных средств для коррекции данной патологии (Кузьминова Е.В., 2013). В лечении заболеваний печени у высокопродуктивных животных необходимо следовать двум основным принципам: устранение основных причин болезни, которые способствуют ее возникновению; проведение эффективной терапии с адекватной фармакологической коррекцией звеньев генеза заболевания печени (Семенов М.П., 2016). Проводимая терапия, в первую очередь, должна быть направлена на нормализацию обмена веществ. Для этого применяют микроэлементы, витамины, аминокислоты и антиоксиданты.

При гепатозе даже с поражением гепатоцитов до 70-75 % проведение лечебных мероприятий дает положительную динамику (Ратных О.А., 2018). Лечебно-профилактические мероприятия должны быть направлены на устранение этиологических причин, восстановление поврежденных гепатоцитов, активацию метаболизма и функций печени, осуществление постоянного оттока желчи, уменьшения очагов воспаления и некроза (Berkson В.М., 1999).

Большое значение в профилактике заболеваний печени отводится диетотерапии. В зависимости от физиологического состояния, возраста, продуктивности животных, в рационе должны быть легко усвояемые, качественные, сбалансированные по питательным веществам, витаминам, микроэлементам, корма. Необходимо исключить недоброкачественный, токсический корм, уменьшить дачу силоса, заменив его на доброкачественный и легкоусвояемый углеводистый корм, снизить питательность кормов белкового происхождения. Благоприятно влияет переход на пяти- и шестикратный режим кормления с неограниченным потреблением воды. Для поглощения избытка газа и связывания токсинов применяют молоко, водные взвеси древесного или активированного угля, которые вводятся животным через зонд.

Витаминные препараты в профилактике гепатозов играют большую роль. Витамины А и Е принимают участие в белковом обмене (Лебедев Н.И., 1996), защищая гепатоциты от повреждения, способствуя регенерации и репарации (Mitcheva M., 1993), витамины группы В помогают нормализовать углеводный обмен.

Не только витамины, но и препараты селена обладают выраженным антиоксидантным свойством. Они способствуют снижению уровня перекисного окисления липидов, предотвращая разрушение клеточных мембран (Самохин В.Т., 1999).

Необходимо учитывать, что селен и его неорганические соединения обладают токсичностью, а именно селенит натрия (Хмельницкий Г.А., 1990). Поэтому в ветеринарной практике предложены безопасные селеносодержащие органические препараты (Роменский Р.В. 2002; Фердман Н.А., 2007).

Отмечается эффективное применение препаратов селена с витамином Е, которые будучи синергистами, оказывают выраженное иммуномодулирующее и антиоксидантное действие (Скаржинская Г.М., 1997; Роменский Р.В., 2002).

Применение микроэлементов имеет важное значение при печеночной патологии, в особенности, таких как марганец, медь и цинк, обладающих липотропным действием, способствующих выведению липидов и предотвращающих их отложение в печени (Самохин В.Т., 1999). Микроэлементы способствуют активизации гипогликемического действия инсулина и отложению гликогена в печени.

Положительные результаты наблюдаются при применении аминокислотных препаратов, а именно цистина, метионина и их активных форм – витамина U (S-метилметионинсульфония хлорид) (Кузнецов Н.И., Елизарова Т.И., Вишнякова Л.В., 1990; Кузнецов Н.И., 1990).

Печеночные патологии всегда сопровождаются нарушением обмена липидов, поэтому большое значение имеет применение препаратов, способных

регулировать метаболизм липидов: липоевая кислота, полиненасыщенные жирные кислоты, холина хлорид, липамид, аминокислоты, 50 %-ный раствор глюкозы или декстрозы с аскорбиновой кислотой (Кузнецов Н.И., Никулин И.А., Вислогузов А.М. и др., 2001; Прасолов А.А., 2000; Калюжный И.И. и др., 2015), тыквенное ветеринарное масло, фузвет, тыквет, (Горлов И.Ф., 1997), стероиды, обладающие жиромобилизующим свойством.

Исследования, проводимые С.Н. Удинцевым и Т.П. Жилияковой (2009), показали, что гуминовая кормовая добавка гумитон нормализует функциональное состояние гепатоцитов печени лактирующих коров, в особенности у животных с послеродовой акушерской патологией. Под ее действием отмечается снижение концентрации билирубина в крови на 40,1 %, содержание АсАТ – на 10,1 %, АлАТ – на 26,2 %, щелочной фосфатазы – на 39,6 %.

Н.А. Фердман (2007), для профилактики гепатозов применяла препараты, содержащие селен – деполен и НУТРИЛ® Se стельным и сухостойным коровам в дозах: деполен в дозе 10 мл внутримышечно (на 5-ом месяце стельности), НУТРИЛ® Se добавлялся сухостойным коровам в корм в дозе 0,02 г/кг в течение 10 суток.

Л.Г. Телегина с соавт. (1997), рекомендует проводить фармакокоррекцию высокопродуктивных, больных гепатозом коров, препаратом рибав. Препарат восстанавливает белковый статус сыворотки крови, способствует количественному росту лейкоцитов и эритроцитов, насыщает кровь гемоглобином, увеличивает молочную продуктивность, повышает бета-литическую активность сыворотки крови и ее кислотную емкость. Рекомендовано применение рибав в течение 10 дней в дозе 20 мл/день.

Установлен высокий терапевтический эффект при применении гумата калия у телят, больных гепатозом. При скармливании телятам минеральной добавки в дозе 10 мг/кг на массу тела в течение 30 дней, в крови увеличивается количество форменных элементов красной крови (до 9,2 %), гемоглобина (на 14,2 %), тромбоцитов (на 19,2 %) и гематокрита (на 10,7 %). В биохимическом

гомеостазе выявляются изменения, свидетельствующие о восстановлении синтезобразующих процессов в клетках, что проявляется увеличением содержания общего белка на 7,8 %, мочевины – на 15,5 %, глюкозы – на 7,7 %, общих липидов – на 15,9 %, холестерина – на 17,9 %, витамина С – на 17,3 %, отмечается снижение креатинина на 4,2 % (Никулин И.А., 2017).

Исследования, проводимые G. Vobe et al. (2004), и F.S. Lima et al. (2011), показали, что скармливание высокопродуктивным животным холина (RPC), защищенного от разрушения, снижает накопление жира в печени, благоприятно сказывается на здоровье и продуктивности у животных в транзитный период, способствует повышению молочной продуктивности до 10 %.

И.Р. Шамсутдиновой (2015), изучено влияние водной дисперсии наночастиц серебра при нарушении функций печени при пероральном применении. Установлено, что 6,61 мг/кг действующего вещества на массу тела увеличивает уровень альбуминов на 55 % и снижает на 45 % уровень мочевины. При запущенном гепатозе, динамическая электростимуляция нормализует в печени высокопродуктивных коров синтезобразующие процессы, а именно функции синтеза белка и стимуляцию клеточного состава крови (Котомцев В.В., Илларионова С.В., 2008).

Исследование действия препаратов «Люцевит» и «Ветом» при гепатозе коров, показало, что данные препараты способствуют регенерации печени, нормализуют обменные реакции в организме и стимулируют иммунный ответ. При 10-ти дневной терапии происходит повышение на 25 % гемоглобина и нормализация показателей общего белка, глюкозы, трансаминаз и общих липидов (Хазимухаметова И.Ф. с соавт., 2010).

Для лечения и профилактики болезней печени используют препараты на основе бутафосфана и витамина В₁₂. Улучшение утилизации глюкозы в крови, ускорение процессов метаболизма стимулирование АТФ – АДФ цикла и активация всех функций печени происходит за счет действия бутафосфана. Вита-

мин В₁₂ принимает участие в биосинтезе ацетилхолина, улучшает кроветворение, уменьшает показатель холестерина в крови (Баринов Н.Д., Калюжный И.И., 2014).

О.Ф. Шакировым (2007) и В.Л. Косинцевым (2010), получены положительные результаты при применении на сухостойных коровах американского комплексного препарата «Катозал».

Е.В. Кузьминовой с соавт. (2011), изучалось действие каротиноидных препаратов на функциональную активность печени высокопродуктивных коров. Лекарственные препараты, такие как «Каролин», представляющий собой масляный раствор β-каротина микробиологического синтеза и «Карсел» – масляный раствор β-каротина микробиологического синтеза и органической формы селена, способствуют нормализации ферментообразующей и белковосинтезирующей функции печени, обуславливающей увеличение общего белка до 22-26 %, снижение уровня трансаминаз: АлАТ – до 39-54 % и АсАТ – до 36-46 %.

Однако при лечении гепатопатологий различного генеза, кроме средств общенаправленного действия на метаболические процессы, протекающие в организме животных, необходимо использование препаратов целевого назначения, так называемых, гепатопротекторов.

2.5 Классификация и механизм действия основных групп гепатопротекторных препаратов

Гепатопротекторами называют лекарственные средства, способные улучшать в печени метаболические процессы, повышать устойчивость к патогенетическим факторам, стимулировать регенерацию и восстановление структуры и функций гепатоцитов (Ивашкин В.Т., 2003; Буторова Л.И. и др., 2010).

Гепатопротекторный эффект достигается фармакологическими средствами, способными улучшать в организме метаболические процессы, инги-

бировать перекисное окисление липидов, снижать синтез коллагена с увеличением активности коллагеназы, имеющими антигипоксическую активность и защищающие от повреждения митохондриальные и микросомальные ферменты (Машковский М.Д., 2002; Матвеев А.В., 2013).

Описание идеального гепатопротектора впервые было предложено R. Presisig (1970), но в медицинской и ветеринарной науке до сих пор не удалось создать соответствующее лекарственное средство.

В настоящее время не существует общепринятой классификации гепатопротекторных препаратов. Наиболее часто их разделяют по происхождению, составу и механизму действия.

С.В. Оковитым с соавт. (2012), предложена классификация гепатопротекторных препаратов, зависящая от их происхождения, а О.Н. Минушкин, Л.В. Масловский и А.А. Букшук (2012), предложили классификацию согласно механизму действия (таблица 1).

Механизм защитного действия гепатопротекторов различен и включает следующие характеристики:

- способность ингибировать ферментативный процесс окисления липидов, нейтрализовать свободные радикалы, оказывая антиоксидантный эффект;
- мембраностабилизирующий эффект и восстановление структуры мембран клеток печени за счет встраивания в липидный слой клеток,
- способность индуцировать микросомальные ферменты печени и повышать скорость их активности, усиливать биотрансформацию веществ, запускать метаболические процессы в организме для ускоренного выведения токсических веществ,
- большой спектр биологической активности благодаря содержанию комплекса незаменимых аминокислот и витаминов, снижающих токсические эффекты, повышающих сопротивляемость организма к неблагоприятным внешним воздействиям (Кучерявый Ю.А., 2012; Морозов С.В., 2011; Шульпекова Ю.О., 2004, 2009).

Таблица 1 – Классификация гепатопротекторов

В зависимости от происхождения	В зависимости от механизма действия
Препараты растительного происхождения	Препараты, воздействующие преимущественно на проявления синдрома цитолиза, уменьшающие жировую инфильтрацию печени
Препараты, содержащие естественные или полусинтетические флавоноиды расторопши	Препараты, воздействующие преимущественно на проявления синдрома холестаза
Препараты, содержащие солодку	Препараты с преимущественно детоксикационным действием
Препараты, содержащие естественные или полусинтетические флавоноиды других растений	Препараты, препятствующие развитию фиброза и рекомендованные к применению на стадии цирроза печени
Препараты животного происхождения	Препараты с предположительной противовирусной активностью (ингибирующие репликацию вируса гепатита)
Препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды	Препараты, стимулирующие регенерацию гепатоцитов и модулирующие иммунную систему
Препараты с преимущественным детоксикационным действием не являются классическими гепатопротекторами, но обладают способностью уменьшать токсемия, связанную с печеночно-клеточной недостаточностью, за счет снижения образования или увеличения утилизации эндогенных токсикантов	Препараты с комбинированным гепато- и нейротропным действием, влияющие на состояние центральной и периферической нервной системы Препараты с комбинированным гепато- и нейротропным действием, влияющие на состояние центральной и периферической нервной системы
Препараты с прямым детоксикационным действием	
Препараты с косвенным детоксикационным действием	
Препараты желчных кислот	
Препараты разных групп	

Механизм действия препаратов растительного происхождения

К препаратам данной группы относятся лекарственные средства, содержащие в составе экстракт флавоноидов расторопши пятнистой с основным компонентом – силимарином.

Расторопша пятнистая использовалась в Древнем Риме для лечения заболеваний печени. Первым об этом упоминает древнеримский писатель, автор «Естественной истории» Плиний Старший (23-79 н.э.) (Pradhan S.C., 2006).

Как официальное лекарственное средство силимарин был разработан в Европе Ф. Майером и О. Эйхлером. 1949 год является отправной точкой для разработок торговых препаратов и появления первого лекарственного средства Легалон (Kuntz E., 1994).

В 1968 году в институте фармацевтики в Мюнхене из млечного сока и плодов расторопши пятнистой был расшифрован состав и определены флавонолигнаны (Винницкая Е.В. с соавт., 2018). Из флавоноидного комплекса были выделены изомерные соединения полигидроксифенолхроманонов, главными из которых являются силимарин, силибинин, силикрестин и силидианин. Все соединения имеют фенилхроманоновую структуру, являясь истинными антиоксидантами, обладающими гепатопротекторной активностью (Машковский М.Д., 2002).

Гепатопротекторное действие флавоноидов обусловлено свойствами силимарина оказывать антиоксидантное, мембраностабилизирующее, стимулирующее репаративный потенциал гепатоцитов (Luper S., 1998; Шульпекова Ю.О., 2004). Они осуществляют защиту биологических мембран от токсинов, повышают обезвреживающие функции гепатоцитов в результате увеличения пула глутатиона и возрастания ферментной активности для окисления ксенобиотиков, связывают свободные радикалы, снижают избыточное перекисное окисление липидов из-за ингибирования фермента липооксигеназы, способствуют уменьшению уровня малонового диальдегида, повышают в печени белково-синтетические функции, ингибируют синтез холестерина, уменьшая активность митохондриальной гидроксилазы – CoA-редуктазы, а также уменьшают активность макрофагальных клеток, принимающих участие в презентации антигенов (Яковенко Э.П., 2003; Gould K.S., 2010).

Ведущее мембраностабилизирующее действие происходит несколькими путями: за счет биохимического взаимодействия силимарина с мембранами гепатоцитов, ингибирования активности цАМФ, в результате чего снижается содержание кальция внутри клеток, угнетения кальций-зависимого процесса

при активации фосфолипазы. Метаболическое действие обусловлено стимуляцией синтеза белка и ускоренной регенерацией гепатоцитов. Силимарин стимулирует РНК-полимеразу 1, активизируя биосинтез функциональных и структурных белков (Линевский Ю.В. и др., 2009; Гарник Т.П., 2002).

Механизм действия препаратов животного происхождения

Препараты животного происхождения как правило, на ветеринарном рынке представлены гидролизатами или экстрактами печени крупного рогатого скота, содержащими аминокислоты, цианокобаламин, низкомолекулярные метаболиты.

Есть предположение, что препараты животного происхождения обладают антиоксидантным, детоксикационным действием и оказывают стимулирующее действие на регенерацию паренхимы печени, что дает возможность применять их при токсических, лекарственных поражениях, хронических гепатитах и циррозе печени. При активной форме гепатита препараты животного происхождения не могут быть показаны, потому что способны увеличить проявление синдромов: мезенхимально-воспалительного, цитолитического и иммунопатологического (McDonnell M.E. et al., 2014).

Механизм действия органопрепаратов можно объяснить комплексом компонентов, входящих в его состав. При этом и действие таких препаратов на клеточную регенерацию печени может быть прямым и опосредованным. Активация синтеза белка препаратами животного происхождения может осуществляться за счет действия входящих в них веществ пептидной или нуклеиновой природы, обладающих соответствующими репарирующими свойствами. В механизме репаративного действия некоторых препаратов определенное значение имеет включение их компонентов в синтезируемые соединения (Ушкалова Е.А., 2004).

Механизм действия препаратов, содержащие эссенциальные фосфолипиды

Фосфолипиды – главный компонент, составляющий 2/3 липидного слоя мембраны любой клетки, гепатоцитов в том числе, и мембран митохондрий.

Они создают цитопротективный эффект и поддерживают текучесть и восстановление целостности мембран.

Помимо структурной функции, эссенциальные фосфолипиды принимают участие в молекулярном транспорте, делении и дифференцировке клеток, катализируют активность многих ферментных систем. Гепатотоксические вещества патогенетически действуют на цитоплазматические и митохондриальные мембраны клеток печени, приводя к нарушению метаболизма внутри клетки и гибели (Минушкин О.Н., Зверков И.В., Островская А.И., 2016).

Эссенциальные фосфолипиды оказывают антиоксидантное действие, защищая от повреждения митохондрии и микросомальные ферменты, снижают синтез коллагена и увеличивают активность коллагеназы, обладают антифибротическим эффектом, значительно замедляют трансформацию клеток Ито, снижают активное действие цитохрома P4502E1, что способствует в печени обратному развитию жировой дистрофии.

В зависимости от природы заместителя, эссенциальные фосфолипиды различаются по связи с фосфорнокислой группой. Фосфатидилхолин является главным представителем фосфолипидов и составляет от 80 до 90 % мембран клеток (Саратиков А.С., Венгеровский А.И. 1999; Gundermann K.J., Gundermann S., Drozdziak M., Mohan Prasad V.G., 2016).

Предполагается антиоксидантный эффект при участии фосфолипидов в реакциях перекисного окисления липидов (Губергриц Н.Б., Лукашевич Г.М., Фоменко П.Г., 2012).

Прием эссенциальных фосфолипидов перорально имеет низкую биодоступность, так как в составе хиломикронов фосфолипиды проникают не в печень, а лимфатическую систему, по которой осуществляется транспортировка к жировой ткани организма, где происходит их накапливание и метаболизация. Парентеральный способ введения распределяет эссенциальные препараты по кровеносному руслу и накапливается в органах и системах, не достигая печени.

Применение ЭФ не дает возможности накопления излишних концентраций липидов в тканях, органах и системах организма благодаря клеточной регуляции энерго- и кислородопотребления.

В ветеринарной практике применяется гепатопротекторный премикс с действующим веществом эссенциального фосфолипида, полученного из лецитина – «Гепавет». Исследование Е.В. Иванасовой (2014), действия гепавета на поросятах, показало, что стабилизируется белковый спектр сыворотки крови, увеличиваются альбумины на 13-15 %, снижаются глобулины до 7-9 %, аминотрансферазы – АсАТ – на 50-52 % и АлАТ – на 54-57 %.

Механизм действия урсодезоксихолевой кислоты

Урсодезоксихолевая кислота (УДХК) – гидрофильное нетоксичное вещество, является третичной желчной кислотой – 7Р-эпимер хенодесоксихолевая кислота. Относится к гепатопротекторам, способствующим снижению содержания холестерина в желчи. Механизм ее действия обусловлен диспергированием желчи с последующим формированием жидко-кристаллической фазы холестерина с образованием желчных солей и уменьшением их реабсорбции и снижением гепатотоксичности.

Урсодезоксихолевая кислота снижает литогенный индекс желчи, увеличивая содержание в ней желчных кислот. Способствует частичному или полному растворению холестериновых желчных камней при пероральном применении. Оказывает холеретическое действие (Kotb M.A., 2012).

При воздействии на фарнезоидные X-рецепторы, ответственные за транспорт желчных кислот, урсодезоксихолевая кислота способствует эффлюксу из гепатоцитов желчных кислот (Okushin K. et al., 2016).

Антиоксидантное действие УДХК проявляется способностью снижать окислительный эндоплазматический стресс, препятствовать высвобождению гидролаз в цитозоль и нарушать структуру клеток, восстанавливает структуры внутриклеточных органелл (Шиповская А.А., 2016).

При восстановлении проницаемости мембран митохондрий урсодезокси-холевая кислота снижает выход цитохрома С, угнетая активность каспаз, прекращая механизм апоптоза внутри печеночных клеток (Okushin K. et al., 2016).

УДХК оказывает иммуномодулирующее действие за счет уменьшения экспрессии HLA I, II классов на поверхности гепатоцитов и холангиоцитов (Ding L. Yang L., Z. Wang et al., 2015).

Антифибротический эффект УДХК наступает при уменьшении содержания активаторов фиброгенеза и непосредственное угнетение функционирования звездчатых клеток (Zun Xiang et al., 2013).

УДХК способна модулировать обмен липидов и углеводов, взаимодействовать с ядерными рецепторами – TGR5 и фарнезоидным X-рецептором-альфа и увеличивать синтез глюкагоноподобного пептида-1 (Mueller M., Thorell A., Claudel T. et al., 2015).

Следует отметить, что в ветеринарной практике препаратов, оказывающих прямой гепатопротекторный эффект, крайне мало.

Учеными Белгородского ГСХА и ЗАО «Петрохим» (г. Белгород) совместно разработан комплексный препарат «Ларикарвит». В состав препарата входит биофлавоноидный комплекс лиственницы, хлорофилл, каротин и витамины А, Дз и Е. При проведении терапии и профилактики происходит увеличение в крови общего белка и альбуминов до 12 %, снижение щелочной фосфатазы на 5 %, АлАТ – на 27 %, АсАТ – на 11% (Носков С.Б., 2010).

При профилактике и терапии патологий печени применяется высокоэффективный инъекционный препарат ликверол, в состав которого входят диметилсульфоксид (ДМСО), дигидрокверцетин (ДГК), янтарная и никотиновая кислоты. Препарат улучшает метаболическое состояние коров и улучшает клиническое состояние животных (Фомин О.А., 2017).

Бетатиосол-L – инъекционный гепатопротекторный препарат, действующими веществами которого являются солянка холмовая, бетаин, аминокислота l-орнитин, гидрохлорид, диметилсульфоксид (ДМСО). На 12-ый день

применения препарата значительно снижается синдром цитолиза гепатоцитов и уменьшается холестаза в печени, действие бетаина нормализует липидный состав (Абрамов А.А., 2020).

Препарат «Кальфосет» рекомендуется использовать при нарушении обменных процессов у высокопродуктивных животных, действующими веществами является кальция глицерофосфат, кальция глюконат и магния хлорид.

Исследованиями М.Г. Зухрабова и соавт. (2012), установило, что комплексное применение препаратов «Кальфосет» + «Мальтивинамин» положительно влияет на кальциево-фосфорный обмен при параллельной активизации углеводного и белкового обменов.

Комплексный инъекционный или таблетированный гомеопатический препарат «Ковертал» содержит чистотел большой, плаун булавовидный, веронику, чертополох, колоцинт и одуванчик лекарственный (Лимаренко А.А., Болцкий И.А., Баранников А.И., 2008; Маркосян А.А., 1995). Применяется при жировой дегенерации, токсических поражениях печени, острых и хронических воспалениях печени (гепатитах). Применяется орально, подкожно или внутримышечно 1-2 р/сут от 10-14 до 21-28 дней при хронических заболеваниях.

Комбинированный гепатопротекторный препарат «Гепатоджект» применяется в составе комплексной терапии или самостоятельно при острых и хронических болезнях печени, нормализуя регенеративные процессы гепатоцитов после действия эндо – и экзотоксинов, инфекционных и соматических заболеваниях и при снижении гепатотоксического действия лекарственных средств.

Действие препарата осуществляется за счет нормализации биохимических процессов. В состав входит L-орнитин – 15 мг, L-цитрулин – 10 мг, L-аргинин – 40 мг, а также вспомогательные вещества: бетаин – 15 мг, сорбитол – 200 мг, лидокаина гидрохлорид – 1 мг, метилпарабен – 0,5 мг, пропилпарабен – 0,2 мг и вода для инъекций. Рекомендуется использовать внутривенно или внутримышечно 1-2 раза в сутки 5-7 дней (Kang J.S., Jeon Y.J. et al., 2002). Для

коров внутримышечное введение препарата сложно осуществимо, потому что разовая доза составляет от 50 до 100 мл при наиболее желательном внутривенном введении.

Такие исследователи, как А.А. Воинова и С.П. Ковалев (2015), рекомендуют для лечения хронического гепатоза комплексное применение гепатопротектора «Гепатоджект» и комплекс витаминов «Габивит-Se». В составе «Габивит-Se» находятся витамины А, Д₃, и группы В, медь, кобальт, цинк, селен, марганец, гидролизат белка лактоальбумина. Комплексное лечение дает положительную динамику у больных высокопродуктивных животных, отмечается снижение уровня общего белка на 6 %, общего билирубина – на 46 %, холестерина – на 41 % и мочевины – на 36 %. Показатели периферической крови имеют тенденцию к возрастанию количества эритроцитов на 10 % и гемоглобина – на 20 %.

На основании проведенного анализа доступной литературы напрашивается вывод, что для профилактики и терапии заболеваний печени необходима разработка комплексного подхода, поскольку механизм развития заболеваний гепатобилиарной системы сложен и неоднозначен (Карпова Е.А., 2014; Стельмах В.В., Козлов В.К., Радченко В.Г. и др., 2012).

Резюмируя все вышесказанное, можно отметить, что проблема гепатозов у высокопродуктивного рогатого скота требует поиска и разработки новых безвредных и эффективных препаратов, обладающих гепатопротекторным действием на клетки печени и способствующих нормализации метаболических процессов в организме животных.

В связи с чем, целью наших исследований явилось изучение токсикометрических характеристик, фармакологических свойств и механизмов действия, а также терапевтической эффективности препарата ливазен при гепатозах у коров.

3 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась в 2014-2021 гг. в ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» на базе отдела фармакологии Краснодарского НИВИ в соответствии с Государственными планами научных исследований с № госрегистрации 114100140033; 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-А19-117021310281-1.

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

Экспериментальные и научно-производственные опыты проведены в соответствии с законодательством Российской Федерации, положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (ETS № 123, Страсбург, 1986), положениями Guide for the Care and Use of Laboratory Animals/ Руководство по уходу и использованию лабораторных животных (National Research Council, 2011) и другими нормами международного права, регламентирующими вопросы содержания и использования лабораторных животных.

Экспериментальная часть диссертационной работы посвящена доклиническим исследованиям инъекционного лекарственного средства ливазен, а также его терапевтической эффективности при гепатозе крупного рогатого скота.

Ливазен – инъекционный препарат, лекарственная форма которого представляет собой 20 % раствор для внутримышечного введения. В препарате в качестве активных веществ содержится: диизопропиламмония дихлорацетат –

200 г, этанол 96 % – 175 мл, глицерин – 625 мл. Производитель: ООО «УНИ-ФАРМ» (г. Славянск-на-Кубани, Краснодарский край).

Экспериментальное изучение безвредности препарата ливазен было проведено на базе вивария отдела фармакологии Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ КНЦЗВ. При этом объем доклинических испытаний определялся следующими нормативными документами: 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); Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005); Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных (Смирнов А.М., Дорожкин В.И., 2008); Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (часть первая), под редакцией А.Н. Мирнова (2012).

В экспериментальных и научно-хозяйственных опытах использовались лабораторные (белые беспородные крысы, морские свинки, кролики) и сельскохозяйственные (коровы молочного направления голштинской породы) животные. При постановке опытов применялись клинические, гравиметрические, токсикологические, фармакологические, морфологические, биохимические, и другие методы исследований (таблица 2).

Клинические исследования проведены в условиях ОАО «Кубань» Новопокровского района, ООО «Агрофирма Кубань» Северского района, ООО Агрофирма «Лада» и учебно-опытного хозяйства «Кубань» Кубанского государственного аграрного университета.

Таблица 2 – Объем проведенных исследований и количество животных, участвующих в экспериментах

Показатели		Количество
Методы исследований	морфологические	648
	биохимические	2373
	гистологические	105
	гравиметрические	358
Животные	<u>Лабораторные:</u>	
	белые крысы	122
	морские свинки	5
	кролики	11
	коровы	98

Программа токсикологических исследований предусматривала проведение экспериментов на лабораторных видах животных для оценки общетоксического (острая и субхроническая токсичность), раздражающего, алергизирующего, эмбриотоксического и тератогенного действия препарата ливазен, а также его влияния на органы и системы организма при длительном и кратковременном введении.

Острую токсичность ливазена изучали на белых нелинейных крысах обоего пола при его однократном внутрижелудочном и парентеральном (внутримышечном) введении в двух повторностях. Группы животных (четыре – две опытные и две контрольные) по 6 особей в каждой, формировались по принципу парных аналогов с учетом массы тела, развития и клинического состояния. Эксперимент предполагал использование максимальных объемов ливазена для крыс, масса тела которых не превышает 190 г: внутрижелудочно – 3,0 мл/ кг массы тела, внутримышечно (в заднебедренную группу мышц) – 5,0 мл/кг массы тела. Контрольным группам животным с учетом способа введения в тех же дозах применялся физиологический раствор.

Субхроническую токсичность ливазена оценивали на 40 белых беспородных белых крысах обоего пола с начальной массой тела 170-177 г с учетом

предварительного определения 3 уровней токсических доз от максимально введенной в остром эксперименте внутримышечной дозе – 5 мл на животное.

Для соблюдения режима и применяемых в клинической практике терапевтических сроков введения, образцы препарата ливазен вводились крысам на протяжении 28-ми суток ежедневно с внешней поверхности бедра инсулиновыми шприцами со сменными иглами.

Эксперимент включал оценку физиологических (общее состояние, аппетит, двигательные и поведенческие реакции), гематологических, биохимических и гистологических показателей подопытных крыс. Кроме того, о токсичности препарата ливазен судили по состоянию интегральных признаков, отражающих уровень общеобменных процессов – массе тела крыс и внутренних органов с последующим расчетом их весовых коэффициентов.

Определение массы тела у животных проводилось дважды – в начале эксперимента и по его окончанию, кровь для морфо-биохимических исследований отбиралась в конце опыта у пяти животных из каждой группы. По завершению крыс выводили из эксперимента с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными для учета патологоанатомических изменений внутренних органов. Внутренние органы (сердце, легкие, печень, селезенка, почки) взвешивали для определения коэффициентов их массы, после чего фрагменты органов подвергались гистологическому исследованию согласно «Морфологическим исследованиям в ветеринарных лабораториях» (2002). Учет и оценку гистологических изменений органов проводили под микроскопом МС 300 (Австрия), увеличение x5, x10.

Изучение функционального состояния пищеварительной и мочевыделительной систем при длительном применении препарата ливазен проводилось на клинически здоровых коровах голштинской породы по физико-химическим свойствам мочи и фекалий. Сбор мочи осуществлялся на 7, 14, и 21 сутки опыта. Критерием оценки служили: цвет, запах, консистенция, удельный вес,

содержание белка, гемоглобина, углеводов, желчных пигментов и концентрация водных ионов, в сравнении с аналогичными показателями мочи контрольных животных. Наличие в моче белков определяли кипячением с 20 %-ной сульфосалициловой кислотой, кровяных и желчных пигментов – бензидиновой пробой Адлера пробой Фуше, углеводов – пробой Гайнеса.

Фекалии собирали дважды – в начале опыта и на 21 день. Органолептически тестировалась консистенция, форма, цвет, запах и наличие посторонних примесей. Физико-химическое исследование каловых масс включало в себя определение pH (с помощью тест-полосок), наличие крови – бензидиновой пробой, желчных пигментов – пробой Терквея, билирубина – пробой Фуше, наличие жира и крахмала – микроскопически при помощи судана III и раствора Люголя (Смирнов А.М., Конопелько П.Я., Пушкарев Р.П. и др., 1988).

Раздражающее действие препарата ливазен изучалось на кроликах конъюнктивальной пробой и морских свинках – методом накожных аппликаций. Аллергизирующее действие – на морских свинках методом эпикутанной сенсибилизации (Миронов А.Н., 2012).

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

О качестве мяса кроликов после введения ливазена судили по результатам ветеринарно-санитарной экспертизы. При этом оценивались органолептические и вкусовые качества мяса и бульона, а также биохимические показатели, включающие определение pH (с помощью pH метра), содержание аммиака (с реактивом Несслера), реакции на пероксидазу и формольной реакции. О наличии продуктов распада белка судили по реакции с сернокислой медью в мясном бульоне (Сенченко Б.С., 2001).

Изучение активности ливазена, обладающего прогнозируемыми гепато-защитными свойствами, проводилось в двух сериях на экспериментальных моделях поражения печени у лабораторных крыс – острым токсическом гепатите,

вызванном тетрахлорметаном и гиперлипидемии, вызванной введением детергента Твин-80. Острое токсическое повреждение печени у беспородных крыс вызывали однократным внутрибрюшинным введением 50 %-ного масляного раствора тетрахлорметана (CCl₄) в дозе 0,4 мл/кг массы животных. Гиперлипидемию у крыс моделировали внутрибрюшинным введением Твин-80 в дозе 200 мг/100 г массы тела в 1 мл воды для инъекций.

В первой серии крысам опытных групп за 1 час до введения четыреххлористого углерода внутрибрюшинно вводился раствор ливазена в дозе 0,5 мл на животное, и далее 1 раз в сутки внутримышечно в течение 3-х недель (21 день) в той же дозе. Во второй серии при моделировании гиперлипидемии опытным группам крыс на протяжении 6 дней внутримышечно вводился ливазен в дозах 0,25 и 05 мл/животное. На 6 день через 1,5 часа после введения препарата внутрибрюшинно был введен детергент. Крысы контрольных групп внутримышечно получали эквивалентное количество физраствора.

Гепатозащитную эффективность препарата ливазен оценивали по клиническому статусу подопытных животных, гравиметрическим показателям, степени нормализации биохимического и метаболического гомеостаза, показателям антиоксидантной системы организма и снижению эндотоксикоза, а также патоморфологическим и гистологическим изменениям органов и тканей печени крыс.

Уровень эндогенной интоксикации определяли по молекулам средней массы (МСМ) по методу Н.И. Габриэлян и В.И. Липатовой (1984).

Оценку гематологических показателей крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе для *in vitro* диагностики фирмы «ОРПННН» – Mythic 18 (страна-производитель Швейцария). Биохимические показатели крови определялись на автоматическом анализаторе 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 белковых фракций определялся нефелометрически, каротин – по Бессею, в модификации Анисовой.

Исследования по изучению терапевтических свойств препарата проведены в условиях ОАО «Кубань» Новопокровского района на коровах голштинской породы в возрасте 3-5 лет в период сухостоя с признаками жирового гепатоза. Комплексом клинических и инструментальных методов исследований (перкуссия, аускультация, лабораторные исследования, ультразвукография) у животных были установлены серьезные поражения печени, сопровождающиеся чрезвычайно широким спектром обменных нарушений.

Для проведения эксперимента по принципу парных аналогов было сформировано две группы по 15 коров в каждой (контрольная и опытная). Первой группе препарат ливазен вводился внутримышечно в соотношении 1:5 (4 мл препарата и 20 мл стерильного физиологического раствора) – в заднебедренные группы мышц ежедневно в течение 21-го дня. Контрольной группе в том же объеме инъецировали 24 мл стерильного физиологического раствора.

Эффективность терапии определялась по результатам клинического контроля, биохимических исследований крови, оценке уровня эндогенной интоксикации и УЗИ-обследованию печени опытных и контрольных коров с помощью ветеринарного ультразвукового сканера PS-380V (Россия) при длине датчика 5,0 мГц.

Изучение действия ливазена в комплексной системе мероприятий по профилактике гепатозов у стельных и новотельных коров проведено в условиях учебно-опытного хозяйства «Кубань» Кубанского государственного аграрного университета имени И.Т. Трубилина на двух группах коров голштинской породы в возрасте 2-3 лет (1-2 лактации). Экспериментальная часть исследований строилась таким образом, чтобы можно было оценить профилактическую эффективность препарата ливазен не только как самостоятельного лекарственного средства, обладающего органоспецифической активностью,

но и в комплексной системе профилактики гепатозов у высокопродуктивного молочного скота.

Исследования проведены в двух сериях на коровах различного физиологического состояния: животные второго триместра беременности (5-6 месяцы стельности); новотельные животные (1-2 недели после отела).

Каждая серия эксперимента предусматривала определенную схему профилактических мероприятий. Длительность экспериментального периода составила 14 дней, в течение которого оценивалось физиологическое состояние коров, показатели клинического и метаболического статуса, результаты УЗИ-диагностики. Биохимические исследования сыворотки крови проводились по окончании опытного периода по основным обменным показателям и гепатоиндикаторным ферментам. Кроме того, в качестве прогностического критерия эффективности разработанной системы проводилось определение количественных показателей содержания веществ средней молекулярной массы (ВСММ) в крови подопытных коров как маркера развития эндогенной интоксикации организма животного.

Экономическая эффективность рассчитывалась по «Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» (2000) и рекомендаций И.Н. Никитина по ее применению (2007, 2012).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программного обеспечения фирмы Mikrosoft®, фирмы Carl Zeiss®. Критерий достоверности определялся по таблице Стьюдента, при этом рассчитывался средний показатель (M); для обработки данных исследования использовались методы описательной статистики с последующим проведением множественного парного сравнения с помощью критерия Ньюмена-Кейлса при 5 % уровне значимости различий ($p < 0,05$).

4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Состав и физико-химические свойства ливазена

Ливазен – препарат, представляющий собой прозрачный раствор, без запаха, слегка маслянистой консистенции, вязкий, сладковато-горьковатого вкуса. Хранится в стеклянных флаконах, плотно закрытых резиновой пробкой с алюминиевыми колпачками без доступа воздуха, объёмом по 5, 10, 50 и 100 мл в сухом, защищенном от прямых солнечных лучей месте, отдельно от пищевых продуктов и кормов, при температуре от 0°С до 25°С.

Лекарственная форма – 20 % раствор для внутримышечного введения. В препарате в качестве активных веществ содержится: диизопропиламмония дихлорацетат – 200 г, этанол 96 % – 175 мл, глицерин – 625 мл. Производитель: ООО «УНИФАРМ» (г. Славянск-на-Кубани, Краснодарский край).

рН раствора составляет 5,5.

Диизопропиламмония дихлорацетат (Дипромоний (Dipromonium) – белый кристаллический порошок горького вкуса, легко растворимый в воде и спирте.

По химической природе и биологической активности имеет элементы сходства с пангамовой кислотой.

Относительная молекулярная масса – 230,13 у.е.

Содержит не менее 99,5 % масс. $C_8H_{17}Cl_2NO_2$ в пересчете на сухое (безводное) вещество.

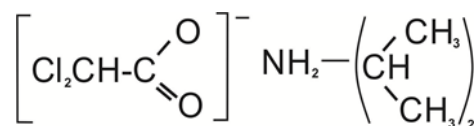


Рис. 1 – Структурная формула диизопропиламмония дихлорацетата

Эмпирическая формула – $C_8H_{17}Cl_2NO_2$

Механизм действия диизопропиламмония дихлорацетата обусловлен его антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием. Он ингибирует процессы перекисного окисления липидов, повышает активность супероксидоксидазы, повышает соотношение липид-белок, уменьшает вязкость мембраны, увеличивает ее текучесть. Модулирует активность мембрано-связанных ферментов, рецепторных комплексов, что усиливает их способность связывания, способствует сохранению структурно-функциональной организации биомембран.

Диизопропиламмония дихлорацетат оказывает липотропное действие, благоприятно влияет на антитоксическую и пигментную функцию печени, повышает устойчивость к гипоксии и различного рода интоксикациям, обладает антигипоксическим действием, повышая содержание O_2 в тканях и клетках организма и стимулируя окислительные процессы, обладает слабой гипотензивной и ганглиоблокирующей активностью (Семененко М.П., Кузьминова Е.В., Зотова Т.А., Тяпкина Е.В., Лысенко А.А., 2017).

Одной из технологических стадий производимого ранее в промышленном масштабе препарата дипромоний был гидролиз этилового эфира дихлоруксусной кислоты. Побочные продукты гидролитического расщепления эфира дихлорацетата загрязняли целевой продукт, поэтому требовалась его перекристаллизация. Технология получаемого в ООО «Поливит» (г. Уфа) диизопропиламмония дихлорацетата исключает стадию гидролиза. Продукт получил название дипромоний-М (Шах-Меликьян Т.А., 2012).

Этанол (этиловый спирт, метилкарбинол, винный спирт или алкоголь, часто в просторечии просто «спирт») – одноатомный спирт с формулой C_2H_5OH (эмпирическая формула C_2H_6O), другой вариант: CH_3-CH_2-OH , второй представитель гомологического ряда одноатомных спиртов, при стандартных условиях летучая, горючая, бесцветная прозрачная жидкость с характерным запахом и жгучим вкусом. Этиловый спирт легче воды. Является хорошим растворителем других органических веществ (таблица 3).

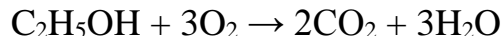
Таблица 3 – Физические свойства этанола

Молекулярная масса	46,069 а. е. м.
Температура плавления	-114,15 С
Температура кипения	78,39 С
Критическая точка	241 С (при давлении 6,3 МПа)
Растворимость	Смешивается с бензолом, водой, глицерином, диэтиловым эфиром, ацетоном, метанолом, уксусной кислотой, хлороформом
Показатель преломления	1,3611 (температурный коэффициент показателя преломления $4,0 \cdot 10^{-4}$, справедлив в интервале температур 10-30°C)

Смесь 95,57 % этанола + 4,43 % воды является азеотропной, т. е. не разделяется при перегонке.

Типичный представитель одноатомных спиртов.

Горюч. Легко воспламеняется. При достаточном доступе воздуха горит (за счёт его кислорода) светлым голубоватым пламенем, образуя терминальные продукты окисления – диоксид углерода и воду:



По своему действию этиловый спирт можно отнести к антисептикам; в медицине используется как обеззараживающее и подсушивающее средство, наружно, как растворитель для лекарственных средств, для приготовления настоек, экстрактов из растительного сырья и др.

Подсушивающие и дубящие свойства 96 %-го этилового спирта используются для обработки операционного поля или в некоторых методиках обработки рук хирурга. Может служить как консервант настоек и экстрактов (минимальная концентрация 18 %). Применяется для фиксирования и консервирования биологических препаратов.

Этанол является противоядием при отравлении некоторыми токсичными спиртами, такими, как метанол и этиленгликоль. (<https://ru.wikipedia.org/wiki/Этанол#>).

Глицерин – (глицерол, пропантриол-1,2,3) – простейший представитель трёхатомных спиртов с формулой $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$.

Представляет собой густую прозрачную бесцветную, вязкую, очень гигроскопичную жидкость, добываемую путём химической обработки жиров. Смешивается с водой в любых пропорциях, употребляется для медицинских и технических целей. Сладкий на вкус, отчего и получил своё название (др. греч. γλυκός – сладкий). В соединении с пропиленгликолем становится менее текучим при понижении температуры до близкой к нулю градусам Цельсия.

Химические свойства глицерина типичны для многоатомных спиртов.

Глицерин относится к группе стабилизаторов, обладающих свойствами сохранять и увеличивать степень вязкости и консистенции пищевых продуктов.

Глицерин понижает раздражающее действие многих лекарств, не поглощается кожей, но хорошо всасывается слизистыми. Широкое применение глицерина в медицине и косметологии возможно благодаря его способности растворять неорганические щелочи и соли, ди-моносахариды. К тому же средство растворяется в спирте, а жиры, эфир, хлороформ на него не действуют (<http://www.neboleem.net/glitcerin.php>).

Он незаменим в производстве множества фармацевтических препаратов. Например, благодаря его свойствам, возможно повысить вязкость какого-либо лекарственного средства или наоборот растворить лекарство. Также на основе глицерина изготавливаются ректальные суппозитории, которые применяются при запорах различного характера, помогая освобождению кишечника.

Из-за вязкой консистенции применение глицерина в медицине охватывает и такую область как изготовление микстур, настоек, полосканий, действие которых направлено на обволакивание больного горла, его увлажнение и смягчение, для снятия приступов кашля.

Глицерин из-за его антисептических свойств используют в медицине для предотвращения заражения ран на коже инфекцией. Способный растворять хлорид ртути, йод, бром, алкалоиды, фенол, танин глицерин в отличие от

воды позволяет получать высококонцентрированные растворы этих соединений (<http://morehealthy.ru/material/primenenie-glitsierina-v-meditsine-1783.html>).

Использование вспомогательных компонентов препарата спирта и глицерина обусловлено тем, что растворителем действующего вещества диизопропиламмония дихлорацетат является, в том числе, этанол, однако после растворения в нем дипромоний достаточно быстро выпадает в осадок. Поэтому, для достижения стабильной инъекционной формы препарата после растворения порошка дипромония, производитель дополнительно ввел в состав глицерин, являющийся хорошим стабилизатором, препятствующим образованию осадка и расслоению раствора. Подобное сочетание компонентов позволило получить стабильную форму препарата ливазен для инъекционного применения в ветеринарии (рис. 2).

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТА
ЛИВАЗЕН (РАСТВОР ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ)**

ТП 1 Подготовка производства и оборудования

ТП 2 Получение СиМ со складов хранения на производство

ТП 3 Взвешивание сырья

ТП 4 Приготовление раствора ЛС

ТП 5 Вакуумная фильтрация раствора ЛС

ТП 6 Фасовка ЛС по флаконам

ТП 7 Эtiquетировка и упаковка в транспортную тару

ТП 8 Выходной контроль качества готовой продукции

ТП 9 Складирование, хранение, отправка заказчику

Рис. 2 – Технология изготовления ливазена

4.2 Определение стабильности и сроков годности ливазена

Определение стабильности лекарственного средства методом «ускоренного старения» – испытания, проводимые при повышенной температуре с целью установления или подтверждения срока его годности. Основа определения сроков годности – изучение стабильности лекарственного средства с использованием химических и физико-химических методов анализа, указанных в общих фармакопейных статьях, а также, других специальных методов.

Для проверки стабильности препарата использовался метод «ускоренного старения». Перед началом испытания был проведен анализ ливазена по всем показателям, предусмотренным проектом нормативной документации, представленной разработчиками. Местом проведения исследований явилась научно-производственная лаборатория ООО «УНИФАРМ». При исследовании стабильности лекарственного препарата одновременно оценивалась совместимость действующего и вспомогательного веществ.

При проведении испытаний руководствовались ГОСТ Р 57129-2016 (Лекарственные средства для медицинского применения. Часть 1. Изучение стабильности новых фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, от 01.05.2017 г.) и ОФС.1.1.0009.15 (Сроки годности лекарственных средств). ОФС.1.1.0009.15 основана на изучении сроков годности лекарственных средств методом «ускоренного старения» с использованием измененного температурного режима. При повышенных температурах ускоряются протекающие физико-химические процессы, приводящие со временем к нежелательным изменениям качества. Таким образом, при повышенной температуре промежуток времени, в течение которого контролируемые показатели качества лекарственного средства сохраняются в допустимых пределах (экспериментальный срок годности) составляет 2 года.

По результатам, полученным в процессе «ускоренного старения» лекарственного средства, была установлена температура хранения, обеспечивающая заданный срок годности в 2 года.

Срок годности (C) при температуре хранения (t_{xp}) связан с экспериментальным сроком годности ($C_э$) при повышенной температуре экспериментального хранения ($t_э$) следующей зависимостью:

$$C = K \cdot C_э,$$

где коэффициент соответствия:

$$K = A^{\frac{t_э - t_{xp}}{10}}.$$

Температурный коэффициент скорости химической реакции (A) принят равным 2,5. Приведенная зависимость основана на правиле Вант-Гоффа о 2-4-кратном росте скоростей химических реакций при увеличении температуры на 10°C . В отдельных случаях возможно использование экспериментально определенных уточненных значений коэффициента A , а также прогнозирования сроков годности на основании более строгих зависимостей, например, уравнения Аррениуса.

В таблице 4 приведены значения коэффициентов соответствия K для различных значений разности температур экспериментального и обычного хранения при $A = 2,5$.

Таблица 4 – Значения коэффициентов соответствия (K) в зависимости от температурного интервала

№	$(t_э - t_{xp}), ^\circ\text{C}$	K
1	10	2,5
2	15	4,0
3	20	6,3
4	25	9,9
5	30	15,6
6	35	24,7

Примечание. Условные обозначения: K - коэффициент соответствия; $t_э$ - температура экспериментального хранения; t_{xp} - температура обычного хранения.

Сроки экспериментального хранения при различных температурах представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Сроки экспериментального хранения в зависимости от температурного интервала

№	Срок годности	$(t_3 - t_{xp}), ^\circ\text{C}$	Сроки экспериментального хранения, сутки
1	2 года	10	292
		15	182
		20	116
		25	74
		30	47
		35	30

Для вычисления срока годности экспериментальный срок годности, выраженный в сутках (или часах), умножается на коэффициент соответствия K (см. табл. 4).

Если промежуток времени C_0 между датой производства/изготовления лекарственного средства и началом его экспериментального хранения превышает 30 сут (но не более 90 сут), и оно в это время хранилось в обычных условиях, расчет срока годности C проводят по уравнению:

$$C = K \cdot C_3 + C_0.$$

При необходимости температуру t_{xp} , позволяющую обеспечить заданный срок годности C , рассчитывают по формуле:

$$t_{xp} = t_3 + \frac{10}{\lg A} \cdot \lg \frac{C_3}{C}$$

Из результатов таблицы 6 видно, что лекарственный препарат ливазен выдерживает срок хранения при температуре 45°C 182 суток в стеклянных флаконах по 100 мл, что эквивалентно сроку хранения, составляющему 2 года.

Таблица 6 – Данные анализа физико-химических и фармакологических показателей препарата ливазен, расфасованного в стеклянные флаконы по 100 мл (метод «ускоренного старения»)

Номер серии	Срок годности		Описание	Испытание на подлинность	Испытание на чистоту	Количественное определение, мг	Посторонние примеси	Микробиологическая чистота
	Эксперимент при 45°С, сут.	Эквив. при 20°С, год						
			Жидкость прозрачного цвета	Качественные реакции 1. Реакции на ион аммоний 2. Качественная реакция на ион хлорида 3. ВЭЖХ	Нелетучий остаток не более 0,05%	От 190 до 215мг	Неидентифицированная примесь – не более 1,0 %; сумма примесей – не более 5,0%.	ГФ XII, ч.1, с.160. Категория 1
1	2	3	4	5	6	7	8	9
001	0	0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,6	соответствует	соответствует
001	46	0,5	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,6	соответствует	соответствует
001	91	1,0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,6	соответствует	соответствует
001	137	1,5	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,5	соответствует	соответствует
001	182	2,0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,5	соответствует	соответствует
002	0	0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,4	соответствует	соответствует
002	46	0,5	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,4	соответствует	соответствует
002	91	1,0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,4	соответствует	соответствует
002	137	1,5	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,4	соответствует	соответствует
002	182	2,0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,2	соответствует	соответствует
003	0	0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,6	соответствует	соответствует
003	46	0,5	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,6	соответствует	соответствует
003	91	1,0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,2	соответствует	соответствует
003	137	1,5	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,2	соответствует	соответствует
003	182	2,0	соответствует	подтвержд.	подтвержд.	199,2	соответствует	соответствует

4.3 Токсикологическая оценка препарата ливазен

4.3.1 Острая токсичность

Целью всех доклинических токсикологических исследований любого вещества является определение характера и выраженности его повреждающего воздействия на организм опытных животных и оценка его безопасности. При этом острый токсикологический эксперимент используется для моделирования острой токсичности вещества, проявляющейся после его однократного или повторного введения через короткие (не более 6 часов) интервалы в течение суток, определения среднесмертельной дозы, а также для установления выраженности токсического действия и переносимости изучаемого вещества.

В связи с чем, острая токсичность ливазена была изучена на белых нелинейных крысах обоего пола при его однократном внутрижелудочном и парентеральном (внутримышечном) введении в двух повторностях. Группы животных (четыре – две опытные и две контрольные) по 6 особей в каждой, формировались по принципу парных аналогов, с учетом массы тела, которая, в среднем составила 150-170 г, развития и клинического состояния.

Одновременно на этих животных изучались возможные симптомы острого экспериментального отравления ливазеном.

Сравнение параметров токсичности ливазена при разных путях введения осуществлялось с целью получения ориентировочных данных о скорости и степени всасывания препарата, а последующее сопоставление прямых, отражающих зависимость величины возможного токсического эффекта от дозы, позволило судить о сходстве или различии в механизмах действия исследуемого препарата.

В первой повторности опытной группе крыс однократно натошак в желудок ливазен вводился в максимально допустимом для крыс, имеющих массу тела до 190 г, объеме – 3,0 мл/кг массы тела. При внутримышечном введении препарат инъецировался в заднебедренные мышцы подопытных крыс в мак-

симальном объеме – 5,0 мл/кг массы тела (Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией профессора Р.У. Хабриева, 2005).

Контрольным группам животным с учетом способа введения в тех же дозах применялся физиологический раствор. Для уменьшения нежелательных последствий от большого объема введения жидкости в мышечную ткань, дозы вводимых препаратов делились пополам и вводились крысам в обе стороны тела в заднебедренные мышцы.

Предварительно, за пять дней до начала эксперимента, каждая группа подопытных крыс была помещена в отдельные стандартные клетки для адаптации. При этом содержание экспериментальных животных соответствовало действующим Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), с обеспечением полноценного фиксированного двухразового кормления, включающего в себя диету, состоящую из зерновой смеси (ячмень, пшеница, кукуруза, подсолнечник), белого и ржаного хлеба, овощей (морковь, капуста, яблоки) и неограниченного доступа к воде. Температура воздуха в виварии поддерживалась в пределах 20-25°C, относительная влажность – 45-60 %.

Кормление животных было прекращено за 12 часов до введения препарата, поение – за 4 часа до начала эксперимента. Схема опытов представлена в таблице 7.

Таблица 7 – Схема опыта по определению острой токсичности препарата ливазен на белых беспородных крысах (n=6)

Группа	Метод введения	Доза и объем введения
1 (опытная)	Внутрижелудочно с помощью шприца с затупленной иглой	3,0 мл ливазена на животное
2 (контроль)	Внутрижелудочно с помощью шприца с затупленной иглой	физраствор в тех же дозах
3 (опытная)	Внутримышечно	5,0 мл ливазена на животное
4 (контроль)	Внутримышечно	физраствор в тех же дозах

Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности ливазена составила 14 дней, причем в первый день после введения препарата крысы находились под непрерывным контролем, а затем наблюдение осуществлялось дважды в день (утром и вечером).

При этом фиксировалось: общее состояние животных, особенности их поведения, потребление корма и воды, интенсивность и характер двигательной активности, наличие/отсутствие судорог, координация движений, тонус скелетных мышц, реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, частота и глубина дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние волосяного и кожного покрова, окраска слизистых оболочек, размер зрачка, положение хвоста, количество и консистенция фекальных масс, частота мочеиспускания и окраска мочи, а также возможная гибель животных и клиническая картина токсикоза.

Результаты экспериментов представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты оценки острой токсичности ливазена для лабораторных крыс (n=6)

Группы	Доза на животное, мл	Количество животных, гол.	Из них пало, гол	Клиника интоксикации
Внутрижелудочное введение				
Опыт	3,0	6	–	Реакция на введение
Контроль	3,0	6	–	Реакция на введение
Внутримышечное введение				
Опыт	5,0	6	–	Реакция на введение
Контроль	5,0	6	–	Реакция на введение

Установлено, что за весь период наблюдения (14 дней) гибели животных ни в одной из серий эксперимента зарегистрировано не было, половых различий в токсических эффектах и различий в поведении и состоянии подопытных и контрольных крыс не установлено. Болевых ощущений при пальпации в области внутримышечного введения препарата у животных как опытной, так и контрольной групп отмечено не было.

При клиническом осмотре крыс после введения препарата выявлено следующее: положение подопытных животных – стоячее, на четырех лапах, с медленными активными движениями (повороты туловища и небольшие передвижения по клетке), при внутрижелудочном введении – редкие глотательные движения в течение 10-15 минут. Реакция на болевые и тактильные раздражители – голосовая и избегательная. При фиксировании рукой за кожу в области спины – крысы изворачиваются с попыткой убежать.

После внутримышечного введения аппетит у подопытных крыс появился спустя 1,0-1,5 часа. При внутрижелудочном введении препарата крысы стали подходить к кормушкам с пищей через 5-6 часов. При этом после кормления появились частые «моющие» движения лапками. К поилкам животные начали подходить спустя 40 минут после введения препарата.

По шкале изменения активности крыс в токсикологическом эксперименте подопытные животные в первые сутки после введения соответствовали значению «субнормальное» (4/++++/). В последующие дни опытного периода статус их поведения изменился до уровня «нормальное» (5/++++/).

По всем изучаемым показателям – общему состоянию, внешнему виду, поведенческим реакциям, степени возбудимости, уровню двигательной активности, шерстному покрову, состоянию слизистых оболочек и величине зрачка, отношению к воде и пище, подвижности, ритму и частоте дыхания подопытные белые крысы не имели отличий от контрольных аналогов за весь период наблюдений.

При изучении острой токсичности препарата ливазен при его однократном внутрижелудочном введении в дозе 3,0 мл на животном и внутримышечном введении в дозе 5,0 мл на животное, определение среднесмертельной дозы (LD₅₀) не представлялось возможным из-за отсутствия гибели лабораторных крыс в условиях достижения максимально возможных объемов введения препарата. А поскольку по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» классификация веществ, воздействующих на организм при введении в желудок, по степени

токсичности приводится в мг/кг (г/кг), был проведен перерасчет образца препарата из мл в граммы с учетом входящих в его состав компонентов.

Пересчет ливазена из мл/кг в мг/кг проводился с учетом плотности глицерина и спирта, для которых она составила: глицерин – 1,26 г; спирт – 0,8 г.

Масса вещества по спирту равна: $1 \text{ г} = 0,8 \times 0,001 = 80 \text{ мг}$. По глицерину соответственно – $1 \text{ г} = 1,26 \times 0,001 = 126 \text{ мг}$.

В процентном соотношении состав ливазена в перерасчете на 1 г представлен следующими частями:

Диизопропиламмония дихлорацетата (дипромония) – 2 части или 200 мг.

Спирта этилового – 1,75 части или $80 \text{ мг} \times 1,75 = 140 \text{ мг}$.

Глицерина – 6,25 частей или $126 \text{ мг} \times 6,25 = 787,5 \text{ мг}$.

Таким образом, в 1 мл ливазена содержится $200+140+786,5 = 1126,5 \text{ мг}$ (1,126 г) препарата в пересчете на твердое вещество.

При пересчете дозы (3 мл на животное) на кг/массы тела установлено, что ее величина в среднем, составила $\approx 20,3 \text{ г/кг}$ или 3,34 г/на крысу.

При пересчете дозы в 5 мл на животное доза ливазена соответственно составила 5,6 г на крысу или 33,8 г/кг.

Таким образом, данные токсикометрии, а также наблюдения за лабораторными животными на протяжении 14 суток в постинтоксикационном периоде острого отравления, позволяют отнести ливазен к 4-му классу малотоксичных лекарственных веществ, для которых диапазон доз LD_{50} при внутрижелудочном и внутримышечном введении в опытах на крысах составил более 5000 мг/кг.

Следует учитывать, что применение дипромония в медицинской практике составляет следующие DDD разовые суточные дозы – внутрижелудочно – 0,02 г (20 мг) – 3-5 раз в день, инъекционно – 0,05-0,01 г (50-100 мг) на человека (DDD – Defined Daily Dose – Установленная Ежедневная Доза – условная средняя поддерживающая ежедневная доза для лекарства при его применении

по основному показанию у взрослого человека). DDD используется по основному показанию в соответствии с классификацией АТС и соотносится для взрослого человека весом 70 кг. То есть разовая суточная доза для дипромония составляет приблизительно 1,43 мг/кг веса.

В нашем случае, 20 %-ный раствор ливазена содержит 20 мг дипромония, значит, в 3,0 мл препарата, введенного крысам внутримышечно, содержится 60 мг действующего вещества, в 5,0 мл соответственно – 100 мг действующего вещества. Следовательно, концентрация дипромония в организме крыс в момент введения \approx в 42 и 70 раз превышала DDD – Установленную Ежедневную Дозу для человека, что еще раз подтвердило его безвредность для теплокровных животных (Зотова Т.А., Семененко М.П., 2015).

4.3.2 Субхроническая токсичность

Целью токсикологических экспериментов при длительном введении изучаемого фармакологического вещества является выявление выраженности его токсического действия, избирательного влияния на функциональное состояние отдельных органов (органы-мишени), тканей и систем организма подопытных животных, а также его возможная способность к последующей кумуляции (накоплению в организме).

Эксперименты по определению субхронической токсичности проводились на белых беспородных белых крысах обоего пола с начальной массой тела 170-177 г.

Для опыта было сформировано 4 группы животных по 10 в каждой. Поскольку путь введения лекарственного средства должен соответствовать его клиническому применению и обеспечивать точность дозирования, лабораторным животным ливазен вводился внутримышечно, с учетом предварительного определения 3 уровней токсических доз от максимальной введенной в остром эксперименте внутримышечной дозе – 5 мл на животное (т.к. среднесмертельная доза (LD₅₀) для ливазена установлена не была.

Первой группе животных препарат вводился в дозе 1/10 от максимально введенной в остром опыте – 0,5 мл на животное (максимальная тестируемая доза). Второй группе крыс – в дозе 1/20 от максимально введенной – 0,25 мл на животное (средняя тестируемая доза). Третьей группе крыс – соответственно 1/50 от максимально введенной или 0,01 мл на животное (минимальная тестируемая доза).

Четвертой группе крыс внутримышечно в дозе 0,5 мл на животное вводился раствор для инъекций (группа биологического контроля).

Для соблюдения режима и применяемых в клинической практике терапевтических сроков введения, образцы препарата ливазен вводились крысам на протяжении 28-ми суток ежедневно с внешней поверхности бедра инсулиновыми шприцами со сменными иглами.

Программа субхронического эксперимента включала физиологические (общее состояние, аппетит, двигательные и поведенческие реакции), гематологические, биохимические и гистологические показатели подопытных крыс. Кроме того, о токсичности препарата ливазен судили по состоянию интегральных показателей, отражающих уровень общеобменных процессов – массе тела крыс и внутренних органов с последующим расчетом их весовых коэффициентов.

При оценке изменений, наблюдаемых у животных в субхроническом токсикологическом эксперименте, исключалась возможность влияния всех побочных факторов, не связанных с приемом препарата (заболевание животных, их питание, содержание и т. п.).

Оценка препарата ливазен при его длительном применении лабораторным животным проводилась по клиническому состоянию животных, дыханию (изменение скорости и глубины), сердцебиению, спонтанной двигательной активности (снижение или увеличение, сонливость, каталепсия, атаксия), реактивности (равнодушие, возбудимость, агрессивность), рефлексам (снижение сохранения нормального положения при перемещении на спину), состоянию

шерстного покрова и слизистых оболочек (сухость, бледность, цианоз), мышечному тону (гипотонус, гипертонус), а также по возможному числу павших животных и срокам их гибели.

Определение массы тела у животных проводилось дважды. Кровь для морфо-биохимических исследований отбиралась в конце опыта у пяти животных из каждой группы.

Для оценки токсического эффекта ливазена осуществлялось регулярное клиническое наблюдение за животными, в результате чего было установлено, что препарат в испытанных дозах не оказал выраженного токсического действия на организм.

На всем протяжении эксперимента существенных отклонений от нормы в поведении, общем состоянии и аппетите лабораторных крыс не регистрировали. Животные были подвижны, реакции и рефлексы сохранены. Тактильная и болевая чувствительность не нарушались, изменения мышечного тонуса (ослабление или повышение) не наблюдалось. При исследовании шерстного покрова выпадения и загрязнения шерсти, алопеций, изменения цвета и структуры не установлено. Изменений функций пищеварения и мочеотделения отмечено не было.

Ежедневное внутримышечное введение препарата вызывало кратковременное беспокойство у животных всех групп, связанное с болевой реакцией на инъекцию. И в первые три часа после введения у крыс отмечалась некоторая заторможенность и снижение потребления корма.

Анализ динамики массы тела крыс выявил определенные различия в интенсивности роста животных, участвующих в эксперименте (таблица 9).

Прирост массы тела животных во всех опытных группах к концу исследований оказался на 8,9-7,4 % ниже, чем в группе контрольных аналогов.

При этом установлена четкая зависимость, определяемая как «доза-эффект». То есть введение подопытным крысам больших доз (1/10 и 1/20 от мак-

симально введенной) в течение длительного времени выявило наименьшее возрастание массы тела по сравнению с животными биологического контроля. Тогда как со снижением дозы (1/50 от максимально введенной) показатель прироста несколько увеличился относительно животных контрольной группы.

Таблица 9 – Динамика массы тела белых крыс при определении субхронической токсичности образца препарата ливазен ($M \pm m$; $n=10$)

Группы	Масса тела в начале опыта, г	Масса тела в конце опыта, г	Прирост	
			граммы	% к контролю
1 опытная	171,8±2,52	196,4±3,44	24,6	91,1
2 опытная	176,7±4,06	201,3±2,03	24,6	91,1
3 опытная	172,5±7,5	197,5±6,5*	25,0	92,6
4 контроль	171,0±2,0	198,0±4,0	27,0	100

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$ в сравнении с группой контроля

Подобное уменьшение среднесуточного прироста в опытных группах возможно, связано с тем, что увеличение концентрации препарата активизирует внутренние восстановительные процессы в организме с дополнительной затратой энергии на усиление процессов биологического синтеза, протекающих в гепатоцитах. При этом белковая часть кормового рациона, расщепляемая в печени, расходуется не на синтез мышечной массы крыс (анаболическое действие), а на другие соединения – ферменты, гликопротеиды, гормоны и т.д., либо депонируется в печени в виде аминокислотного пула.

При гематологических исследованиях крови значимых изменений по эритроцитам и гемоглобину у крыс всех групп, участвующих в эксперименте, установлено не было (таблица 10). По лейкоцитам установлено незначительное снижение показателя относительно нижних значений нормы во второй опытной группе (на 6,25 %). В лейкоцитарной формуле подопытных крыс сдвиги клеточного состава по группам, включая контрольную, носили следующий характер:

Эозинофилы – увеличение в первой опытной группе (на 22,0 %) и незначительно – в группе контроля (на 10,0 %).

Таблица 10 – Гематологические исследования крови белых крыс в субхроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	Опыт 1/10	Опыт 1/20	Опыт 1/50	Контроль
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	11,0±0,92	7,5±0,17*	8,37±0,29	11,65±0,5
Эозинофилы, $10^9/\text{л}$	0,90±0,07	0,3±0,06*	0,47±0,02	0,7±0,01
Нейтрофилы, $10^9/\text{л}$	2,6±0,27	1,5±0,26	1,67±0,3	2,7±0,1
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	7,43±0,23	5,7±0,29*	7,07±0,34	7,75±0,25
Моноциты, $10^9/\text{л}$	0,3±0,02	0,4±0,04	0,1±0,06	0,3±0,01
Эозинофилы, %	6,1±0,18	4,0±0,26	5,0±0,51	5,5±0,43
Палочкоядерные нейтрофилы, %	4,0±0,13	2,3±0,25	2,8±0,37	3,4±0,31
Сегментоядерные нейтрофилы, %	18,9±0,67	17,5±0,18	19,6±0,28	16,5±0,52
Лимфоциты, %	68,6±2,26	74,9±3,51	69,0±1,16	74,3±3,5
Моноциты, %	2,4±0,02	1,3±0,07	3,6±0,14	0,3±0,01
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	7,33±0,09	7,47±0,24	7,52±0,2	7,36±0,16
Гемоглобин, г/л	156,7±3,76	156,0±2,65	155,3±2,73	160,0±3,0
Гематокрит, %	37,3±0,21*	36,8±0,73	38,07±0,44	38,75±0,15
Средний объём эритроцита, фл	50,9±0,46	49,3±1,27	51,3±0,45	52,5±1,10
Среднее содержание гемоглобина в эритроците) пг	21,37±0,15	22,52±1,48	21,13±0,18	21,9±0,7
Цветной показатель, ед.	1,04±0,01	1,04±0,05	1,35±0,03	1,7±0,02
Средняя концентрация корпускулярного гемоглобина, г/л	42,03±1,49	42,47±2,88	42,1±1,26	41,8±3,3
Анизоцитоз эритроцитов, %	15,47±0,49	13,8±0,32	15,1±0,44	15,75±0,65
Относительная ширина распределения эритроцитов по объёму	30,5±1,35	27,07±0,74	29,2±1,19	31,3±2,6
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	331,67±8,5*	314,43±15,6	268,33±13,4*	163,5±11,8
Средний объём тромбоцитов, фл	6,53±0,75	7,1±0,86	7,17±0,23	7,95±0,15
Тромбокрит, %	0,38±0,01	0,27±0,03	0,31±0,06	0,2±0,07
Анизоцитоз тромбоцитов, %	22,67±2,52	29,9±0,66	22,9±3,46	27,35±1,45
СОЭ (по Панченкову)	0,67±0,33	2,0±0,01*	1,67±0,34	1,33±0,28

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$ в сравнении с группой контроля

Сегментоядерные нейтрофилы – умеренное снижение во всех группах при нормальном содержании палочкоядерных нейтрофилов и других форм лейкоцитов (лимфоцитов, моноцитов).

Подобная вариативность лейкограммы, скорее всего, связана с возрастом животных и не является патологией.

Средние значения всех определяемых эритроцитарных индексов системы периферической крови крыс опытных групп варьировали в пределах 2,5-4,8 %, не выходя за пределы нормы, и значимо не отличались от контроля, что позволило констатировать отсутствие патологических нарушений в организме крыс.

При оценке биохимического профиля крови (таблица 11) установлено, что внутримышечное введение препарата ливазен оказало влияние на показатели белкового обмена организма подопытных крыс.

Таблица 11 – Биохимические показатели крови белых крыс в субхроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	Опыт 1/10	Опыт 1/20	Опыт 1/50	Контроль
Общий белок, г/л	83,4±4,8	78,8±1,1	77,2±1,1	79,1±1,4
Мочевина, ммоль/л	7,2±1,0	6,4±0,6	6,3±0,3	6,1±0,3
Холестерин, ммоль/л	1,8±0,2	1,4±0,06	1,9±0,2	1,7±0,2
Глюкоза, ммоль/л	8,7±0,9**	8,0±0,3*	8,3±0,4	6,5±0,3
АлАТ, Ед/л	77,3±4,0	74,5±5,8	67,6±4,8**	66,3±2,4
АсАТ, Ед/л	226,3±9,2	240±13,6	238±10,6	222,8±8,7
Билирубин общий, мкмоль/л	3,4±0,2	3,1±0,7	3,1±0,1	3,0±0,2
ЩФ, Ед/л	391,0±37,2	368,8±41,8	370,4±15,5	346,8±20,5
Кальций общий, ммоль/л	2,3±0,1	2,4±0	2,2±0,1	2,3±0,1
Фосфор неорганич., ммоль/л	2,9±0,4	2,3±0,2	2,3±0,1	2,2±0,1
Креатинин, ммоль/л	24,6±2,1	27,6±3,0	24,4±1,0	27,2±2,3

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$, ** $p \geq 0,01$ в сравнении с группой контроля

Так, концентрации общего белка и мочевины у животных первой опытной группы, получавших препарат в максимальном объеме, превысили значе-

ния контрольных аналогов на 5,4 % и 18,0 % соответственно (на уровне тенденции). Учитывая отсутствие изменений в содержании креатинина во всех экспериментальных группах, мы можем исключить нарушение почечного фильтра.

По другим опытным группам уровень белка был близок к значениям контрольных животных. Аналогичная картина прослеживалась и по показателям мочевины, концентрация которой во второй и третьей опытных группах увеличилась относительно крыс контроля на 4,9 % и 3,3 %, и соответствовала прямой корреляционной зависимости между белоксинтетической и мочевинообразовательной функциям печени подопытных животных.

Препарат оказал выраженное влияние на стимуляцию углеводного обмена. Уровень глюкозы во всех опытных группах увеличился на 33,8 ($p \leq 0,05$), 23,1 ($p \leq 0,01$) и 27,7 % относительно контроля с высокой степенью достоверности по первой и второй группам. Причем, увеличение данного показателя происходило в пределах физиологически нормальных значений, и проявлялась как результат фармакологической активации углеводного обмена под действием ливазена.

Применение препарата во всех дозах увеличивало в крови крыс активность аминотрансфераз с приоритетом по второй опытной группе (по АлАТ – на 16,6, 12,4 и 2,0 %, по АсАТ – на 1,6, 7,7 и 6,8 % соответственно), что отражает тенденцию к повышению функции печени по переаминированию аминокислот. В концентрации щелочной фосфатазы также выявлена тенденция к ее увеличению во всех опытных группах (на 12,7, 6,1 и 6,8 % в сравнении с контролем).

Уровень неорганического фосфора в первой опытной группе превысил показатели контрольных крыс на 31,8 %. Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, костной ткани и основных систем энергообеспечения клетки – АТФ. Можно предположить, что под действием препарата происходит увеличение аденозинтрифосфата, улучшающего биохимические процессы в организме лабораторных животных.

По остальным биохимическим показателям существенных различий по группам установлено не было. Все изменения, регистрируемые в сыворотке крови подопытных животных, происходили в пределах видовых границ нормы лабораторных крыс.

Таким образом, длительное применение препарата ливазен в субтоксических дозах лабораторным животным не привело к развитию токсикоза, а также не позволило установить его вредного влияния на организм грызунов (Зотова Т.А., Семененко М.П., 2015).

По окончании опыта крыс выводили из эксперимента с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными для учета патологоанатомических изменений внутренних органов. Внутренние органы (сердце, легкие, печень, селезенка, почки) взвешивали для определения коэффициентов их массы (таблица 12), после чего фрагменты этих органов брали для гистологического исследования.

Таблица 12 – Масса внутренних органов белых крыс в субхроническом эксперименте ($M \pm m$; $n=5$)

Орган	Масса внутренних органов, г			
	Опыт 1/10	Опыт 1/20	Опыт 1/50	Контроль
Почки	1,47±0,07	1,53±0,03	1,57±0,03	1,50±0,06
Лёгкие	1,57±0,17	1,63±0,09	1,53±0,09	1,53±0,07
Печень	7,83±0,17	8,10±0,31	7,70±0,17	7,8±0,17
Селезёнка	0,73±0,26	0,87±0,03	0,77±0,09	0,8±0,06
Сердце	0,77±0,03	0,83±0,03	0,77±0,07	0,83±0,03

Как видно из данных, представленных в таблице, относительная масса большинства внутренних органов у опытных крыс статистически не отличалась от таковой в интактном контроле. Диапазон различий по массе органов был не более 2-4,8 % (при отсутствии достоверности).

При макроскопическом исследовании внутренних органов опытных и контрольных животных, особенностей в их строении и расположении выявлено не было. Расположение органов было анатомически правильным, объем

и размеры соответствовали физиологической норме, серозные оболочки полостей были выраженного розового цвета, с гладкой и блестящей поверхностью. Жидкости в брюшной и плевральной полости не обнаружено, патологический выпот и экссудат не регистрировался.

Сердце – округлой формы, коронарные сосуды наполнены кровью, сердечная сорочка блестящая, бледно-розового цвета. Эпикард, эндокард без видимых изменений, миокард светло-розового цвета, плотной консистенции.

Печень без патологий, не увеличена, красновато-коричневого цвета, с гладкой капсулой и ровными краями. На поверхности разреза выделяется незначительное количество крови.

Желчный пузырь наполнен желчью зеленовато-желтого цвета. Слизистая оболочка бархатистая, оранжевого цвета. Проприодимость желчного протока сохранена.

Селезенка без видимых изменений бордового цвета, умеренно плотной консистенции.

Почки и надпочечники без патологий, не увеличены, с гладкой поверхностью. Целостность капсулы не нарушена, корковое и мозговое разграничение хорошо выражено. Надпочечники округлой формы, умеренно плотные.

Желудок не расширен. Слизистая оболочка складчатая, розоватая, блестящая. Слизистая оболочка тонкого кишечника бледно-розового цвета, блестящая, гладкая. Слизистая оболочка толстой кишки сероватого цвета, блестящая, гладкая.

Кости, суставы, мускулатура без видимых изменений.

Таким образом, проведенные комплексные исследования препарата ливазен при его длительном внутримышечном введении лабораторным животным во всех исследуемых дозах не выявили токсических эффектов ни со стороны функциональной активности органов и систем организма, ни на клеточном уровне.

4.3.3 Влияние ливазена на мочеотделение

Изучение функционального состояния почек при длительном применении препарата ливазен проводилось на клинически здоровых коровах голштинской породы в возрасте 2-3 лет.

Для проведения опыта было сформировано две группы животных по 4 в каждой. Опытной группе коров на протяжении 21 дня внутримышечно вводился ливазен в дозе 4 мл препарата на фоне одномоментного введения 20 мл стерильного физиологического раствора. Вторая группа животных служила в качестве биологического контроля, внутримышечно получая только аналогичный объем физраствора.

Сбор мочи осуществлялся на 7, 14, и 21 сутки опыта. Критерием оценки служили: цвет, запах, консистенция, удельный вес, содержание белка, гемоглобина, углеводов, желчных пигментов и концентрация водных ионов.

Установлено, что на протяжении всего периода исследований во время мочеиспускания поза животных в обеих группах оставалась естественной, акты произвольными, регулярными и безболезненными. Частота мочеиспускания составляла в среднем $10,8 \pm 1,2$ раза в сутки, без задержки мочи в мочевом пузыре и признаков недержания.

Цвет мочи варьировал от светло-желтого до соломенного без примесей крови и слизи. Консистенция – жидкая, водянистая, со специфическим запахом. Относительная плотность мочи в среднем составила $1,037 \pm 0,002$ г/мл (таблица 13).

При проведении внутренней пальпации почек через стенку прямой кишки на уровне 3-5 поясничных позвонков установлено отсутствие отеков, болезненности и увеличения размеров органов.

Химическое исследование мочи не выявило в составе присутствия белка, углеводов, гемоглобина и желчных пигментов.

Таблица 13 – Влияние ливазена на физико-химические свойства мочи коров
($M \pm m$; $n=4$)

Показатели	Дни эксперимента					
	7 день		14 день		21 день	
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
Цвет	от светло-желтого до соломенно-желтого					
Прозрачность	Прозрачная					
Консистенция	Жидкая, водянистая					
Запах	Специфический					
Удельный вес, г/мл	1,038± 0,002	1,039± 0,001	1,037± 0,002	1,039± 0,002	1,038± 0,001	1,037± 0,002
pH	7,65±0,17	7,70±0,13	7,78±0,17	7,80±0,16	7,68±0,17	7,80±0,12
Белок, г/л	Не обнаружено					
Углеводы, мМ/л	Не обнаружено					
Гемоглобин, г/л	Не обнаружено					
Билирубин, мМ/л	Не обнаружено					

Таким образом, длительное парентеральное введение ливазена не оказывает отрицательного воздействия на мочевыделительную функцию организма коров.

4.3.4 Влияние ливазена на пищеварение

Изучение функционального состояния пищеварительной системы при длительном применении ливазена проводилось на тех же коровах, на которых изучалось влияние препарата на функции мочеотделения.

Функциональная активность желудочно-кишечного тракта оценивалась с учетом физико-химических свойств фекалий, которые собирали дважды – в начале опыта и на 21 день, с ежедневным клиническим наблюдением за животными. Органолептически тестировалась консистенция, форма, цвет, запах и наличие посторонних примесей.

Физико-химическое исследование каловых масс включало в себя определение pH (с помощью тест-полосок), наличие крови – бензидиновой пробой,

желчные пигменты – пробой Терквея, билирубин – пробой Фуше, наличие жира и крахмала – микроскопически при помощи судана III и раствора Люголя.

В результате проведенных исследований установлено, что у коров как опытной, так и контрольной группы, акты дефекации осуществлялись ежедневно регулярно в естественной позе, безболезненно и без напряжения. Суточное количество выделенного кала находилось в пределах допустимых норм, составив в опытной группе $30,0 \pm 1,08$ кг, а в контрольной – $30,75 \pm 0,85$ кг. Каловые массы имели форму «волнистой лепешки» буро-зеленого цвета, со специфическим, кисловатым запахом (таблица 14).

Таблица 14 – Исследование показателей кала коров ($M \pm m$; $n=4$)

Показатель	Группы животных		Норма
	Опыт	Контроль	
Макроскопическое			
Количество, кг в сутки	$30,0 \pm 1,08$	$30,75 \pm 0,85$	15 – 35
Консистенция	Кашицеобразная	Кашицеобразная	Кашицеобразная
Форма	Волнистая лепешка	Волнистая лепешка	Волнистая лепешка
Цвет	Буро-зеленый	Буро-зеленый	Буро-зеленый
Запах	Специфический, кисловатый	Специфический, кисловатый	Специфический, кисловатый
Примеси	–	–	Отсутствуют
Микроскопическое			
pH	$6,5 \pm 0,29$	$6,25 \pm 0,25$	6,0 – 7,0
Нейтральный жир	–	–	Отсутствует
Крахмал	–	–	Отсутствует
Слизь	Единичные клетки эпителия	Единичные клетки эпителия	Отсутствует
Пигмент крови	–	–	Отсутствует
Билирубин	–	–	Отсутствует

Макроскопический осмотр кала сгустков крови, слизи, гноя, пузырьков газов, кишечных паразитов не выявил. При микроскопическом исследовании

при оценке переваривающей способности желудочно-кишечного тракта, крахмальные зерна и нейтральный жир не обнаружены.

Химические исследования в каловых массах кровяных, желчных пигментов не выявили. рН кала у животных обеих групп составило 6,5 в опытной и 6,25 в контрольной, что может свидетельствовать о нормальной жизнедеятельности микрофлоры кишечника.

Таким образом, установлено, что длительное применение препарата ливазен не оказывает отрицательное действие на функциональное состояние желудочно-кишечного тракта.

4.3.5 Местно-раздражающее и аллергизирующее действие ливазена

Изучение местно-раздражающего и аллергизирующего действия препарата ливазен проведено в трех сериях эксперимента на морских свинках и кроликах.

Первая серия опытов по изучению раздражающего действия на кожу проводилась на 5 морских свинках массой 350-370 грамм и 3 кроликах с массой тела 2,0-2,3 кг. Животным выстригали шерстных покров за день до проведения исследования. Морским свинкам – область, размером 3х3 см от задней трети спины по направлению к голове; кроликам – 5х5 см с двух сторон в области спины, избегая механических повреждений кожи. Исследуемый препарат наносился с помощью глазной пипетки однократно на правую сторону от позвоночного столба, а на противоположную, контрольную, дистиллированная вода. Экспозиция длилась 4 часа, затем остатки препарата удалялись ватным тампоном, смоченным дистиллированной водой. Учет реакции участков кожи каждого животного проводился через 1 час, 12 часов и 7 дней после нанесения, при этом сравнивалась симметричность опытной области по отношению к кон-

трольной, учитывались функциональные нарушения (шелушение, зуд, локальное повышение температуры, припухлость). Согласно классификации С.В. Суворова, реакция раздражающего действия оценивалась в баллах (таблица 15).

Таблица 15 – Классификация опасности местно-раздражающего действия веществ на кожу

Средний суммарный балл выраженности эритемы	Цвет кожи	Выраженность раздражающего действия	Класс опасности
6,1 – 8,0	Ярко-красный	Резко выраженное	1
4,1 – 6,0	Красный	Выраженное	2
2,1 – 4,0	Розово-красный	Умеренное	3
0 – 2,0	Светло-розовый или розовый	Отсутствие или слабо-раздражающее	4

Результаты исследований после однократного нанесения препарата ливазен на кожу кроликов и морских свинок представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Местно-раздражающее действие ливазена при однократном нанесении на кожу морских свинок и кроликов

Показатель	Вид животного					
	Морские свинки, n = 5			Кролики, n = 3		
	Время					
	1 час	12 часов	7 суток	1 час	12 часов	7 суток
Выраженность эритемы, средний балл	0,82	0	0	0,87	0	0
Цвет кожи	Розовый	Светло-розовый	Светло-розовый	Розовый	Светло-розовый	Светло-розовый
Выраженность раздражающего действия	Слабо-раздражающее	Отсутствует	Отсутствует	Слабо-раздражающее	Отсутствует	Отсутствует

В результате проведенных исследований было установлено, что однократное нанесение ливазена на кожу морских свинок и кроликов не вызывает местно-раздражающего действия в виде отёка и эритемы.

Вторая серия опытов по изучению сенсibiliзирующего действия ливазена проводилась на 3 морских свинках массой 250-260 г путем нанесения 20

повторных аппликаций ливазена каждому животному на выстриженный боковой участок туловища размером 2x2 см 5 раз в неделю. Реакция раздражающего действия оценивалась по классификации С.В. Суворова (таблица 15), а степень отёка кожи – согласно таблиц 17 и 18 в баллах.

Таблица 17 – Оценка развития отёка кожи

Толщина кожной складки, мм	Интенсивность отёка	Баллы
0 – 0,5	Отсутствует или слабая	0 – 1
0,6 – 1,0	Умеренная	2
1,1 – 2,0	Выраженная	3
2,1 – 5,0	Резко выраженная	4

Таблица 18 – Сенсibiliзирующее действие ливазена на кожу кроликов

Показатель	Время	
	1 неделя	2 неделя
Выраженность эритемы, средний балл	0,233	0,167
Цвет кожи	Светло-розовый	Светло-розовый
Выраженность раздражающего действия	Отсутствует	Отсутствует
Интенсивность отёка, баллы	0	0

В результате проведенного исследования установлено, что ливазен не вызывает развития неаллергического контактного дерматита, гиперемии и отёка кожи. Проведение накожных аппликаций не оказывает негативного действия на общее состояние животных (Зотова Т.А., Семененко М.П., 2016).

Третья серия опытов по изучению местно-раздражающего действия ливазена проведена при помощи конъюнктивальной пробы на 2 кроликах массой 2,1-2,4 кг. Для проведения эксперимента кроликам под верхнее веко левого глаза глазной пипеткой вводилась 1 капля ливазена, во второй (правый) глаз, являющийся контролем, вводилась 1 капля дистиллированной воды в положении животного лежа головой вниз. Быстрая реакция оценивалась через 15 минут, а затем каждый час в течение 12 часов. Для выявления гиперчувствительности замедленного типа действие препарата оценивалось через 24-48 часов.

После введения препарата внимание обращалось на клиническое состояние животного, слезотечение, кровенаполнение конъюнктивы, состояние роговицы, век. Оценивание раздражающего действия проводилось в баллах (таблица 19).

Таблица 19 – Степень раздражающего действия ливазена на конъюнктиву

Интенсивность реакции	Выраженность раздражающего действия	Баллы
Отсутствие	Отсутствует	0
Слабая гиперемия	Слабая	2
Выраженная гиперемия	Слабо выраженная	4
Наличие лакримации	Умеренная	6
Наличие выделений	Выраженная	8
Отёк век	Сильно выраженная	10

В результате проведенных исследований было установлено, что при визуальной оценке в первые 5 минут ливазен вызывает обильное слезотечение и гиперемию конъюнктивы, что свидетельствует о раздражающем действии из-за входящего в состав препарата спирта (рис. 3).



Рис. 3 – Гиперемия конъюнктивы кролика в течение 5 минут после введения препарата

Но уже через 10 минут после введения ливазена слезотечение прекратилось, а спустя 20 минут исчезла и гиперемия конъюнктивы. Последующее наблюдение за слизистыми оболочками глаза кроликов гиперчувствительности замедленного типа не выявило.

4.3.6 Эмбриотоксическое и тератогенное действие

Возможное эмбриотоксическое и тератогенное действие препарата ливазен было изучено на беременных самках белых лабораторных крыс в пренатальный период развития плодов. Эмбриотоксические эффекты лекарственного вещества, как правило, могут проявляться сразу после оплодотворения или на первых стадиях беременности, вызывая гибель зародыша либо морфофункциональные нарушения деятельности его клеточных систем. В связи с чем, к 16 половозрелым самкам крыс, находящимся в стадии эструса/проэструса разово, на ночь подсаживались самцы ($n=4$). После чего у самок из влагалища отбирались мазки с последующим микроскопированием. Обнаружение в мазках спермиев считалось первым днем беременности у крыс. Далее, животные были разделены на две группы – опытную и контрольную. Опытной группе крыс, начиная с 5 дня беременности, внутримышечно вводился препарат ливазен в дозе 0,25 мл на животное, в течение 10 дней. Контрольная группа самок оставалась интактной. За всеми крысами на протяжении срока эксперимента велось клиническое наблюдение.

На 20 день беременности из каждой группы под эфирным наркозом из опыта выводилась половина самок для подсчета количества желтых тел беременности в яичниках и мест имплантации.

При патологоанатомическом осмотре эмбриональное действие ливазена оценивали путем наличия предимплантационной гибели зигот (разность между количеством желтых тел беременности в яичниках и количеством мест имплантации в матке от общего числа желтых тел) и постимплантационной гибели эмбрионов (разность между количеством мест имплантации и количеством живых плодов в матке от числа мест имплантации), а также общую эмбриональную смертность (разница между числом желтых тел беременности и живыми плодами в процентах от числа желтых тел в яичниках) (Енгашев С.В., Дорогова О.А., Абрамов В.Е., 2017).

Оставшиеся беременные самки содержались до родов (22-25 дни беременности). После рождения крысят оценивались их клинические показатели, возможные отклонения в развитии, уродства, аномалии.

Установлено, что на всем протяжении течения беременности изменений в поведении самок крыс выявлено не было. Предимплантационная гибель зигот в опытной группе составила 2,21 %, в контрольной – 2,42 %, эмбриональная (постимплантационная) гибель – 4,33 и 4,26 % соответственно. Общая эмбриональная смертность по группам колебалась в пределах 6,54 и 6,68 %.

Масса тела плодов и их среднее количество на одну самку по группам составило 2,31 и 2,29 г и 9,6 и 9,7 голов. Аномалий в развитии плодов не установлено.

В лактационный период крысята, родившиеся от опытных самок ($9,7 \pm 0,6$ в опытной группе и $9,4 \pm 0,5$ – в контрольной группе), различий от контрольных аналогов не имели. Отлипание ушей, открытие глаз, образование волосяного покрова у крысят обеих групп происходило в физиологические сроки и без нарушений.

На основании исследований, эмбриотоксическое и тератогенное действие препарата ливазен установлено не было.

4.3.7 Влияние ливазена на гистологию внутренних органов животных

Для изучения патоморфологических изменений во внутренних органах лабораторных животных под действием ливазена при его длительном применении, после окончания опыта по субхронической токсичности из каждой группы крыс было отобрано по 3 особи. Умерщвление животных проводилось методом декапитации согласно методическим указаниям.

Отбор внутренних органов для гистологического исследования (печень, легкие, сердце, почки, селезенка) проводился сразу после вскрытия с дальнейшей их фиксацией в 10 %-ном нейтральном формалине. Согласно методическому руководству «Морфологические исследования в ветеринарных лабораториях» от 17.07.2002 было изготовлено 622 микропрепарата.

При макроскопическом исследовании у всех опытных крыс, в строении внутренних органов особенностей выявлено не было (рис. 4).



Рис. 4 – Отсутствие нарушений в расположении внутренних органов подопытных крыс

Расположение органов соответствовало физиологической норме, объем и форма не увеличены, серозные оболочки полостей ярко-красного цвета, поверхность гладкая и блестящая. Жидкость в брюшной и плевральной полости не обнаружена.

Определенные изменения структуры внутренних органов крыс при гистологическом исследовании были установлены только при максимально допустимой дозе введения ливазена (1/10 от максимально введенной).

В печени наблюдалась дисконкомплексация печеночных балок, в гепатоцитах встречались ацидофильные мелкие включения, гемостаз. Отмечена околососудистая пролиферация клеток лимфоидного ряда.

Выявлены незначительные участки дистрофического характера. Однако в нашем случае, наличие зернистой дистрофии являлось обратимым процессом и не влекло за собой функциональной недостаточности печени (рис. 5).

В ткани селезенки отмечается инфильтрация пульпы эритроцитами. Выявляется воспалительная реакция – пролиферация лимфоидных клеток в красной пульпе (рис. 6).

В цитоплазме почек выявляются вакуоли, наполненные цитоплазматической жидкостью. Просматривается гидропическая (вакуольная) дистрофия (рис. 7). В корковом веществе и почечных канальцах – небольшие очаги лимфоидной пролиферации (рис. 8).

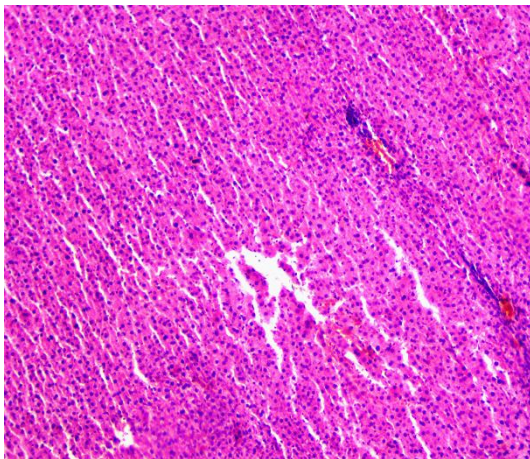


Рис. 5 – Печень. Зернистая дистрофия с лимфоидной пролиферацией.
Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

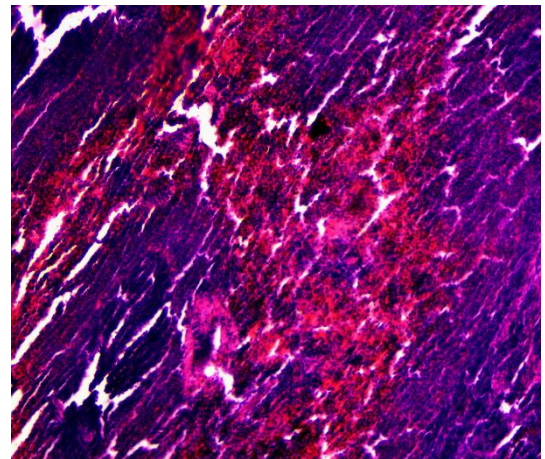


Рис.6 – Селезёнка. Проплиферация лимфоидных клеток.
Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

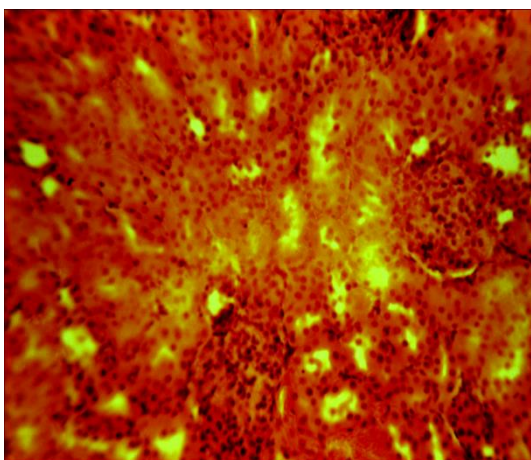


Рис.7 – Почки. Гидропическая дистрофия.
Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

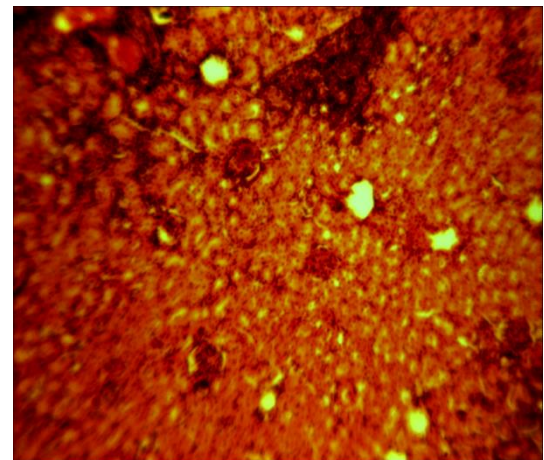


Рис. 8 – Почки. Лимфоидная пролиферация.
Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

В других опытных группах гистологическая картина внутренних органов соответствовала норме.

Таким образом, длительное внутримышечное введение лабораторным крысам ливазена в различных дозах, превышающих условно-терапевтическую, не вызывает каких-либо значимых изменений во внутренних органах, сохраняя их гистологическую структуру и функции.

4.4.8 Ветеринарно-санитарная оценка качества мясных продуктов после применения ливазена

Опыт по изучению ветеринарно-санитарного качества мяса после применения ливазена проведен на 2 группах кроликов с массой тела 3,1-3,4 кг. Опытной группе (n=3) ливазен вводился внутримышечно в дозе 0,5 мл в течение 21 дня, а контрольной группе животных (n=3) в тех же объемах вводился стерильный физиологический раствор. По окончании опыта кролики подверглись убою.

Ветеринарно-санитарная экспертиза качества мяса проводилась по следующим показателям: внешнее состояние тушек, комплексные органолептические исследования (цвет, запах, консистенция, состояние жира и сухожилий, качество бульона при пробе варкой), определение рН мяса, бактериальной обсеменённости.

При определении цвета и внешнего вида мяса кроликов внимание обращалось на состояние поверхности, корочку подсыхания, степень обескровливания. Цвет и вид мышц определялись в глубинных слоях мышечной ткани на свежем разрезе, параллельно обращалось внимание на наличие липкости и увлажненности поверхности мяса путем приложения фильтровальной бумаги.

Исследование показало, что ливазен не оказывает отрицательного действия на качество мяса опытных кроликов. Мясо было бледно-розового цвета,

жир мягкий. В глубинных слоях мышцы увлажнены незначительно, не оставляя влажного следа на фильтровальной бумаге, цвет мышечной ткани был характерен для данного вида животных – светло-розовый со слегка красноватым оттенком. Консистенция мяса плотная, упругая, при надавливании пальцем на его поверхность скорость исчезновения образовавшейся ямки быстрая. Запах свежий, специфический свойственный мясу кролика. Жировая ткань желтовато-белая, имеет плотную консистенцию, без запаха.

Для точного определения качества мяса проводилась проба варкой. Для этого 20 грамм мелконарезанного мяса помещалось в коническую колбу объемом 100 см³ с добавлением 60 см³ дистиллированной воды, и накрыванием стеклом. Мясо на водяной бане нагревалось при 80-85°C до появления паров, выходящих из колбы. При переливании бульона в мерный цилиндр установлено, что он был прозрачным, ароматным, жировые капли находятся на поверхности в большом количестве. Водный экстракт, приготовленный из мяса, быстро фильтруется через бумажный фильтр, прозрачный.

Показатель водородных ионов определялся рН-метром в водной вытяжке. При жизни рН мышц имеет слабощелочную реакцию, однако после убоя в процессе ферментации происходит сдвиг концентрации ионов в кислую сторону, поэтому показатель рН в нашем случае составил 5,8, соответствуя рН мясу здоровых животных.

Реакция на пероксидазу была положительной (вытяжка из мяса опытных кроликов приобрела сине-зелёный цвет, переходя через 2 минуты в буро-коричневый цвет).

Определение продуктов первичного распада белков в бульоне, проводимое с сернокислой медью, показало доброкачественность образцов мяса кроликов (добавление 3 капель 5 % раствора сернокислой меди через 5 минут помутнения не дало).

При добавлении к приготовленной вытяжке мяса (реакция с нейтральным формалином), 1 мл реактива фильтрат остался прозрачным, что указывает на то, что мясо получено от убоя здоровых животных.

Определение количества летучих жирных кислот (ЛЖК) основано на выделении ЛЖК и определении их количества путем титрования дистиллята гидратом окиси калия. Количество летучих жирных кислот в наших исследованиях составило 1,9 мг гидрата окиси калия в 100 г мяса, что указывает на свежесть мяса.

Для определения аммиака в мясе готовилась вытяжка из 5 г фарша, который переносился в коническую колбу с 20 мл дважды прокипяченной дистиллированной водой и настаивался 15 минут. После фильтрации добавлялся 1 мл реактива Неслера. Метод основан на способности аммиака и солей аммония образовывать с реактивом Неслера вещество, окрашенное в желто-бурый цвет. Данная реакция подтвердила свежесть мяса (вытяжка приобрела зеленовато-желтый цвет, оставаясь прозрачной).

Бактериальная обсемененность поверхностных слоев мяса показала наличие единичных микробных клеток, в глубоких слоях мышечной ткани микрофлора отсутствовала.

Таким образом, результатами ветеринарно-санитарной экспертизы установлено, что ливазен при его длительном использовании не влияет отрицательно на качество и вкусовые особенности мяса животных.

4.4 Гепатозащитное действие препарата ливазен на биологических моделях поражения печени лабораторных животных

4.4.1 Модель острого токсического гепатита у крыс

Изучение активности ливазена, обладающего прогнозируемыми гепатозащитными свойствами, проводилось путем моделирования острого токсического гепатита на беспородных белых крысах с массой тела 190-220 г. Исследование выполнялось в динамике при жизни и после декапитации животных через сутки после последнего введения препарата.

Острое токсическое повреждение печени у беспородных крыс вызывали однократным внутрибрюшинным введением 50 %-ного масляного раствора тетрахлорметана (CCl₄) в дозе 0,4 мл/кг массы животных (Хабриев Р.У., Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, 2005).

Для проведения эксперимента было сформировано три группы животных:

– 1 группа – опытная (n=6), животным за 1 час до внутрибрюшинного введения четыреххлористого углерода внутримышечно вводился раствор ливазена в дозе 0,5 мл, и далее 1 раз в сутки в течение 3-х недель (21 день) в той же дозе;

– 2 группа – опытная (n=6), внутрибрюшинное введение четыреххлористого углерода без последующего лечения;

– 3 группа – контроль (n=6) – внутрибрюшинное введение физраствора в дозе 0,5 мл/животное;

Согласно существующим взглядам, патогенез токсического действия четыреххлористого углерода связан со свободнорадикальными метаболитами (типа CCl₃), образующимися в результате гемолитического разрыва молекул CCl₄. В результате усиления перекисного окисления липидных комплексов внутриклеточных мембран нарушаются активность ферментов, ряд функций

клетки (синтез белков, обмен β -липопротеидов, метаболизм лекарств), возникает деструкция нуклеотидов и т. д. Предполагают, что основным местом образования свободнорадикальных метаболитов являются эндоплазматическая сеть и митохондрии клетки (Лазарев Н.В., Левина Э.Н., 1976).

При клиническом обследовании крыс 1 и 2 групп сразу после введения токсиканта отмечалось угнетение, вялость, скудность, сонливость. Положение тела животных было неестественным, спина согнута, отмечено повышение температуры тела (ощутимо теплый хвост). Реакция на внешние раздражители отсутствовала.

Через 6 часов после введения четыреххлористого углерода у животных этих групп наблюдалось появление реакции на внешние раздражители, однако сонливость и угнетенное состояние сохранилось. Крысы отказывались от корма.

В третьей группе животных признаки токсикоза не регистрировались из-за отсутствия токсического агента. Крысы на протяжении всего периода исследования были активны, с сохраненными реакциями, выраженным аппетитом.

В последующие четверо суток у грызунов первых двух групп признаки интоксикации оставались выраженными: угнетенное состояние, плохой аппетит, потеря в весе. Однако на 5 день исследований у крыс, к которым была применена терапия ливазеном, начало проявляться улучшение клинического состояния относительно второй опытной группы, характеризующееся повышением двигательной активности, появлением аппетита, восстановлением реакций на внешние раздражители. Тогда как у животных 2 группы признаки интоксикации сохранялись. Нивелирование токсического действия четыреххлористого углерода стало отмечаться в этой группе только с 8 дня опытного периода, и то не у всех животных.

На 15 день исследований во второй опытной группе была отмечена гибель одного животного. При патологоанатомическом вскрытии в легких

наблюдались признаки крупозной пневмонии. Доли легкого находились в стадии серого опеченения, были увеличенными, плотными, тяжелыми. На разрезе – серой окраски, с зернистой поверхности стекала мутная жидкость.

Печень яркого красно-коричневого цвета; капсула плотная, диффузно утолщена, блестящая; выявлялись очаги некроза.

Причина возникновения крупозной пневмонии у крысы опытной группы, на наш взгляд, связана с переохлаждением, что было отмечено еще Н. С. Молчановым и В. В. Ставской (1971), а также снижением общей сопротивляемости организма при интоксикации. Кроме того, при токсическом поражении CCl_4 , происходит нарушение дренажной функции дыхательных путей вследствие изменений в слизистой оболочке бронхов и трахеи.

Изучение динамики массы тела животных всех подопытных групп проводилось на 7 и 21 дни опыта (таблица 20).

Таблица 20 – Динамика изменения массы тела лабораторных крыс при остром токсическом поражении печени четыреххлористым углеродом ($M \pm m$; $n=6$)

Группы	Масса тела, г		
	в начале опыта	через 7 дней	через 20 дней
1 (опытная)	209,3±3,30	204,0±3,32	215,4±3,96*
2 (опытная)	202,0±4,19	193,2±4,72**	201,4±5,07 ***
3 (контрольная)	206,7±4,08	210,3±4,14	224,3±3,91

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ в сравнении с группой контроля

В группах с применением четыреххлористого углерода на протяжении всего периода исследований по отношению к контрольным аналогам установлено снижение массы тела. В первой группе (терапия ливазеном) к концу исследований масса тела крыс составила 96,0 % от средней массы тела аналогов 3 группы (здоровые животные). Тогда как во второй группе этот показатель находился на уровне 89,8 % (масса тела животных снизилась на 10,2 %). Различия по первой и второй группе составили 6,2 % в пользу крыс, к которым

была применена фармакотерапия. То есть, ливазен снизил негативное действие токсиканта, улучшая состояние животных.

Определенные изменения по группам были отмечены и в биохимических показателях крови лабораторных крыс (таблица 21).

Таблица 21 – Биохимические показатели крови крыс при экспериментальном тетрахлометановом гепатите и применении ливазена ($M \pm m$; $n=6$)

Показатели	Группы		
	1 (опытная)	2 (опытная)	3 (контрольная)
Белок, г/л	69,42±2,12**	63,73±1,02 ***	74,6±1,45
Мочевина, ммоль/л	6,50±0,17*	5,8±0,15***	6,95±0,12
Холестерин, ммоль/л	2,82±0,10*	4,70±0,07	1,53±0,06
АсАт, ЕД/л	213,2±17,06	253,0±4,64 ***	132,25±4,33
АлАт, ЕД/л	107,4±12,86	126,0±3,98 ***	98,0±3,34
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	392,8±28,76 ***	475,75±40,59 ***	386,0±15,23
Кальций общий, ммоль/л	2,36±0,07	2,33±0,03	2,28±0,06
Фосфор неорганический, ммоль/л	2,52±0,12	2,95±0,13***	2,4±0,09
Креатинин, ммоль/л	13,6±0,94	14,43±1,91	14,48±1,44
Общий билирубин, мкмоль/л	5,0±0,12 ***	6,58±0,41***	4,55±0,09

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ в сравнении с группой контроля

Внутримышечное введение ливазена белым крысам на фоне острого токсического гепатита способствовало восстановлению функциональной активности печени и снижению синдрома цитолиза гепатоцитов.

При токсическом действии четыреххлористого углерода на организм в печени происходит нарушение синтеза белка, приводящее к его снижению в сыворотке крови животных. В сравнении с интактными животными уровень общего белка во второй группе снизился на 14,6 %, тогда как в первой группе снижение к 21 дню экспериментального периода составило 6,9 %. Пропорционально снижению белка происходило уменьшение концентрации мочевины, уровень которой в данных группах составил 93,5 % и 83,4 % к контролю соответственно. При этом различия между группами составили 10,1 %.

Уровень холестерина к окончанию экспериментального периода в группе с применением ливазена находился в референсных границах нормы,

тогда как у крыс второй группы его показатели превышали верхние границы видовой нормы в 1,38 раза.

К концу исследований показатели трансаминаз в первой опытной группе снизились в сравнении с животными второй группы на 15,7 % (АсАТ) и на 14,8 % (АлАТ) и, хотя они еще не достигли границ нормы, динамика снижения цитолитического синдрома под действием препарата прослеживалась достаточно четко. Различия с контрольными аналогами были минимальными и составили 8,0 % и 9,1 % соответственно.

Аналогичная картина отмечалась и по щелочной фосфатазе. В контрольной группе и группе с применением ливазена активность ЩФ была практически одинаковой (с разницей в 6 единиц), тогда как в группе крыс, подвергшихся острой интоксикации тетрахлометаном, уровень ферментной активности был увеличен на 23,3 % в сравнении с интактными животными.

Повышение общего билирубина во второй группе на 44,6 % указывает на нарушение секреторной функции гепатоцитов и разрушение эпителиальных клеток желчных протоков печени, чего не отмечается в 1 опытной группе лабораторных крыс.

При проведении патоморфологических исследований внутренних органов крыс, участвующих в эксперименте установлено, что в первой группе патологические изменения были менее выражены, чем во второй группе. При этом, расположение органов у крыс, подвергшихся токсическому воздействию четыреххлористым углеродом, было анатомически правильным, серозные оболочки полостей ярко-розового цвета, с гладкой блестящей поверхностью.

Однако во второй группе было отмечено значительное увеличение массы печени (на 18,1 %). При визуальном осмотре печень имела ярко-красный цвет, плотную блестящую, диффузно утолщенную капсулу, отмечены очаги некроза (рис. 9).



Рис. 9 – Печень крысы через 20 дней после затравки четыреххлористым углеродом

В первой группе масса печени относительно контроля была увеличена на 1,3 %. Цвет органа – красно-вишневый, ткань плотная, блестящая, гладкая, очаги некроза отсутствуют.

Масса селезенки во второй группе увеличена на 33,3 % относительно массы органа группы контроля (характерно для острых отравлений), пульпа размягчена, темно-вишневого цвета (таблица 22).

Таблица 22 – Масса внутренних органов крыс при экспериментальном тетрахлолметановом гепатите и применении ливазена ($M \pm m$; $n=3$).

Группы	Легкие	Печень	Селезенка	Почки	Сердце
1 (опытная)	1,64±0,07	8,66±0,43	0,76±0,06	1,5±0,05	0,66±0,02
2 (опытная)	1,76±0,07	10,10±0,40 *	1,04±0,05 ***	1,5±0,07	0,7±0,03
3 (контрольная)	1,68±0,06	8,55±0,48	0,78±0,05	1,5±0,04	0,7±0,04

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$, *** $p \leq 0,001$ в сравнении с группой контроля

Гистологическое исследование печени экспериментальных животных второй группы (без гепатопротекторной терапии) выявило значительные изменения в клеточной структуре органа, обусловленные действием токсиканта и характеризующиеся очаговым лизисом ткани с нарушением структурности, зернистой и жировой дистрофией, очагами некроза (рис. 10-13).

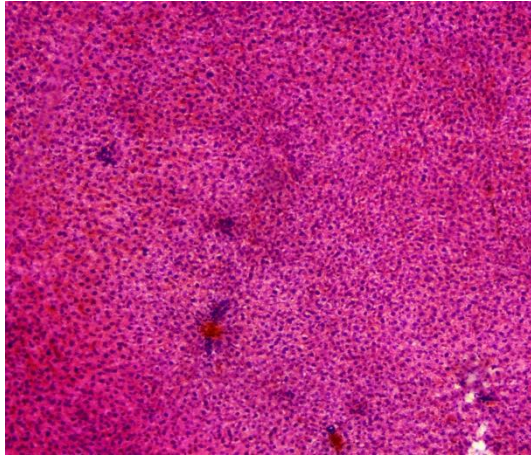


Рис.10 – Печень. Зернистая дистрофия с лимфоидной пролиферацией.
Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

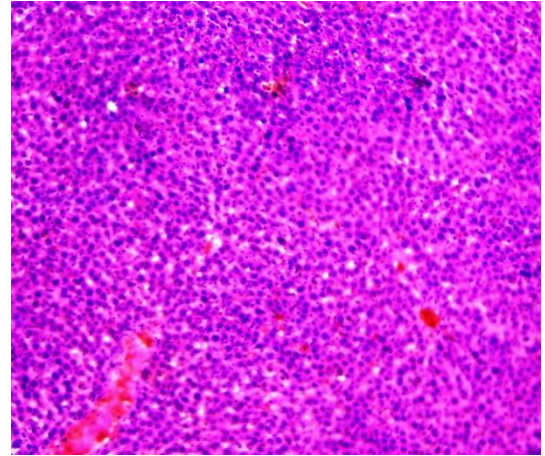


Рис. 11 – Участки жировой дистрофии печени. Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

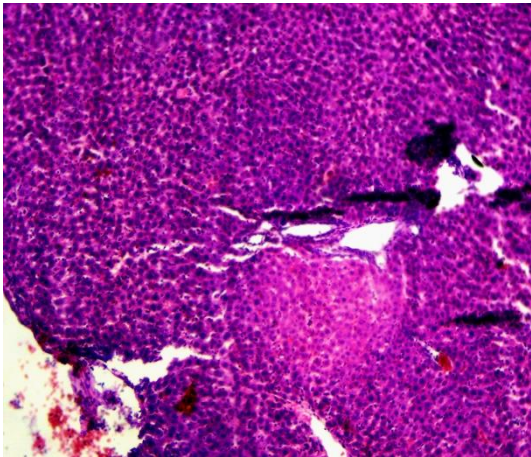


Рис.12 – Очаг перерождения клеток печени.
Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

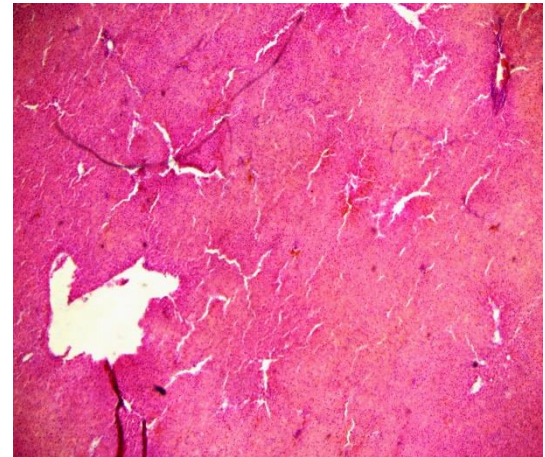


Рис. 13 – Очаговый лизис ткани печени, отсутствие ядер, нарушение структурности.
Окраска гематоксилин-эозином, ув. 400

У животных, получавших гепатопротекторную терапию ливазеном, структурные изменения в клетках печени были менее выражены. Отмечались незначительные очаги зернистой, жировой дистрофии в центре печеночных долек, единичные пролифации лимфоцитов. Помимо дистрофических и воспалительных изменений в ткани печени наблюдались регенерации, характеризующиеся митозом гепатоцитов.

При остром гепатите, вызванном CCl_4 , происходит достоверное повышение показателей МСМ в плазме крови. Однако применение препарата ливазен способствовало снижению уровня среднемoleкулярных пептидов и ослаблению эндотоксикоза (таблица 23).

Таблица 23 – Влияние ливазена на уровень среднемoleкулярных пептидов в организме крыс при экспериментальном тетрахлорметановом гепатите
($M \pm m$; $n=3$)

Группы	МСМ ₂₃₇ , усл.ед.	МСМ ₂₅₄ , усл.ед.	МСМ ₂₈₀ , усл.ед.
1 (опытная)	0,362 ± 0,004	0,243 ± 0,006	0,243 ± 0,016
2 (опытная)	0,854 ± 0,006	0,254 ± 0,004	0,310 ± 0,003
3 (контрольная)	0,269 ± 0,013	0,224 ± 0,008	0,221 ± 0,025

В 1 опытной группе содержание МСМ к концу исследований снизилось при всех длинах волны. Так, МСМ при длине волны 230 усл. ед. уменьшилось относительно второй группы в 2,36 раза. При длине волны 280 усл. ед. – в 1,28 раза. И только при длине волны 254 усл. ед. снижение было минимальным (на уровне тенденции) и составило 4,3 % (рис. 14).

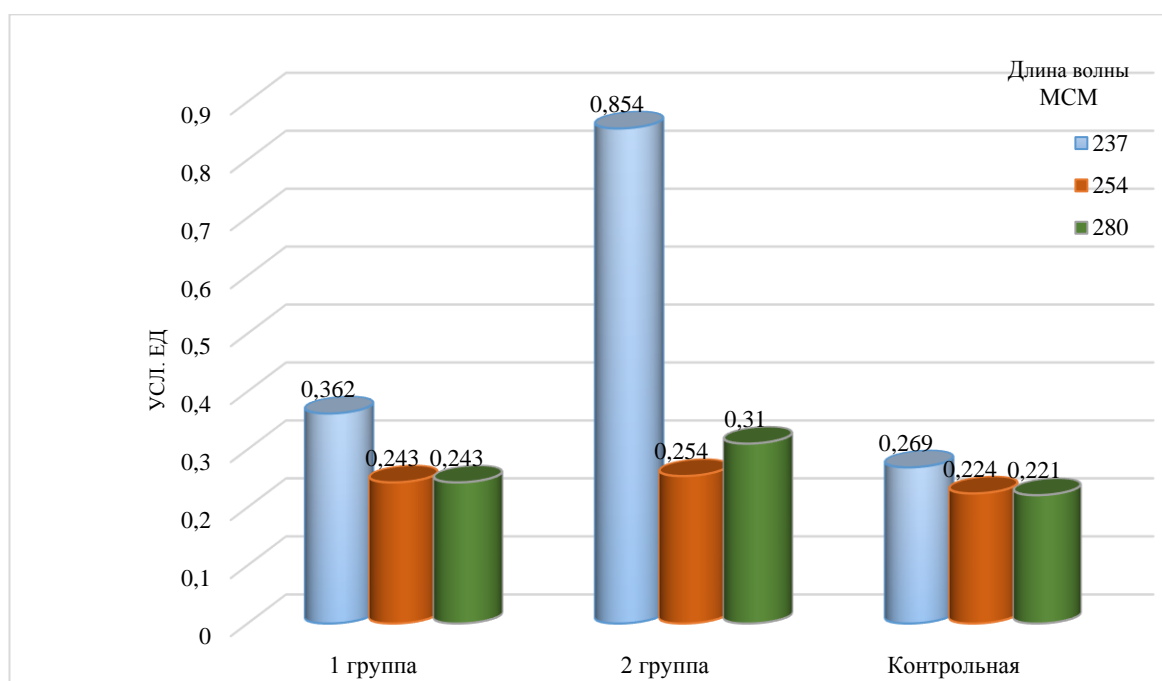


Рис. 14 – Влияние ливазена на уровень молекул средней массы при остром гепатите у крыс

Следует отметить, что среднемолекулярные пептиды имеют различные размеры (их молекулярная масса колеблется от 300 до 5000 дальтон), именно поэтому их измерения проводятся на различных длинах волн. Так, при длине волны МСМ₂₃₇ нм обнаруживаются белки-гистоны, продукты разрушения ДНК, вышедшие из цитозоля в межклеточную среду, лимфоток и кровь при нарушении целостности клеточных мембран. При длине волны МСМ₂₅₄ нм – гидрофобные токсины, обладающие высоким сходством с биологическими структурами, находящиеся в плазме и в практически полностью связанном состоянии в виде комплексов с альбумином или липопротеинами низкой плотности. И, наконец, среднюю концентрацию МСМ₂₈₀ нм содержат ароматические хромафоры.

Оценивая динамику снижения СМ в плазме крови, мы можем сделать заключение, что при остром токсическом гепатите происходит накопление среднемолекулярных пептидов, образовавшихся в результате разрушения клеточных мембран гепатоцитов. Их максимальное снижение после терапии ливазеном подтверждает его гепатопротективное действие, направленное на восстановление целостности оболочки клеток печени.

Таким образом, при остром токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом, ливазен обладает выраженным гепатопротекторным действием. Препарат способствует восстановлению целостности мембран гепатоцитов и их структуры, уменьшая развитие некротических процессов в паренхиме печени (Зотова Т.А., 2017; Сахно Т.А. и др., 2021).

4.4.2 Модель экспериментальной гиперлипидемии у крыс

Диизопропиламмония дихлорацетат, входящий в состав ливазена в качестве действующего вещества, по своей природе имеет сходство с пангамовой кислотой, которая является эффективным метилирующим агентом, активизируя процессы деметилирования и переметилирования фосфолипидов, поступающих в клетки печени. Теряя метильные и фосфатные группы, фосфолипиды превращаются в нейтральные жиры, откладываясь в гепатоцитах и на стенках кровеносных сосудов. И в этом случае, действие пангамовой кислоты направлено на подавление липолиза и холестерогенеза, а также снижения степени жировой инфильтрации, обусловленной развитием жирового гепатоза.

В связи с чем, липотропное действие ливазена изучалось на модели скринингового исследования влияния новых препаратов на липидный обмен (Thompson G.R., 2004) на фоне развития гиперлипидемии у крыс, вызванной введением детергента Твин-80 (Полисорбат-80, Е 433).

Твин-80 представляет собой маслянистую, вязкую жидкость лимонно-желтого цвета, обладает свойствами эмульгатора и солюбилизатора, неионогенное ПАВ (поверхностно активное вещество). Твин-80 является оксиэтилированным сложным моноэфиром ангидрогексавитов жирных кислот.

Эксперимент выполнен на белых нелинейных крысах обоего пола (n= 24) с массой тела 160-210 г, разделенных на четыре группы по 6 особей в каждой:

1 группа – опытная, на протяжении 6 дней крысам внутримышечно вводился ливазен из расчета 0,25 мл/животное;

2 группа – опытная, на протяжении 6 дней крысам внутримышечно вводился ливазен из расчета 0,5 мл/животное;

3 группа – контрольная, на протяжении 6 дней крысам внутримышечно вводился физраствор из расчета 0,5 мл/животное;

4 группа – интактные животные, без введения препаратов.

Гиперлипидемию у крыс первых трех групп моделировали внутрибрюшинным введением Твин-80 в дозе 200 мг/100 г массы тела в 1 мл воды для инъекций на 6 день эксперимента через 1,5 часа после парентерального введения препаратов (ливазена и физраствора).

Четвертая группа служила биологическим контролем для сравнения показателей, полученных в ходе исследования.

Установлено, что клиническое состояние животных всех групп после введения Твин-80 характеризовалось отсутствием аппетита, вялостью, скучностью, слабой реакцией на раздражители, неестественными позами. Однако уже через 6-8 часов у крыс стали проявляться признаки реагирования на внешние раздражители, однако аппетит все еще оставался низким.

Через сутки после затравки детергентом все крысы выводились из эксперимента для оценки морфо-биохимической картины крови.

При экспериментальной гиперлипидемии в гематологических показателях крови подопытных крыс (таблица 24), в сравнении с интактными животными отмечено увеличение сегментоядерных нейтрофилов – в 1,75 (1 опытная группа), 1,53 (2 опытная группа) и 1,88 (контрольная группа) раз на фоне снижения лимфоцитов на 31,3; 23,5 и 40,2 % соответственно. При этом общее количество лейкоцитов по группам сохранялось в пределах видовой нормы. То есть, основные изменения отмечались внутри лейкограммы, обуславливая нейтрофилию со сдвигом вправо при одновременном развитии лимфоцитопении.

Следует отметить, что лейкоцитарная формула является интегральным показателем гомеостаза крови и ее изменения отражают достаточно быстрое реагирование защитных и адаптационных механизмов организма на любые негативные воздействия, обуславливая лейкоцитарную перестройку. В этом случае, рассматривая введение Твин-80 не только как причину развития липидоза, но и как острый стрессовый фактор, нам было интересно оценить неспецифическую адаптационную реакцию организма лабораторных животных путем расчета индекса напряженности адаптации (Гаркави Л.Х. с соавт., 1990).

Таблица 24 – Гематологические показатели крови крыс при экспериментальной гиперлипидемии, вызванной Твин-80 и применении ливазена ($M \pm m$; $n=6$)

Показатель	Группа			
	1 опытная	2 опытная	3 контрольная	4 интактная
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,61±0,13	7,39±0,21	6,77±0,17	6,66±0,20
Лейкоциты, $10^9/л$	7,9±0,27	7,2±0,09	6,85±0,35	6,1±0,
Гемоглобин, г/л	123,0±2,0	147,0±2,0	145,0±3,0	138,0±10,0
Лейкоцитарная формула, % эозинофилы	0	0	1,0±0,02	0,5±0,01
сегментоядерные нейтрофилы	50,3±1,5	43,7±1,0*	53,9±0,5	28,6±7,0
лимфоциты	45,6±2,5	50,8±1,5**	39,7±0,5**	66,4±7,0
моноциты	4,1±1,0	5,5±0,5	5,4±1,0	4,5±0,5

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ в сравнении с интактной группой

При анализе индекса Гаркави установлено, что в опытных группах его значение составило 1,1 и 0,86, тогда как в группе контрольных крыс величина индекса колебалась в пределах 1,35.

Согласно диапазону норм адаптационного показателя, рассчитанного для основных видов лабораторных животных, критическое предстрессовое значение показателя индекса Гаркави для белых крыс составляет 1,6.

Таким образом, введение детергента Твин-80 вызывает в лейкоцитарном профиле крыс развитие нейтрофильного лейкоцитоза и лимфопению как результат низкого показателя механизмов, формирующих адаптационный ответ организма, который был наиболее выражен в контрольной группе животных.

При оценке биохимической картины крови подопытных животных отмечается изменение ряда показателей, характеризующих, в первую очередь, липидный обмен (таблица 25).

Таблица 25 –Биохимические показатели крови крыс при экспериментальной гиперлипидемии, вызванной Твин-80 и применении ливазена (M±m; n=6)

Показатель	Группа			
	1 опытная	2 опытная	3 контрольная	4 интактная
Белок общий, ммоль/л	69,3±2,83	68,03±3,62	77,4±5,23	70,67±1,51
Глюкоза, ммоль/л	5,57±0,65*	5,07±0,42	8,23±0,96**	4,77±0,32
Мочевина, ммоль/л	7,2±0,55	7,23±0,32	7,83±0,28	8,13±0,15
Холестерин, ммоль/л	7,2±0,32	6,11±0,2**	11,1±0,35***	1,93±0,19
Триглицериды, ммоль/л	2,16±0,08***	1,7±0,16*	2,9±0,17	0,67±0,04
ЛПНП, ммоль/л	2,873±0,20 *	2,610±0,11**	4,51±0,12 *	0,630±0,02
ЛПВП, ммоль/л	1,530±0,06 **	1,477±0,10	1,620±0,067	0,813±0,03
АсАт, ЕД/л	219,0±17,1**	202,67±11,8	293,67±7,62	148,3±6,55
АлАт, ЕД/л	157,0±5,9	125,0±8,34	209,33±6,19**	85,0±2,65
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	528,0±13,05	448,0±16,5	599,33±10,5	489,7±9,5
Амилаза, ЕД/л	455,0±9,14	693,33±8,31*	286,0±10,25*	677,7±9,8
Креатинин, мкмоль/л	42,2±0,12	45,07±4,11	54,87±2,25	47,93±0,78
Билирубин общий, мкмоль/л	9,8±0,87	8,13±0,15	10,2±0,46*	7,67±0,57
Билирубин прямой, мкмоль/л	3,77±0,55	2,33±0,12*	3,97±0,62	2,2±0,29

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ в сравнении с интактной группой

Как видно из представленных данных, в сыворотке крови крыс, подвергнутых твиновой гиперлипидемии, отмечено увеличение показателей липидного обмена – холестерина и триглицеридов, что характеризовалось достоверным развитием гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии в организме животных (рис. 15).

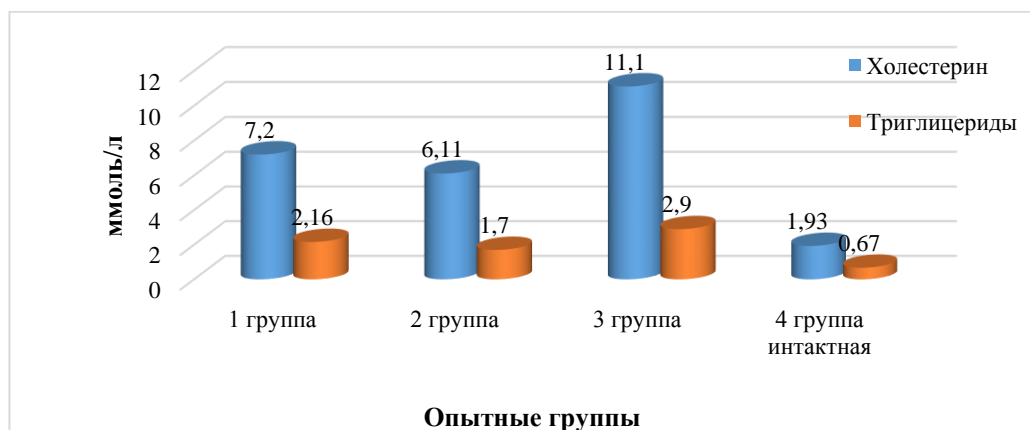


Рис. 15 – Влияние Твин-80 на показатели липидного обмена у крыс на фоне введения ливазена

Синтез холестерина, главным образом, происходит в печени. Он участвует в создании клеточных структур, производстве гормонов и стероидов, поглощает жирорастворимые витамины, является источником запаса энергии, трансдукции сигналов. Холестерин и триглицериды в комплексе с белками образуют липопротеиды, которые переносятся вместе с током крови. Плотность липопротеидов различная: выделяют: хиломикроны (ХМ), липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды промежуточной плотности (ЛППП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП).

Для гиперлипидемии характерно повышение концентрации в крови холестерина ЛПНП, триглицеридов и снижение холестерина ЛПВП. Холестерин ЛПНП считается «плохим» потому что, накапливаясь образует бляшки на стенках артерий, сужая их просвет, тогда как холестерин ЛПВП считается «хорошим», так как способствует удалению из крови ЛПНП.

В нашем случае, повышение холестерина относительно значений интактных грызунов в первой опытной группе составило 3,73 раза, во второй опытной группе – 3,16 раза, а в группе контрольных аналогов – 5,75 раза.

Внутрибрюшинное введение детергента привело к резкому возрастанию в крови уровня нейтральных жиров (в первой группе – в 3,2 раза, во второй группе – в 2,5 раза и в группе контроля – в 4,3 раза).

Однако превентивное инъекционное введение ливазена позволило в опытных группах снизить признаки дислипидемии. Различия между опытными и контрольной группами по холестерину составили 2,02 и 2,6 раза, по триглицеридам – 1,1 и 1,8 раза. В группах с терапией произошло значительное снижение ЛПНП: в первой – на 36,3 %, во второй – на 42,13 % относительно показателей группы контроля.

При этом, в условиях острой твиновой липидопатологии наиболее выраженный эффект показателей липидного обмена в сыворотке крови наблюдался при внутримышечном введении ливазена в дозе 0,5 мл/животное.

Внутрибрюшинное введение Твин-80 оказало влияние и на другие биохимические константы сыворотки крови. Под действием токсиканта произошло увеличение общего билирубина – на 27,7; 6,0 и 32,9 %, причем, в основном за счет прямого билирубина, уровень которого значительно вырос в первой опытной группе (на 71,3 %) и группе контроля (на 80,0 %).

Существенные изменения отмечены по ферментной активности. Значения трансаминаз в подопытных группах относительно интактных аналогов в сторону увеличения составили 47,6; 36,2 и 98,0 % (АсАТ) и 1,84; 1,47 и 2,46 раза (АлАТ). Уровень щелочной фосфатазы превосходил значения здоровых крыс только в первой опытной группе – на 7,8 % и в группе контрольных грызунов – на 22,4 % (рис. 16).

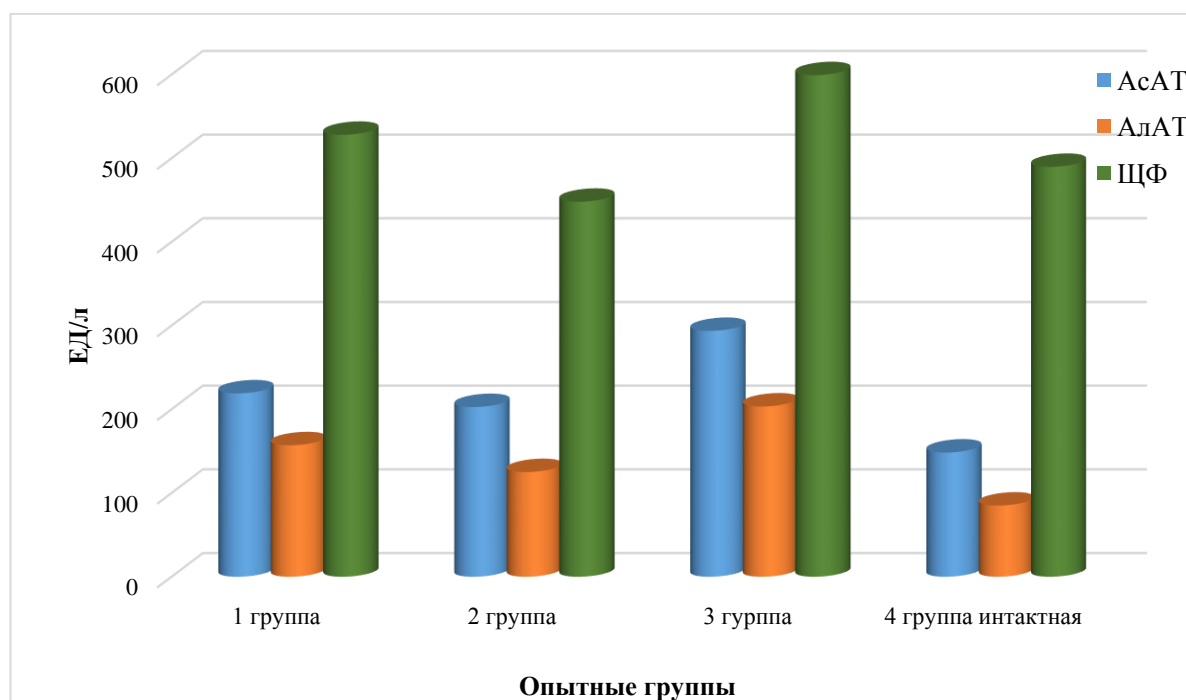


Рис. 16 – Влияние ливазена на уровень ферментов печени крыс через 24 часа после введения Твин-80

В опытных группах концентрация глюкозы превышала показатели интактных крыс на 16,8 и 6,2 % соответственно, сохраняясь, тем не менее, в пределах референсных значений нормы, тогда как у контрольных животных под действием Твин-80 произошло значимое возрастание (на 72,5 %) глюкозы в крови.

Таким образом, можно констатировать, что острая твиновая липидопатология вызывает серьезные изменения в обменностабилизирующих процессах печени, затрагивая не только жировой обмен, но и оказывая негативное влияние на общий метаболизм организма животных.

При этом фармакологическая поддержка ливазеном оказала положительное влияние на печень, улучшая синтезобразующие функции гепатоцитов и потенцируя их липолитическую активность, более выраженную в группе крыс, получавших дозу препарата 0,5 мл/животное.

Исследование маркеров эндотоксикоза в крови подопытных крыс при острой твиновой гиперлипидемии оценивали путем определения уровня среднемолекулярных пептидов (таблица 26, рис. 17).

Таблица 26 – Влияние ливазена на уровень эндогенной интоксикации при гиперлипидемии, вызванной Твин-80 ($M \pm m$; $n=6$)

Показатель	Группа			
	1 опытная	2 опытная	3 контрольная	4 интактная
МСМ ₂₃₇ , усл.ед.	0,696±0,008	0,689±0,016	0,707±0,016*	0,631±0,008
МСМ ₂₅₄ , усл.ед.	0,208±0,012	0,199±0,003**	0,232±0,007	0,227±0,002
МСМ ₂₈₀ , усл.ед.	0,212±0,007**	0,194±0,008**	0,270±0,003	0,263±0,002

Степень достоверности – * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ в сравнении с интактной группой

Установлено, что Твин-80 вызывает повышение в крови МСМ, образовавшихся в результате формирования связанных комплексов с альбуминами и липопротеинами низкой плотности, а также ароматических хроматофоров (остатков ароматических – триптофан, тирозин, фенилаланин, гетероциклических (гистидин) и серосодержащих (цистин) аминокислот), регистрируемых на длинах волны 254 и 280 усл. ед. Однако введение ливазена позволило снизить степень эндотоксикоза у крыс опытных групп, у которых концентрация молекул средней массы при длине волны 254 усл. ед. была ниже аналогичных показателей группы контроля на 10,3 % (1 опытная группа) и 14,2 % (2 опытная группа), а при длине волны 280 усл. ед. – на 21,5 и 28,1 % соответственно.

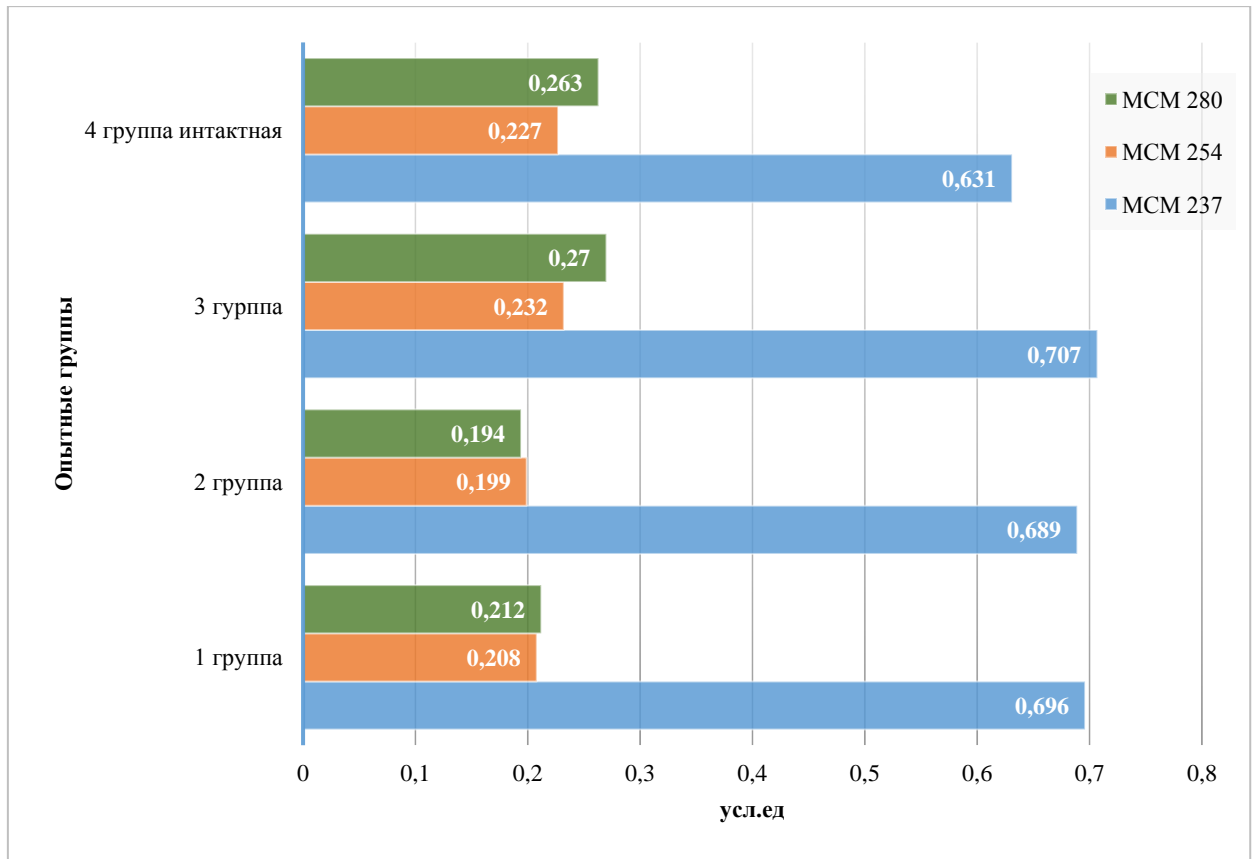


Рис. 17 – Влияние ливазена на уровень эндогенной интоксикации при гиперлипидемии, вызванной Твин-80

На основании проведенных исследований можно заключить, что, введение крысам с экспериментальной гиперлипидемией препарата ливазен сопровождается снижением интенсивности липолиза, улучшением гомеостатического баланса крови и снижением процессов эндотоксикоза в организме опытных животных (Сахно Т.А., Семененко М.П., Кузьминова Е.В., Семененко К.А., 2021).

4.5 Бактериостатическое и бактерицидное действие ливазена

Задачей современной ветеринарной фармакологической науки является создание новых высокоэффективных и безопасных препаратов. При этом при разработке лекарственных средств и, в особенности, инъекционных форм, необходимым условием является оценка микробиологических рисков и возможностей самого препарата, помимо основного действия, оказывать опосредованное специфическое антимикробное действие (Сбоев Г.А., Краснюк И.И., 2006).

Поскольку в состав препарата ливазен входит этиловый спирт, обладающий антимикробными свойствами в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий, предстояло выяснить, способен ли сам препарат и его действующее вещество дипромоний-М проявлять антимикробную активность, подавляя рост отдельных видов бактерий и грибов. Однако следует отметить, что наибольшее бактерицидное действие этилового спирта наблюдается при концентрации 60-75 % (Шикова Ю.В. и др., 2014; Толкач Н.Г., Ятусевич И.А., Петров В.В., Николаенко И.Н., 2013), тогда как в препарате ливазен концентрация спирта составляет всего 17,5 %.

В связи с чем, наличие бактерицидной и бактериостатической активности препарата ливазен и его субстанции было проведено в тех же условиях, что и тестирование на микробиологическую чистоту, с использованием тест-культур, применяемых для проверки ростовых свойств на питательных средах.

Изучение бактериостатической активности препарата ливазен проводили методом двукратных разведений в жидкой питательной среде (МПБ). Для определения чувствительности препарата к микрофлоре, в расставленные в штатив пробирки, разливалось по 2 см³ мясопептонного бульона. При этом количество пробирок определялось необходимым диапазоном разведения МПБ (по 10 в ряду) с одной дополнительной пробиркой для постановки «отрицательного контроля», в которую было внесено 2 см³ ливазена. После тщательного перемешивания мерной пипеткой из первой пробирки во вторую переносилось 2

см³ жидкости, после перемешивания такое же количество смеси переносилось из второй в третью, и т. д. до девятой пробирки, из которой 2 см³ смеси выливалось для сохранения одинакового объема жидкости во всех пробирках. Десятая пробирка, не содержащая препарат ливазен, служила контролем роста культур микроорганизмов (Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. М., 2004).

Затем во все пробирки вносилось одинаковое количество взвеси тест-культуры, после чего во все 10 пробирок добавлялось по 0,2 см³ смыва суточной культуры, содержащей в 1 см³ 10⁵-10⁶ микробных тел.

В течение 18-24 часов осуществлялась инкубация пробирок при температуре +37°C. Результаты учитывали путем определения наличия или отсутствия роста культуры в среде. Последняя пробирка с задержкой роста (прозрачный бульон) соответствовала МПК (минимальной подавляющей концентрации) препарата в отношении испытуемого штамма, указывая на степень его чувствительности. При помутнении среды во всех пробирках делается заключение, что испытуемая культура устойчива к максимально взятой в опыт концентрации препарата. Отсутствие роста во всех пробирках, кроме контрольной свидетельствует о том, что МПК препарата в отношении культуры ниже используемой концентрации (таблица 27).

Таблица 27 – Бактериостатическая активность препарата ливазен

Культуры	Концентрация ливазена, мг/см ³									
	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,19	0,097
<i>E.coli</i> A20/157	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>Sal. dublin</i>	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>St. aureus</i>	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Str. uberis</i>	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» – отмечен рост культуры; «–» – нет роста культуры.

Согласно результатам проведенных исследований, ливазен обладает незначительной антимикробной активностью в отношении эталонных штаммов

E. coli, *Sal. dublin*, *P. mirabilis*, *St. aureus*, *Str. uberis* – в концентрации 25 мг/см³, *P. aeruginosa* – 12,5 мг/см³.

Для определения бактерицидной концентрации из 2-3 последних пробирок с отсутствием видимого роста был произведен посев на МПБ с последующим инкубированием в течении 24-48 часов при +37°C±0,5°C.

Через 24 часа после посева отмечалось отсутствие роста во всех пробирках с концентрацией препарата 50 мг/см³. В пробирке с культурой *P. aeruginosa* задержка роста была отмечена при концентрации 25 мг/см³.

Поскольку препарат ливазен является инъекционной формой диизопрпиламмония дихлорацетата при его модификации в процессе технологического получения дипромония-М, нами представлялось интересным изучить антимикробную активность самой субстанции (дипромония-М) относительно эталонных штаммов *St. Aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC25922, *Ps. Aeruginosa* ATCC 27853 и *Pr. mirabilis* кат. 160144.

Разведение препарата проводили в питательной среде от концентрации 100 мг/см³. Результаты представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Бактериостатическая активность препарата дипромоний-М

Культуры	Концентрация дипромония-М, мг/см ³									
	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,19	0,097
<i>E.coli</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>St. aureus</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. aeruginosa</i>	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» – отмечен рост культуры; «–» – нет роста культуры.

Согласно результатам проведенных исследований, препарат дипромоний-М обладает незначительной антимикробной активностью в отношении эталонных штаммов *E.coli* и *St. aureus* в концентрации 50,0 мг/мл, *Pr. mirabilis* – в концентрации 25,0 мг/мл и *Ps. aeruginosa* – 12,5 мг/мл.

Изучение микробного обсеменения препарата ливазен проводилось методом серийных разведений с последующим посевом на элективные питательные среды. Нами было установлено, что исследуемый образец препарата был обсеменен культурой *S. albus*. Рост культуры белого стафилококка выявлен при концентрации препарата в питательной среде 3,125 мг/см³. В концентрациях 50-6,25 мг/см³ ливазен ингибировал рост культуры-контаминанта.

Таким образом бактериостатическая концентрация препарата ливазен для *E.coli*, *Sal. dublin*, *P. mirabilis*, *St. aureus*, *Str. Uberis* составляет 25 мг/см³, а *P. aeruginosa* – 12,5 мг/см³.

При концентрации 50 мг/см³ препарат обладает бактерицидным действием для *E. coli*, *Sal. Dublin*, *P. mirabilis*, *St. aureus*, *Str. uberis*, а *P. aeruginosa* – 25 мг/см³.

Ливазен способен губительно действовать на бактерии *P. aeruginosa*. Свойства препарата связаны с входящим в его состав этиловым спиртом. Он не дает возможность развиваться патогенной микрофлоре даже при четырехкратном разведении, губительно действуя на бактерии синегнойной палочки (Сахно Т.А., Семенов М.П., Семенов К.А., 2020).

4.6 Влияние ливазена на уровень эндогенной интоксикации

В медицинской практике в последние годы большое внимание уделяется изучению молекул средней массы (МСМ) или среднемолекулярных пептидов (СМП) (Громышевская Л.Л., 1997; Липатова В.И., 1984).

МСМ – биологически активные вещества пептидной природы, а также производные олигоспиртов и глюкуроновой кислоты, имеющие различное происхождение. Их химический состав неоднороден и объединяет гетерогенную группу веществ. Он включает пептиды, гликопептиды, нуклеопептиды, эндорфины, аминокислоты, полиамины, многоатомные спирты, некоторые гумораль-

ные регуляторы – инсулин, глюкагон, некоторые витамины, нуклеотиды, олигосахариды, производные глюкуроновых кислот и другие (Симбирцев С.А., Беляков Н.А., 1986; Краковский М.Э., Ашарметов А.А. 1989).

Именно среднемолекулярные пептиды, образующиеся в процессе протеолиза в поврежденных тканях, а также в самой плазме при выходе в кровь протеолитических ферментов и являются основным субстратом, ответственным за возникновение патологических эффектов эндогенной интоксикации при различных заболеваниях. Их накопление является не только маркером эндотоксикации, но и, в дальнейшем, может усугубить течение патологического процесса, оказывая влияние на жизнедеятельность всех систем и органов.

В ветеринарной медицине определение средних молекул практически не изучено, хотя их своевременное обнаружение в крови животных может дать большое диагностическое значение и служить прогностическим критерием оценки тяжести патологического процесса и являться маркером эффективности проводимого лечения и прогноза заболевания.

Поэтому целью нашего исследования явилось оценка уровня молекул средней массы в крови стельных и новотельных коров до и после введения препарата ливазен. Опыт проведен в ООО «Агрофирма Кубань» Северского района Краснодарского края.

Для изучения противотоксических свойств препарата ливазен при эндогенной интоксикации было сформировано четыре группы животных по 5 голов в каждой – две опытные и две контрольные. Первая опытная группа – животные, находящиеся на пятом месяце стельности, вторая опытная – новотельные коровы. Животным опытных групп ливазен вводился внутримышечно в профилактической дозе в соотношении 1:5 (1 часть препарата (2 мл) и 5 частей стерильного физиологического раствора (10 мл) в течение 14 дней. Контрольным группам животных с учетом способа введения в тех же дозах применялся физиологический раствор.

Оценка результатов проводилась по динамике холестерина и молекул средней массы, для чего в начале эксперимента и по его окончанию у всех коров, отобранных в опыт, производился забор крови. Известно, что в период стельности происходят значительные изменения в липидном обмене, поэтому изучение холестерина служит важным биохимическим показателем для оценки уровня эндогенной интоксикации организма.

Для количественного определения содержания МСМ обычно проводят измерение экстинкции растворов при 254 и 280 нм, учитывая, что максимум поглощения света нуклеиновыми кислотами – 260 нм. Светопоглощение при длине волны 280 нм заключается в больших различиях содержания ароматических аминокислот (тирозина, триптофана и фенилаланина) в составе отдельных белков анализируемой пробы.

Анализ результатов биохимического исследования сыворотки крови установил, что введение коровам ливазена оказало значительное влияние на показатели холестерина и МСМ (таблица 29).

Таблица 29 – Влияние ливазена на уровень холестерина и среднемолекулярных пептидов в организме коров ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Стельные коровы			
	Начало опыта		Конец опыта	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Холестерин, ммоль/мл	6,3±0,2	4,9±0,2	5,0±0,29	5,7±0,05
МСМ ₂₅₄ , усл. ед.	0,20±0,0**	0,26±0,01	0,18±0,01**	0,24±0,0
МСМ ₂₈₀ , усл. ед.	0,17±0,01**	0,23±0,01	0,15±0,01**	0,22±0,01
Показатели	Новотельные коровы			
	Начало опыта		Конец опыта	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Холестерин, ммоль/мл	5,6±0,35	4,1±0,2	4,7±0,1	4,6±0,30
МСМ ₂₅₄ , усл. ед.	0,26±0,01	0,24±0,0	0,25±0,01	0,24±0,01
МСМ ₂₈₀ , усл. ед.	0,23±0,01	0,22±0,02	0,23±0,02	0,23±0,02

Степень достоверности: ** $p \leq 0,01$ по отношению к контрольной группе

Так, концентрация холестерина в первой опытной группе снизилась на 21,0 % относительно фоновых значений, во второй опытной группе – на 15,9 %

соответственно. Тогда как в контрольных группах, напротив, произошло увеличение данного показателя на 16,3 % и 12,2 %.

Показатель молекул средней массы с начала исследований в первой опытной группе снизился, в зависимости от длины экспозиции на 10,0 % и 11,8 % что, объективно указывает на снижение интенсивности катаболических процессов, являющихся основным источником среднемолекулярных эндогенных токсинов и улучшение функционирования интегральных (детоксикационных) систем организма, отражающих динамику метаболических сдвигов в сторону улучшения. Уровень средних молекул в опытной группе новотельных коров при длине экспозиции 254 усл. ед. снизился на 4,0 %, не изменившись при длине волны 280 усл. ед. Возможно, в этом случае, применение препарата стабилизировало протекание биохимических реакций в организме, обеспечивая его нормальное функционирование.

Уровень СМП в контрольных группах претерпел изменения только у стельных коров. В конце экспериментального периода произошло их снижение (на уровне тенденции) на 7,7 % и 4,3 % в зависимости от длины экспозиции. У новотельных животных данные показатели остались практически неизменными, либо незначительно выросли (на 4,5 % при длине волны 280 усл. ед.).

Таким образом, спектр фармакологической активности препарата ливазен проявляется снижением уровня средних молекул и, прежде всего, пептидов с более низкой молекулярной массой, приводя, тем самым, к уменьшению выраженности эндогенного («метаболического») токсикоза у крупного рогатого скота. При этом наиболее выраженное действие препарата наблюдается у животных в период беременности, когда в организме происходит усиление липидного обмена, тогда как в послеродовой период отмечается его регрессия, поэтому уровень эндогенной интоксикации может уменьшаться за счет внутренних процессов самого организма (Зотова Т.А., Семенов М.П., 2017).

4.7 Лечебно-профилактическая эффективность ливазена при гепатозах коров

4.7.1 Лечебная эффективность

Исследования по изучению терапевтических свойств препарата проведены в условиях ОАО «Кубань» Новопокровского района, на коровах голштинской породы в возрасте 3-5 лет в период сухостоя с признаками жирового гепатоза. Диагноз ставился на основании клинического обследования животных, биохимического исследования сыворотки крови и УЗИ-диагностики.

Обследование коров проводилось по общепринятой схеме, при этом особое внимание обращалось на окраску слизистых оболочек, состояние шерстного покрова, частоту пульса и дыхания, количество сокращений рубца, а также пальпацию и перкуссию печени для установления границ печеночного притупления, характера поверхности и чувствительности органа.

При клиническом обследовании было установлено, что у животных наблюдалось общее угнетение, мышечная слабость, прогрессирующее исхудание, на фоне понижения продуктивности, снижение аппетита, расстройства преджелудков и желудочно-кишечного тракта. На слизистых оболочках и склере глаз выявлялась желтушность, а также отдельные точечные кровоизлияния различной степени. Волосной покров без блеска. Температура тела была нормальной или несколько пониженной (36,7-37,9°C).

При перкуссии области печени отмечалась болезненность, в большинстве случаев – увеличение задней перкуторной границы. При этом границы в 12-м межреберье доходили до уровня линии седалищного бугра или до уровня $\frac{1}{2}$ лопатки, в 11-м межреберье – до уровня $\frac{2}{3}$ лопатки.

При аускультации рубца в середине голодной ямки у больных животных отмечалась атония, непродолжительное время прослушивался слабый звук «шелеста» (Семененко М.П., Кузьминова Е.В., Зотова Т.А. с соавт., 2017).

При вынужденном убое больных животных отмечалось увеличение печени в размере, орган был глинистого цвета, с жирным налетом, ткань печени непрочная, легко рвалась.

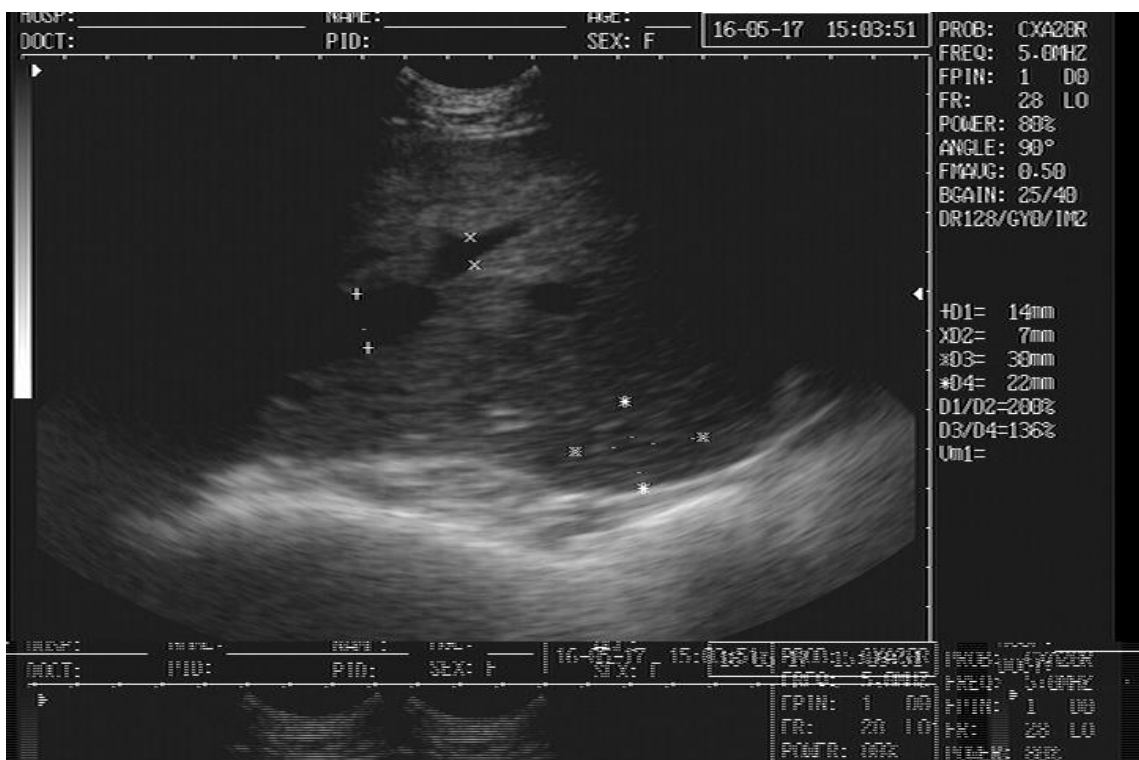
Ввиду того, что подобная симптоматика не является строго патогномоничной, а участие печени в метаболизме характеризуется теснейшим переплетением биохимических процессов, для выяснения степени обменных нарушений у обследуемых коров отбиралась кровь с последующим биохимическим исследованием.

Биохимические показатели сыворотки крови характеризовались длительно сохраняющимися метаболическими нарушениями гомеостаза животных. Показатели белкового обмена отличались гипопроотеинемией (у 50 % животных) на фоне выраженной диспротеинемии, которая в 20 % случаев была обусловлена снижением количества альбуминов, в 100 % случаев – гипергаммаглобулинемией, при которой уровень γ -глобулинов был повышен в 1,54 раза по сравнению с показателями здоровых животных. У всех животных отмечалось нарушение коллоидной стойкости белков сыворотки крови, что проявлялось увеличением показателя тимоловой пробы, позволяющей диагностировать «синдром воспаления» печеночной паренхимы, сопровождающий поражения гепатоцитов.

Выявляемая дисферментемия в 60 % случаев была обусловлена повышением активности АсАт (на 30,5 %) и АлАт (на 46,7 %), а в 90 % – щелочной фосфатазы, которая составила, в среднем, $241,5 \pm 31,9$ ЕД, превышая предельные границы нормы в 1,59 раза. Повышение уровня билирубина в крови (в 1,76 раза) было типичным для синдрома нарушения целостности гепатоцитов, являющегося неизбежным спутником жирового гепатоза.

Массовый характер имело снижение каротина до следовых концентраций ($0,07 \pm 0,01$ мг%) в крови, обусловленное недостаточным обеспечением рационов и общими обменными нарушениями (Семененко М.П., Кузьмина Е.В., Зотова Т.А. с соавт., 2017).

Результаты УЗИ-исследования показали следующее: печень увеличена, края долей неровные, смазаны, плохо отграничивающиеся от окружающих тканей. Отмечены очаги жировой дистрофии от 3х4 до 30х22 мм, которые хорошо визуализируются (фото 1-4).



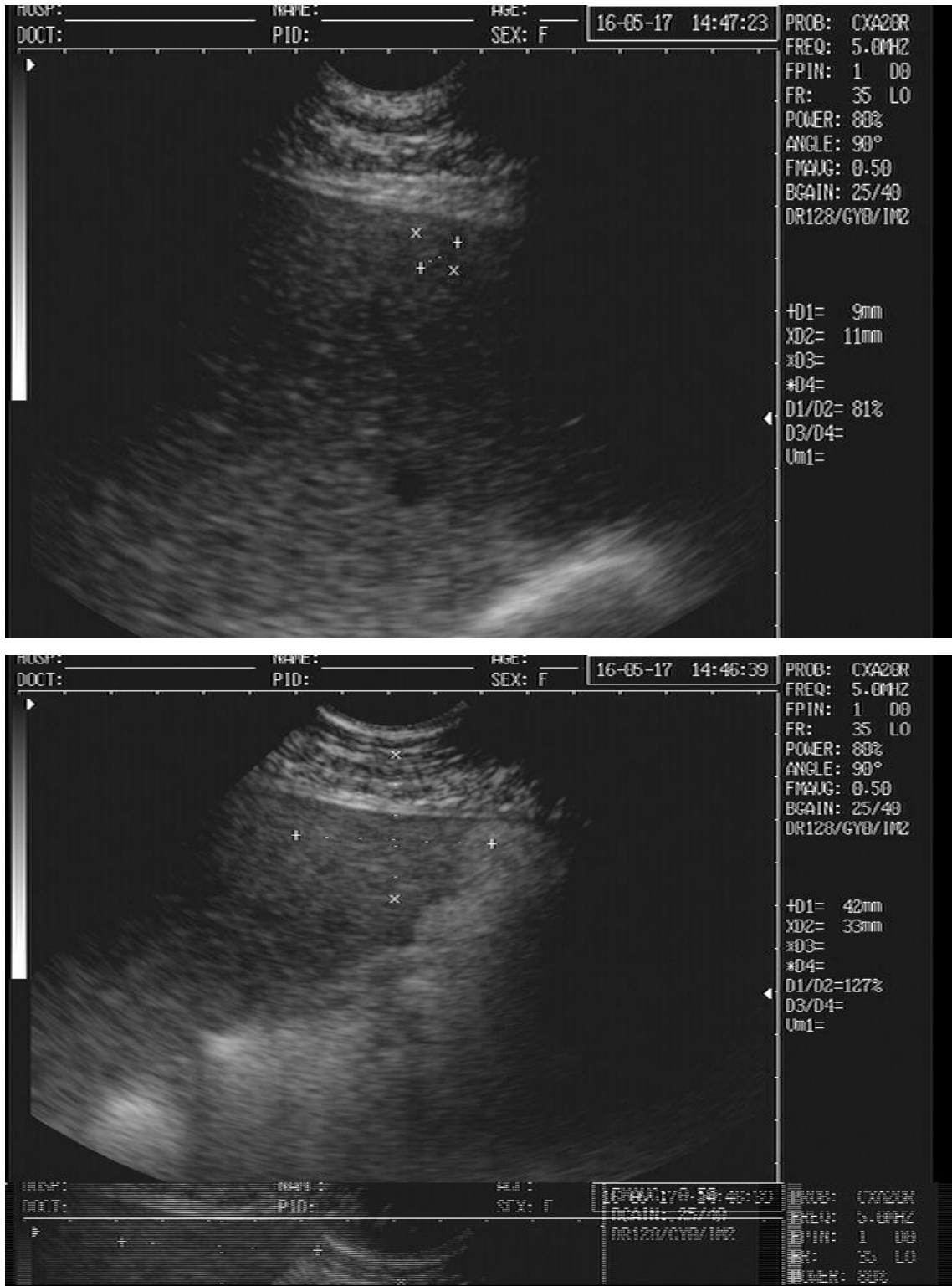


Фото 1-4 – Мелкоочаговые уплотнения в паренхиме печени,
очаги жировой дистрофии

Эхоструктура имела пеструю картину, паренхима печени была неравномерно, мелкоочагово уплотнена, участки нормальной эхогенности паренхимы чередовались с повышенной эхогенностью (фото 5).



Фото 5 – Неравномерная эхогенность паренхимы печени

Таким образом, комплексом клинических исследований у коров были установлены серьезные поражения печени, сопровождающиеся чрезвычайно широким спектром обменных нарушений.

Для проведения эксперимента по принципу парных аналогов было сформировано две группы по 15 животных в каждой (контрольная и опытная). Первой группе препарат ливазен вводился внутримышечно в соотношении 1:5 (4 мл препарата и 20 мл стерильного физиологического раствора) в заднебедренные группы мышц ежедневно в течение 21-го дня. Контрольной группе в том же объеме инъецировали 24 мл стерильного физиологического раствора.

Клиническое состояние за подопытными животными проводилось ежедневно, биохимические исследования сыворотки крови – на 14 и 21 дни экспериментального периода. Кроме того, в ходе исследования проводилась регистрация всех нежелательных явлений для оценки безопасности применения препарата животным.

Установлено, что ежедневное введение большого объема препаратов (как в опыте, так и контроле) приводило к стрессовому состоянию у коров,

проходившему в течение первых 30 минут после инъекции и небольшой болезненности при пальпации в месте введения.

Анализ результатов биохимического исследования сыворотки крови установил, что введение коровам ливазена оказало значительное влияние на ряд показателей (таблица 30).

Таблица 30 – Биохимические показатели сыворотки крови животных при лечении ливазеном ($M \pm m$; $n=5$)

Показатель	Группы				
	Фон	На 14-й день исследований		На 21-й день исследований	
		контроль	опыт	контроль	опыт
Белок, г/л	63,7±4,3	65,4±3,1	69,9±1,25	68,4±1,8	80,45±2,9*
Альбумины, %	32,4±0,8	31,5±0,5	36,03±1,13	33,9±1,3	41,2±0,5
α-глобулины, %	17,2±0,86	20,7±2,0	15,7±1,93	11,15±0,15	16,8±1,25
β-глобулины, %	4,2±0,7	3,8±0,56	7,31±0,72	11,75±0,18	4,4±0,62
γ-глобулины, %	46,2±1,1	44,0±2,2	40,9±0,65	43,2±1,5	37,6±2,42
Тимоловая проба	+	+	+	+	–
Глюкоза, ммоль/л	2,2±0,04	2,2±0,1	2,08±0,05	2,05±0,05	2,48±0,09
Мочевина, ммоль/л	3,15±0,54	3,4±0	5,3±0,16	4,05±0,25	7,23±0,96*
Холестерин, ммоль/л	3,3±0,09	2,85±0,05	4,4±0,5	3,0±0,1	4,7±0,38
АсАт, Ед	123,5±5,3	101,0±9,0	105,0±4,49	96,8±5,04	77,0±8,0
АлАт, Ед	51,3±1,7	49,5±0,5	41,3±1,49	40,5±1,5	30,0±1,78*
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	241,5±6,8	226,5±4,5	191,8±22,1	229,5±1,5	140,7±8,9*
Кальций общий, ммоль/л	2,36±0,14	2,2±0	2,23±0,12	2,1±0,03	2,18±0,05
Фосфор неорганический, ммоль/л	1,19±0,06	2,15±0,05	1,7±0,21	2,2±0,07	2,0±0,17
Триглицериды, ммоль/л	0,15±0,02	0,12±0,01	0,18±0,02	0,11±0,01	0,12±0,01
Общий билирубин, ммоль/л	9,07±0,72	8,9±0,05	5,28±0,25	7,05±0,05	4,86±0,08*
Креатинин, мкмоль/л	94,3±3,14	88,55±2,65	101,75±4,51	86,25±1,95	87,85±5,3
Хлориды, ммоль/л	88,3±2,7	86,05±4,05	86,28±1,81	83,65±3,05	95,9±6,03
Каротин, мг %	0,07±0,0	0,23±0,07	0,35±0,03	0,24±0,02	0,47±0,03*

Степень достоверности * $p \leq 0,05$ в сравнении с группой контроля

По уровню протеинового обмена отмечена положительная динамика с достоверным преимуществом увеличения концентрации общего белка в сыворотке крови опытных животных. Так, в опытной группе этот показатель на 21

день исследований увеличился относительно контрольных аналогов на 17,6 %, относительно фоновых значений – на 26,3 %. Тогда как в контрольной группе уровень общего белка за время эксперимента практически не изменился (повышение на уровне тенденции составило 7,3 %), оставаясь за пределами нижних границ нормы. При этом следует отметить, что динамические изменения в белковом обмене опытных коров происходили неравномерно. В первые две недели введения препарата повышение уровня общего белка регистрировалось в пределах 9,7 % относительно фоновых значений и 6,8 % – относительно животных биологического контроля.

Но уже к концу исследований картина изменилась. С третьей недели показатель белкового обмена у коров, получавших препарат, заметно вырос, достигая увеличения концентрации общего белка на 15,1 %.

Анализ протеинограмм показал существенные изменения от применяемой терапии. Фракция альбуминов увеличилась на 27,2 %, достигнув уровня границ видовой нормы. Отмечена тенденция к снижению γ -глобулинов на 18,6 %. Увеличение уровня альбуминов с одновременным снижением иммуноглобулинов, на наш взгляд, является одним из наиболее важных показателей эффективности гепатопротекторной терапии, поскольку отражает процессы активизации белоксинтезирующей функции клеток печени на фоне ослабления воспалительных процессов.

Тогда как в контрольной группе коров сдвиги в протеинограммах к концу исследования указывали на усиление воспалительной реакции в гепатоцитах и переходе острой стадии некробиотических процессов в хроническую форму, подтверждаемую положительной тимоловой пробой.

На фоне проведения терапии больных хроническим гепатозом коров, наблюдалось достоверное снижение ферментной активности трансаминаз печени при одновременном увеличении этих показателей в группе контроля. К концу эксперимента уровень аспаратаминотрансферазы в опытной группе

снизились в 1,6 раза, аланинаминотрансферазы – в 1,71 раза, относительно фоновых показателей и на 20,4 % и 17,8 % – относительно коров контрольной группы, что свидетельствует об эффективном устранении синдрома цитолиза клеток печени под воздействием препарата.

В результате улучшения метаболических процессов в группе опытных животных наблюдалось повышение уровня мочевины (в 2,29 раза к фону и в 1,78 раза к животным биологического контроля). Тенденция к увеличению уровня мочевины, по всей видимости, связана с усиленным дезаминированием белков в клетках печени.

Достоверно уменьшилась выраженность холестатического синдрома, что характеризовалось снижением активности щелочной фосфатазы в 1,71 раза ($p < 0,05$), общего билирубина – в 1,87 раза. В контроле эти показатели к концу исследований снизились на 5,2 % и 28,6 %.

Уровень глюкозы на фоне проведения базовой терапии был относительно стабильным за весь период наблюдения. Межгрупповых отличий по данному показателю отмечено не было.

Динамика изменения концентрации триглицеридов в опытной группе коров была неравномерной. Максимальные значения данного показателя были зарегистрированы на 14 день исследования, тогда как к концу экспериментального периода их уровень снизился. Причиной значительного снижения уровня триглицеридов в этой группе больных коров является, по всей видимости, восстановление энергетического потенциала клеток печени. Поддержание энергетического уровня обеспечивает сохранность биосинтетических процессов в клетках печени, в том числе, и синтез фосфолипидов, что, в свою очередь, и может определять снижение концентрации триглицеридов в крови. В группе контроля низкие значения триглицеридов прослеживались на протяжении всего опытного периода с тенденцией к их уменьшению на 26,6 % относительно фоновых показателей.

Существенные изменения произошли в обмене каротина. Его концентрация в опытной группе коров на 14 день лечения выросла в 5,0 раз, а к 21 дню – в 6,7 раза. По группе биологического контроля значения к фону составили 3,2 раза и 4,4 раза. Поскольку печень является основным депо каротина в организме и улучшение ее метаболической функции ведет к повышению биотрансформации каротина, с последующим увеличением концентрации сначала в гепатоцитах, а потом и в крови.

При клиническом осмотре у животных была отмечена нормализация работы желудочно-кишечного тракта, улучшение аппетита, двигательной активности. Атония преджелудков не наблюдалась.

Таким образом, ливазен показал выраженную эффективность в коррекции основных синдромов поражения печени у коров, что подтвердилось результатами УЗИ (Семененко М.П., Зотова Т.А. с соавт., 2017).

Через 21 день применения препарата ливазен ультрасонография печени всех опытных животных показала наличие регенеративных процессов в паренхиме (фото 6-7).





Фото 6-7 – Регенерация паренхимы печени

Края печени были ровными, четкими. Эхоструктура органа имела гомогенное строение с одинаковым распределением сигналов по интенсивности с равномерным изображением сосудов. Очагов жировой дистрофии не наблюдалось.

Для определения степени интоксикации организма, как основной характеристики тяжести заболевания, нами были определены количественные показатели содержания веществ средней молекулярной массы (ВСММ) в крови больных животных, обусловленных накоплением в тканях и биологических жидкостях организма продуктов патологического обмена веществ, метаболитов, образовавшихся в результате нарушений регуляторных функций, деструкции клеточных и тканевых структур, разрушения белковых молекул и др. Взятие крови у опытных животных проводили в начале опыта и по его окончанию (таблица 31).

Установлено, что к концу исследований в опытной группе животных показатель веществ средней молекулярной массы (ВСММ) уменьшился, в зависимости от длины экспозиции на 5,1 %, 18,5 % и 31,6 %, что, объективно от-

ражает снижение интенсивности катаболических процессов, являющихся основным источником среднемолекулярных эндогенных токсинов и улучшение функционирования метаболической активности интегральных (детоксикационных) систем организма.

Таблица 31 – Влияние ливазена на уровень эндогенной интоксикации в организме коров ($M \pm m$; $n=5$)

Длина волны	Начало опыта		Конец опыта	
	опытные животные	контрольные животные	опытные животные	контрольные животные
МСМ _{237 нм} , Д.ЭКС	1,04±0,01	0,95±0,02	0,99±0,04	1,05±0,03
МСМ _{254 нм} , Д.ЭКС	0,27±0,01	0,21±0	0,22±0,01	0,2±0,01
МСМ _{280 нм} , Д.ЭКС	0,19±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,12±0,02

Тогда как в контрольной группе коров значения молекул средней массы (МСС) – пептидов, способных оказывать токсическое воздействие и накапливаться в организме, не только не уменьшались, но и в некоторых случаях, возросли. Поскольку уровень ВСММ коррелирует с морфофункциональным состоянием гепатоцитов, скорость снижения МСМ может служить прогностическим критерием оценки тяжести патологического процесса в печени животных и являться маркером эффективности проводимого лечения и прогноза заболевания (Semenenko M.P., Sakhno T.A., 2020).

Таким образом, проведенными исследованиями установлено выраженное терапевтическое действие нового гепатопротекторного препарата ливазена, способствующее улучшению клинического состояния больных животных, восстановлению биохимических показателей крови, проявляемых позитивной тенденцией развития активности маркерных ферментов поражения печени, общих обменных процессов организма, а также восстановлению морфофункционального состояния печени и нормализации физиологического состояния коров (Семененко М.П., Кузьминова Е.В., Зотова Т.А., 2017).

4.7.2 Профилактическая эффективность

В настоящее время в промышленном животноводстве существенно возросла значимость проблемы адаптации молочного скота к условиям их жизнеобеспечения. Внедрение в практику интенсивных технологий производства молока, несоблюдение принципов кормления и содержания животных, приводят к снижению уровня компенсаторно-восстановительных процессов в организме, нарушению общих и специфических обменных реакций, возникновению целого ряда патологических состояний, приводящих к снижению продуктивности молочного скота, рождению нежизнеспособного молодняка и невозможности их дальнейшей эксплуатации.

Расстройство обмена веществ, как правило, сопровождается широким спектром метаболических отклонений и дисфункций со стороны гепатобилиарной системы. Причем, развитие патогенеза гепатозов, проявляется, как совокупность признаков общей неспецифической реакции организма с отсутствием четких клинических признаков заболевания и длительным, скрытым течением.

Именно поэтому, уже на этапе возникновения метаболических и морфофункциональных изменений в клетках печени на фоне ранней диагностики нарушений функций печени, необходимо проводить адекватную фармакопрофилактику, предупреждающую дальнейшее развитие индуцированных повреждений гепатоцитов.

В связи с вышесказанным, нами были проведены исследования по изучению действия ливазена в комплексной системе мероприятий по профилактике гепатозов у стельных и новотельных коров.

Исследования проведены в условиях учебно-опытного хозяйства «Кубань» Кубанского государственного аграрного университета на двух группах коров голштинской породы в возрасте 2-3 лет (1-2 лактации). Первая группа состояла из животных, находящихся на 5-6 месяцах стельности, вторая группа – новотельных коров.

В опыт отбирались животные по физиологическому состоянию, результатам клинического обследования, биохимическому профилю сыворотки крови, а также по показателям эхогенности, ультразвуковой проницаемости, изменениям структуры паренхимы печени при ультразвуковой диагностике печени.

Клиническое обследование коров выявило комплекс общих обменных нарушений, характеризующихся некоторым снижением удоя и упитанности животных. В ряде случаев реакция на внешние раздражители была ослаблена, замедленна, коровы много лежали, неохотно вставая. Аппетит изменчивый, чаще пониженный, жвачка нерегулярная. Динамика рубца, как правило, ослаблена, сокращения вялые, укороченные. Отмечалась матовость и взъерошенность шерстного покрова вдоль позвоночника, а также понижение эластичности кожи, слизистые оболочки бледные с желтушным оттенком. Температура тела в норме или слегка понижена (37,0-37,2°C). Со стороны пищеварительной системы нередко наблюдались поносы. Область печеночного притупления болезненная, может быть увеличена спереди и вниз.

В биохимических показателях сыворотки крови установлено снижение уровня общего белка (до 69,3 г/л) при одновременном снижении уровня β -глобулинов и повышении γ -глобулинов (на 8-14 %). Концентрация глюкозы снижена или находится в пределах нижних значений видовой нормы. Показатель коллоидальной реакции (тимоловой пробы) повышен у 70 % обследованных животных, свидетельствуя о наличии воспалительного процесса в гепатоцитах. На этом фоне, отклонения в содержании гепатоспецифических ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ) не выражены, проявляясь умеренным увеличением концентрации аланинаминотрансферазы (36-42 ЕД/л) на фоне нормального уровня аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы. Однако при этом отмечено увеличение концентрации общего билирубина (до 2,46 раза). Уровень триглицеридов существенно снижен (в 2,5-2,7 раза).

В минеральном обмене установлено нарушение Са:Р соотношения, связанное со снижением уровня кальция. Показатель хлорид-ионов низкий (возможный метаболический ацидоз).

При ультразвукографии коров изображение паренхимы печени характеризовалось выраженной неоднородностью (фото 8).



Фото 8 – Неоднородность паренхимы с визуализированными зернистыми участками

Просматривались отдельные мелкие очажки высокой эхогенности, отражающие склерозирование сосудистой стенки гепатоцитов. В структуре паренхимы по видимому полю визуализировались мелкие зернистые участки, чередующиеся с множеством эконегативных образований, соответствующих расширенным венам и желчным протокам.

В некоторых случаях выявлялись участки пониженной или повышенной контрастности. Печеночный край увеличен, смазан, в отдельных случаях слегка деформирован.

Экспериментальная часть исследований строилась таким образом, чтобы можно было оценить профилактическую эффективность препарата ливазен не только как самостоятельного лекарственного средства, обладающего органоспецифической активностью, но и в комплексной системе профилактики гепатозов у высокопродуктивного молочного скота.

Исследования проведены в двух сериях на коровах различного физиологического состояния:

- животные второго триместра беременности (5-6 месяцы стельности);
- новотельные животные (1-2 недели после отела) (Зотова Т.А., Фомин О.А., 2015).

Каждая серия эксперимента предусматривала следующую схему профилактических мероприятий (таблица 32)

Таблица 32 – Схема научно-хозяйственного опыта (n=40)

Группы	Количество животных	Схема профилактических мероприятий
I – контрольная	10	ОР (основной рацион) + внутримышечно 12 мл физраствора
II – опытная	10	ОР+внутримышечное введение ливазена в соотношении 1:5 к стерильному физиологическому раствору (2 мл препарата и 10 мл физраствора)
III – опытная	10	ОР + внутримышечное введение ливазена в соотношении 1:5 к стерильному физиологическому раствору (2 мл препарата и 10 мл физиологического раствора) + 100 г адсорбента токсинов в корма
IV – опытная	10	ОР + 100 г адсорбента токсинов в корма

Премикс антитоксический гепатопротекторный – комплексный препарат на основе природных алюмосиликатных минералов Кантемировского месторождения Воронежской области, обладающий высокими сорбционными свойствами, а также выраженной антиоксидантной и адаптогенной способностью. Благодаря каталитическим, ионообменным свойствам и биологической активности премикс обеспечивает связывание и нейтрализацию в кормах и же-

лудочно-кишечном тракте экзо- и эндотоксинов, выводит соли тяжелых металлов, снижает токсическую нагрузку на гепатоциты печени, а также нормализует минеральный и стимулирует белково-углеводный обмена.

Длительность экспериментального периода составила 14 дней, в течение которого оценивалось физиологическое состояние животных, показатели клинического и метаболического статуса коров, результаты УЗИ-диагностики. Биохимические исследования сыворотки крови проводились по окончании опытного периода по основным обменным показателям и гепатоиндикаторным ферментам. Кроме того, в качестве прогностического критерия эффективности разработанной системы проводилось определение количественных показателей содержания веществ средней молекулярной массы (ВСММ) в крови подопытных коров как маркера развития эндогенной интоксикации организма животного.

Анализ результатов биохимического исследования сыворотки крови установил, что предложенные схемы применения препаратов коровам оказали значительное влияние на ряд показателей.

4.7.2.1 Влияние на биохимические показатели крови стельных коров

По уровню общего белка установлено достоверное увеличение во всех опытных группах с приоритетом по группе, сочетающей комплексное использование ливазена и антитоксического премикса (таблица 33). Концентрация общего белка в сыворотке коров повысилась на 19,1 %.

В первой опытной группе животных (ливазен), данный показатель увеличился на 16,6 %, тогда как использование одного только премикса способствовало возрастанию белка лишь на 6,1 %. Различия с контрольными аналогами составили 14,7 %, 17,2 % и 4,2 % по группам соответственно.

Подобная тенденция прослеживалась и по содержанию альбуминовой фракции, средние величины которой в опытных группах повысились на 13,8 %, 14,0 % и 8,9 % соответственно в сравнении с начальными показателями.

Таблица 33 – Биохимические показатели крови стельных коров при комплексной профилактике гепатозов ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	контроль	ливазен	ливазен + премикс	премикс
Белок, г/л				
Начало опыта	72,85±3,35	73,37±4,04	74,15±1,20	73,80±3,01
Конец опыта	74,25±2,85	85,57±2,04*	88,34±3,22	78,27±2,82
Альбумины, %				
Начало опыта	38,70±0,8	36,70±3,45	37,03±8,93	38,53±4,07
Конец опыта	40,40±2,9	41,77±1,89	42,23±0,23	41,97±1,5
α-глобулин, %				
Начало опыта	11,9±5,48	12,7±1,41	13,6 ±2,32	8,8±1,86
Конец опыта	12,7±1,5	14,2±1,04	12,63±0,64	12,8±1,09
β-глобулин, %				
Начало опыта	1,9±0,38	7,2±0,85	5,37±1,15	4,87±2,05
Конец опыта	4,9±1,73	9,73±2,29	7,64±2,13	4,06±0,77
γ-глобулин, %				
Начало опыта	47,5 ±4,30	43,4 ±5,22	44,0 ±8,27	47,8±2,52
Конец опыта	42,0±6,20	34,3±4,77	37,5±2,95	41,17±2,58
Мочевина, мМ/л				
Начало опыта	4,8±0,10	4,97±0,44	4,70±0,06	4,93±0,19
Конец опыта	4,05±0,35	5,33±0,6	6,27±2,01	5,23±0,47
Глюкоза, мМ/л				
Начало опыта	3,2±0,2	3,57±0,15	3,37±0,07	3,53±0,29
Конец опыта	2,95±0,15	3,08±0,35	3,6±0,35	3,6±0,15
Тимоловая проба				
Начало опыта	+	+	+	+
Конец опыта	+	-	-	+
Холестерин, мМ/л				
Начало опыта	4,9±0,2	4,33±0,22*	4,87±0,07	4,10±0,46
Конец опыта	3,75±0,25	5,4±1,01***	4,83±0,57	4,57±0,30
Кальций, мМ/л				
Начало опыта	2,25±0,15	2,27±0,23	2,27±0,13	2,50±0,15
Конец опыта	2,05±0,15	2,95±0,07	2,6±0,06	2,33±0,03
Фосфор, мМ/л				
Начало опыта	2,40±0,20	2,37±0,13	2,43±0,09	2,33±0,09
Конец опыта	1,95±0,15	2,0±0,10	1,93±0,19	1,87±0,09***
Триглицериды, мМ/л				
Начало опыта	0,07±0,03	0,09±0,01	0,09±0,04	0,08±0,01
Конец опыта	0,11±0,01	0,28±0,01	0,21±0,01 ***	0,19±0,02
Общий билирубин, κМ/л				
Начало опыта	4,25±0,15	4,93±0,18	4,83±0,32	5,1±0,7
Конец опыта	10,4±0,5	4,6±0,23**	4,3±0,23	4,9±0,67
Хлориды, Мм/л				
Начало опыта	84,3±0,10	85,8±0,52	86,97±1,12	89,93±1,01
Конец опыта	85,95±1,05	93,20±2,25	95,17±1,45	86,7±4,79

Степень достоверности: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ по отношению к контрольной группе

На фоне возрастания концентрации альбуминов в опытных группах произошла стабилизация в соотношении глобулиновых фракций, проявившаяся снижением уровня γ -глобулинов на 20,9 %, 14,7 % и 13,8 % соответственно. По уровню других глобулиновых фракций отслеживалась тенденция в нормализации показателей и общей стабилизации протеинограмм коров опытных групп. То есть, использование препаратов, обладающих антитоксическими свойствами, способствовало активизации белоксинтетической функции печени на фоне ослабления «воспалительного синдрома» в гепатоцитах, что подтверждалось отрицательными значениями тимоловой пробы в двух первых опытных группах. Следует отметить, что применением одного только антитоксического премикса снять воспалительные процессы в печени подопытных животных не удалось, хотя его введение в рацион коров способствовало нормализации обменных процессов.

Поскольку мочевины являются конечным продуктом белкового обмена, ее увеличение в опытных группах (на 7,2 %, 12,1 % и 6,1 %) вполне прогнозируемо и отражает прямую корреляционную зависимость активации метаболизма в гепатоцитах печени.

У жвачных животных углеводный обмен играет значительную роль в определении уровня и интенсивности других видов обмена, обеспечивая все основные реакции организма, связанные с энергетическими затратами. Основным показателем метаболизма углеводов служит концентрация глюкозы в крови. Несмотря на непрерывное извлечение глюкозы из крови, ее уровень у животных остается постоянным, что обусловлено всасыванием из пищеварительного тракта, гликогенолизом, глюконеогенезом. Поддержание этого динамического равновесия возможно при условии, что увеличение потребности тканей в глюкозе, особенно в условиях стресса, должно сопровождаться увеличением ее поступления в кровь (Ковтуненко А.Ю., 2012). Недостаток доступной энергии определяет дальнейшую цепь регуляторных, метаболических и структурных сдвигов в развитии патобиохимических процессов.

В наших исследованиях, применение одного ливазена не проявило стимулирующего влияния на углеводный обмен. Тогда как использование препаратов в комплексной системе профилактических мероприятий позволило сохранить постоянство энергетических запасов в организме сухостойных коров и обеспечить более эффективное использование обменной энергии за счет утилизации в процессе обмена веществ экзогенного и эндогенного жира.

Более стабильная динамика глюкозы во второй опытной группе объясняется комплексным действием ливазена и антитоксического премикса, что связано с наличием в премиксе богатого набора эссенциальных элементов, имеющих непосредственное воздействие на ряд метаболических процессов в организме.

Исследуемые препараты оказали нормализующее влияние на показатели липидного обмена, что проявилось увеличением концентрации триглицеридов в первой опытной группе в 3,1 раза, во второй опытной группе – в 2,3 раза и в третьей – в 2,4 раза соответственно. При этом уровень холестерина увеличился в группе с применением ливазена на 24,7 %, в группе с применением антитоксического премикса – на 11,4 %.

Отмечено увеличение концентрации кальция (на 14,5-29,9 %), стабилизировалось кальций-фосфорное соотношение.

Во всех опытных группах уровень билирубина в сыворотке крови имел тенденцию к снижению, тогда как в контроле, напротив, его концентрация резко повысилась (в 2,44 раза).

О функциональном состоянии печени животных судили по динамике изменения ферментов переаминирования – аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы, а также щелочной фосфатазы (таблица 34).

В начале эксперимента была отмечена повышенная напряженность в активности АлАТ, уровень которой превышал верхние значения нормы. Активность аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы повышена не была, но регистрировалась в значениях верхних границ.

Таблица 34 – Динамика изменения активности ферментов в крови стельных коров при комплексной профилактике гепатозов ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	контроль	ливазен	ливазен + премикс	премикс
АсАт, Ед/л				
Начало опыта	95,2±9,4	95,3±3,3	91,0±10,41	93,4±1,76
Конец опыта	106,0±15,0	88,67±6,36	76,0±7,94*	89,3±3,84
АлАт, Ед/л				
Начало опыта	37,6 ± 5,2	39,7±2,1	38,7±2,3	42,0±2,52
Конец опыта	35,5±4,50	30,0±2,58	28,0±4,04**	31,6±1,2
Щелочная фосфатаза, ЕД/л				
Начало опыта	112,7±9,3	117,0±10,6	126,2 ±9,61	120,7±11,6
Конец опыта	126,5±8,4	103,4±15,6	117,2±12,4	122,0±6,51

Степень достоверности: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ по отношению к контрольной группе

Профилактическое использование препаратов позволило обеспечить тенденцию к снижению ферментной активности во всех опытных группах (по АсАТ – на 6,9 %, 16,4 % и 4,3 %; по АлАТ – на 24,4 %, 27,6 % и 24,8 %; по ЩФ – на 11,6 % и 7,3 % в первой и второй опытных группах), в отличие от контрольных животных, у которых показатели аспартатаминотрансферазы возросли на 11,3 % от начальных. По другим ферментам существенных изменений отмечено не было. Подобная картина у коров контрольной группы может в последующем усугубляться существенными органическими изменениями функционального состояния клеток печени, вероятность которых возрастает к концу сухостойного периода и отелу.

4.7.2.2 Влияние на биохимические показатели крови новотельных коров

При оценке биохимических показателей сыворотки крови новотельных коров в динамике отмечена сходная картина (таблица 35). Низкий уровень общего белка в процессе фармакопрофилактики повысился по группам на 7,5 %, 12,8 % и 11,1 % соответственно.

Таблица 35 – Биохимические показатели крови новотельных коров при комплексной профилактике гепатозов (M±m; n=5)

Показатели	Группы			
	контроль	ливазен	ливазен + премикс	премикс
Белок, г/л				
Начало опыта	67,55±4,75	69,23±1,47	70,30±3,54	69,5±0,7
Конец опыта	70,95±1,75	74,43±1,22*	79,3±0,46*	77,23±1,22***
Альбумины, %				
Начало опыта	44,19±2,82	49,15±4,45	45,27±3,20	39,83±10,36
Конец опыта	50,05±0,45	39,63±2,95*	42,17±0,7	44,93±2,26***
α-глобулин, %				
Начало опыта	14,79±0,19	16,10±1,45*	17,70±1,45*	16,90±0,4
Конец опыта	8,65±2,45	13,97±2,02	14,87±1,59	12,5±1,4**
β-глобулин, %				
Начало опыта	2,51±1,97	2,32±0,74	3,90±1,24	15,24±0,55
Конец опыта	1,54±0,22	13,75±3,95	11,62±1,28	14,97±1,31**
γ-глобулин, %				
Начало опыта	38,50±6,20	32,43±3,95	33,13±7,82	28,03±1,86
Конец опыта	39,76±2,65	32,65±2,25*	31,34±1,99	27,60±2,56
Мочевина, мМ/л				
Начало опыта	4,65±1,05	4,00±0,44	4,30±0,46	4,37±0,32
Конец опыта	4,60±0,3	4,73±0,38	4,37±0,19	4,77±0,26
Глюкоза, мМ/л				
Начало опыта	3,25±0,55	3,23±0,22	2,80±0,20	3,2±0,06
Конец опыта	3,00±0,2	2,9±0,23	3,03±0,12	3,10±0,21
Тимоловая проба				
Начало опыта	+	+	+	+
Конец опыта	+	-	-	-
Холестерин, мМ/л				
Начало опыта	4,1±0,20	5,63±0,35*	4,43±0,28	5,27±0,15
Конец опыта	4,7±0,1	5,27±0,98	5,17±0,28	5,07±0,24
Кальций, мМ/л				
Начало опыта	2,15±0,15	2,37±0,15	2,23±0,12	2,33±0,12
Конец опыта	2,1±0,1	1,9±0,06	1,9±0,1	2,27±0,09
Фосфор, мМ/л				
Начало опыта	1,45±0,05	1,63±0,12	1,67±0,18	1,63±0,03
Конец опыта	1,85±0,05	2,27±0,19	2,23±0,15	1,63±0,09
Триглицериды, мМ/л				
Начало опыта	0,13±0,02	0,12±0,02	0,17±0,01*	0,11±0,01
Конец опыта	0,15±0,01	0,28±0,01**	0,21±0,01	0,18±0,02**
Общий билирубин, кМ/л				
Начало опыта	15,30±1,60	9,90±1,29	16,93±3,14*	9,23±0,45
Конец опыта	10,4±0,5	4,6±0,23	4,30±0,23	8,73±0,82
Хлориды, Мм/л				
Начало опыта	91,15±0,05	87,20±0,93*	87,57±1,38	86,80±0,67
Конец опыта	85,95±1,05	83,2±2,25	85,17±1,45	86,27±1,27

Степень достоверности: * p≤0,05; ** p≤0,01; *** p≤0,001 по отношению к контрольной группе

Причем, границ физиологической нормы достичь удалось только в группе с комплексным применением препаратов (ливазен +премикс).

По первой и третьей опытным группам к концу исследовательского периода восстановить видовую норму по протеиновому обмену не удалось, однако в сравнении с группой контроля показатели общего белка в динамике по этим группам увеличились на 4,9 % и 8,8 % соответственно.

В данном случае, антитоксический премикс в силу особенностей биологического действия не только проявил адсорбционную активность, но и, стабилизируя органические соединения, способствовал замедлению скорости прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту, повышая, тем самым, усвояемость и биологическую ценность кормов.

Именно поэтому в группе с совместным применением ливазена и премикса активизация белкового обмена проявилась в максимальных значениях.

Под действием препаратов произошли изменения в белковом спектре сыворотки крови в сторону оптимизации глобулинового соотношения за счет увеличения количества альбуминов при одновременном снижении γ -глобулиновой фракции. То есть воспалительные процессы, отмечаемые у коров сразу после отела, на что указывает увеличение α -глобулинов (белков-реактантов острой фазы воспаления) к концу опытного периода ослабевали, не переходя при этом, в хроническую форму.

Использование фармакопрофилактики способствовало активизации углеводного, липидного и минерального обменов подопытных коров, в той или иной мере, увеличивая основные метаболиты, отражающие интенсивность их течения в организме животных.

Наиболее значимые изменения в крови отмечены по уровню общего билирубина. И если в начале исследования его значения превышали верхние границы нормы во всех группах, участвующих в эксперименте, то через 14 дней применения препаратов у коров первой и второй опытных групп концентрация общего билирубина колебалась в пределах 4,3-4,6 мкмоль/л. То есть, в группе

с применением одного ливазена его снижение составило 2,15 раза, а в группе с комплексным применением ливазена и премикса уровень билирубина снизился в 3,9 раза. И здесь надо отметить одну интересную особенность: в группе с применением только премикса концентрация общего билирубина практически не изменилась, сохраняясь на достаточно высоком уровне. То есть, именно ливазен оказал выраженное гепатопротективное действие, восстанавливая нормальное течение обменных процессов в клетках печени по извлечению билирубина из крови, его конъюгированию и секретированию в желчь. А введение в рационы антиоксического премикса усилило фармакологические эффекты ливазена.

Поскольку активность ферментов печени является важным диагностическим тестом функционального состояния физиолого-биохимических систем организма, оценивая в динамике изменения таких показателей, как аланин- и аспаратаминотрансфераза (таблица 36), мы установили, что использование препаратов, как по отдельности, так и в комплексе, способствовало их оптимизации в границах референсных пределов. Тогда как в группе негативного контроля на конец эксперимента уровень АлАТ, напротив, повысился на 13,3 %.

Таблица 36 – Динамика изменения активности ферментов в крови новотельных коров при комплексной профилактике гепатозов ($M \pm m$; $n=5$)

Показатели	Группы			
	контроль	ливазен	ливазен +премикс	премикс
АсАт, Ед/л				
Начало опыта	94,50±9,50	89,33±8,29	115,33±5,89	97,67±4,98
Конец опыта	83,5±5,0	83,67±3,48	90,0±2,5	80,0±3,61**
АлАт, Ед/л				
Начало опыта	37,5±1,7	31,0±3,21	30,67±3,67	33,67±1,45
Конец опыта	42,5±8,5	18,33±1,76	20,67±1,20	23,0±2,08
Щелочная фосфатаза, ЕД/л				
Начало опыта	176,0±9,00	186,33±4,15	163,00±8,75	189,4±7,26
Конец опыта	144,0±7,6	131,8±5,62	117,33±6,24	136,5±11,79**

Степень достоверности: ** $p \leq 0,01$ по отношению к контрольной группе

В показателях щелочной фосфатазы выявлены повышенные значения, которые, однако, не являются патологическими, поскольку при беременности уровень ЩФ возрастает в силу физиологических причин. Но уже после двух недель послеродового периода в опытных группах наблюдается плавное динамическое снижение данного показателя на 29,3 %, 28,0 % и 27,9 % соответственно. Тогда как в группе контроля данное снижение составило 18,2 %. То есть, профилактическое введение препаратов, улучшающих функциональное состояние печени и стимулирующих обменные процессы, способствовало более активному восстановлению организма коров после родов.

Эндотоксемия различного генеза сопровождается увеличением концентрации МСМ, при этом уровень среднемолекулярных пептидов коррелирует с тяжестью состояния больных и может служить показателем степени токсикоза (Владыка А.С., Беляков Н.А., Шугаев А.И., 1986). Определение веществ средней молекулярной массы является достаточно чувствительным и информативным тестом изучения их влияния на функциональную и детоксикационную активность печени.

Результатами наших исследований установлено, что использование ливазена в комплексной профилактике гепатозов у коров оказало выраженное влияние на показатели среднемолекулярных пептидов в крови животных (таблица 37).

Показатель молекул средней массы в группе стельных коров с момента начала опыта у животных, которым вводился ливазен и ливазен с премиксом в зависимости от длины экспозиции снизился на 8,5 % и 5,3 % ($\lambda = 254$ усл.ед.) и на 9,5 % и 7,3 % (при $\lambda=280$ усл.ед) соответственно.

В контрольной группе за этот период уровень МСМ, напротив, повысился на 6,1 % и 7,4 %. В группе новотельных коров у опытных животных, которым внутримышечно вводился ливазен, снижение среднемолекулярных пептидов было наиболее выражено и составило 30,9 % при длине волны $\lambda = 254$ усл.ед. и 33,3 % при длине волны $\lambda = 280$ усл.ед.

Таблица 37 – Влияние препаратов на уровень среднемoleкулярных пептидов в организме коров ($M \pm m$; $n=5$)

показатели	Стельные					
	Начало опыта			Конец опыта		
	Ливазен	Ливазен +премикс	Контроль	Ливазен	Ливазен +премикс	Контроль
СМ ₂₅₄ , усл. ед	0,198±0,005 **	0,246± 0,004	0,244±0,001	0,181±0,008* *	0,233±0,005	0,259±0,003
СМ ₂₈₀ , усл. ед	0,168±0,005* *	0,218±0,004	0,216±0,005	0,152±0,007* *	0,202±0,006	0,232±0,003
показатели	Новотельные					
	Начало опыта			Конец опыта		
	Ливазен	Ливазен +премикс	Контроль	Ливазен	Ливазен +премикс	Контроль
СМ ₂₅₄ , усл. ед	0,262±0,010	0,272±0,009*	0,243± 0,002	0,181±0,008* *	0,259±0,008	0,244±0,001
СМ ₂₈₀ , усл. ед	0,228±0,010	0,254±0,013	0,215±0,017	0,152±0,007* *	0,242±0,013	0,216±0005

Степень достоверности: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ по отношению к контрольной группе

Тогда как во второй опытной существенных изменений установлено не было. Снижение было минимальным, на уровне тенденции и составило 4,7 % при обеих длинах волны. Возможно, выявленные изменения имеют существенное значение при переходе на другой уровень организации с высоким уровнем метаболизма, так как при повышении количества компонентов системы регуляции, увеличивается и потенциал коррекции метаболических изменений, происходящих в организме при сочетанном применении препаратов, обладающих как гепатопротекторной, так и антитоксической направленностью. То есть, уровень молекул средней массы может варьировать в зависимости от метаболического состояния организма. А использование премикса в большей степени стимулирует обменные процессы за счет комплекса биологически активных веществ – макро- и микроэлементов.

В контроле значения СМП оставались неизменными на протяжении всего периода исследований.

Через 14 дней при УЗИ-исследовании наблюдались регенеративные процессы в печени почти у всех опытных животных. Края долей печени ровные,

местами четкие. Эхоструктура органа имела гомогенное строение с одинаковым распределением сигналов по интенсивности, равномерным изображением сосудов, местами встречаются участки слабой и выраженной эхогенности (фото 9).

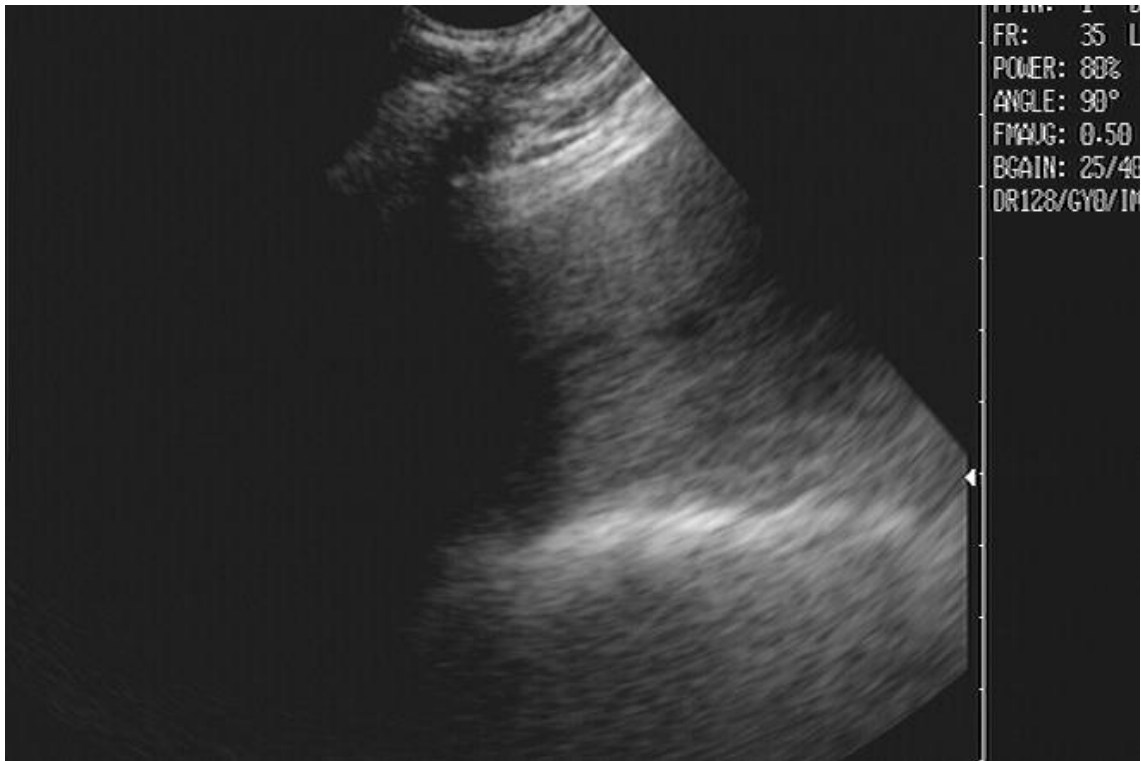


Фото 9 – Регенеративные процессы в паренхиме печени животных после системы профилактических мероприятий

Таким образом, использование инъекционного гепатопротекторного препарата ливазен в системе профилактических мероприятий оказывает выраженное позитивное действие на возникновение и развитие гепатопатологий, обусловленных метаболическими нарушениями в организме молочных коров (Сахно Т.А., Гринь В.А., Семененко М.П., 2021).

5 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛИВАЗЕНА ПРИ ПРОФИЛАКТИКЕ ГЕПАТОЗА У КОРОВ

Для оценки целесообразности широкого применения препарата ливазен согласно «Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» (2000) и рекомендаций И.Н. Никитина по ее применению (2007, 2012), был проведен расчет его экономической эффективности при профилактике гепатоза у молочных коров,

Выбор такого экономического параметра, как профилактическая эффективность обусловлен тем, что данная схема использования ливазена является менее затратной, поскольку препарат вводится внутримышечно в течение 14 дней в дозе 2 мл при разведении 1:5 с 0,9 % раствором натрия хлорида.

Алгоритм расчета включал следующие экономические показатели:

- фактический и предотвращенный экономический ущерб;
- экономический ущерб, полученный в результате проведения ветеринарных мероприятий;
- экономический ущерб на рубль затрат.

Данные показатели позволяют получить достоверные результаты экономического анализа профилактических мероприятий при гепатозе у молочных коров и обосновать экономическую эффективность применения ливазена в условиях промышленного производства.

Экономическая профилактическая эффективность (Ээ) применения препарата ливазен представляет собой отношение экономического эффекта (Ээ) к ветеринарным затратам (Зв).

Экономический эффект от проведения ветеринарных мероприятий отражает разность между стоимостью продукции – молока, новорождённых телят в результате применения коровам ливазена и затратами на их осуществление.

Этот показатель рассчитывается по формуле:

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

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

Стоимость продукции, полученной дополнительно, рассчитывают по формуле:

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

Впо – количество продукции, полученной от животных, которым инъекционно по схеме вводились препараты (ливазен и 0,9 % раствор натрия хлорида) (в расчете на одно животное), руб.;

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

А – количество животных в группе, голов;

Ц – цена реализации единицы продукции, руб.

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

$$Зв = Зм + Зот + Оот, \text{ где:}$$

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

Зот – затраты на оплату труда, руб.;

Оот – отчисления от оплаты труда, руб.

За период исследований в опытной группе было израсходовано 280 мл ливазена (2 мл на животное x 14 день x 10 коров), 0,9% натрия хлорид – 1400 мл (10 мл на животное x 14 дней x 10 коров).

Стоимость 1 мл препарата ливазен составляет 5,6 рубля, 0,9 % раствор натрия хлорид – 0,24 рубля (из расчета, что стоимость флакона 400 мл составляет 95,0 рублей), шприцы одноразовые стерильные, объемом 10 мл – 9,0 рублей.

$$\text{Итого: } (5,6 \times 280) + (0,24 \times 1400) + (9,0 \times 14) = 2030 \text{ рубля.}$$

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

$$Зв = 2030,0 + 1265,0 = 3295,0 \text{ руб.};$$

$$\text{где } 1265,0 = Зот + Зот;$$

Стоимость молока, полученного дополнительно за счет применения ливазена, составила:

$$Дс = 10 \times 21,5 \times (1663,0 - 1547,0) = 24940,0 \text{ руб.};$$

Экономический эффект от применения препарата составил:

$$Ээ = 24940,0 - 3295,0 = 21645,0.$$

Экономическая эффективность на 1 рубль затрат равна:

$$Эр = 24940,0 : 3295,0 = 7,56 \text{ руб.};$$

Таким образом, экономический эффект от применения препарата при профилактике гепатоза у коров составил 7,56 руб. на один рубль затрат.

Данный расчет выполнен с учетом только себестоимости препарата ливазен и не учитывает коммерческие затраты по его реализации, которые могут, в определенной мере, повлиять на реальную величину экономического эффекта.

6 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедряемые в животноводческую практику интенсивные технологии производства молока зачастую происходят с несоблюдением принципов кормления и условий содержания животных, приводя к нарушению обменных процессов в организме и возникновению патологических состояний печени, а также к снижению продуктивности крупного рогатого скота, рождению нежизнеспособного молодняка, преждевременной выбраковке и экономическим потерям (Семененко М.П., 2008; Антипов В.А., Семененко М.П. с соавт., 2009).

При нарушении работы печени, независимо от патогенеза, происходит повреждение клеточных мембран гепатоцитов (Королева Л.Р., 2005). Поэтому перед ветеринарными фармакологами и гепатологами стоит задача разработки безопасных лекарственных средств, обладающих эффектом «первого прохождения» через печень, обладающих высокой фармакологической и терапевтической эффективностью при гепатозах с антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием, учитывая экономические затраты (Убеева И.Л. с соавт., 2003).

В данной работе представлены результаты исследований фармако-токсикологических и терапевтических свойств нового инъекционного препарата ливазен (разработчик ООО «УНИФАРМ», г. Славянск-на-Кубани), в состав которого входят диизопропиламмония дихлорацета, этанол и глицерин.

Ливазен представляет собой прозрачный раствор, без запаха, вязкий, маслянистой консистенции, сладковато-горького вкуса. Преимуществом препарата является его способность оказывать липотропное, антиоксидантное, мембраностабилизирующее и антигипоксическое действие на клетки печени.

На стадии исследовательской фармацевтической разработки окончательного состава нового лекарственного средства производителем совместно с сотрудниками отдела фармакологии Краснодарского научно-исследователь-

ского ветеринарного института – в настоящее время – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», были выбраны качественные компоненты, изучена совместимость при их комбинировании и оптимальное количественное соотношение для прототипа нового препарата. Разработана технологическая схема производства препарата ливазен с дальнейшим определением стабильности и сроков годности.

По результатам фармацевтической разработки установлено, что ливазен апирогенен, стерилен, обладает хорошей биодоступностью, сохраняет свою стабильность и подлинность на протяжении 2 лет, может быть допущен для проведения доклинических и клинических исследований.

Изучение токсикологических свойств ливазена на белых крысах при однократном внутривенном 3,0 мл ($\approx 20,3$ г/кг) и внутримышечном 5,0 ($\approx 33,8$ г/кг) введении позволило отнести его к 4 классу опасности (вещества малоопасные) – ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества».

Оценка длительного внутримышечного введения ливазена лабораторным крысам в субтоксических дозах не установила значимых изменений в гравиметрических показателях, гомеостазе крови, в массе и строении внутренних органов подопытных животных.

Результаты исследований по изучению влияния препарата на мочевыделительную функцию почек и функциональное состояние желудочно-кишечного тракта животных не выявили негативных эффектов. Ливазен не оказывает раздражающего, алергизирующего и кожно-резорбтивного действия, не обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами, не влияет на органолептические и качественные показатели мяса.

Изучение гепатозащитных свойств препарата, проводимое на модельной системе острого тетрахлорметанового гепатита у лабораторных животных, выявило его выраженное гепатопротекторное действие, проявляемое восста-

новлением целостности мембран гепатоцитов и их структуры, а также уменьшением развития некротических процессов в паренхиме печени, что обусловило снижение трансаминаз (АсАТ, АлАТ) на 15,7 % и 14,8 %, ЩФ – на 17,4 %, холестерина – на 40,0 % и общего билирубина – на 24,0 %. Ливазен оказал положительное влияние на сохранение массы тела животных в условиях токсической нагрузки, а также способствовал снижению эндотоксического действия четыреххлористого углерода, уменьшая уровень среднемолекулярных пептидов в крови в 1,28-2,36 раза.

Введение крысам с экспериментальной гиперлипидемией, вызванной детергентом Твин-80 ливазена, сопровождается снижением интенсивности липолиза и показателей липидного обмена: холестерина – в 1,5-1,8 раз, триглицеридов – в 1,3-1,7 раз (в зависимости от дозы), улучшением гомеостатического баланса крови в организме опытных животных. Уровень ферментной активности печени снижается на 25,4-31,0 % (АсАТ), 25,0-40,3 % (АлАТ) и 11,9-25,2 % (ЩФ), общего билирубина – на 3,9-20,3 %, глюкозы – на 32,3-38,4 % соответственно. Концентрация МСМ снижается на 10,3-14,2 % и 21,5-28,1 % в зависимости от измеряемой длины волны.

Спектр фармакологической активности препарата ливазен проявляется снижением уровня средних молекул и у крупного рогатого скота – на 10,0-11,8 % приводя, тем самым, к уменьшению выраженности эндогенного («метаболического») токсикоза. При этом наиболее выраженное действие препарата наблюдается у животных в период беременности, когда в организме происходит усиление липидного обмена, тогда как в послеотельный период отмечается его регрессия, поэтому уровень эндогенной интоксикации может уменьшаться за счет внутренних процессов самого организма.

Препарат ливазен обладает незначительным бактериостатическим действием в отношении эталонных штаммов *E. coli*, *Sal. dublin*, *P. mirabilis*, *St. aureus*, *Str. uberis* при концентрации 25 мг/см³ и при концентрации 12,5 мг/см³ – *P. aeruginosa*.

Оценка лечебной эффективности ливазена, проведенная в условиях животноводческих предприятий Краснодарского края на коровах с жировым гепатозом, показала, что он нормализует клиническое и метаболическое состояние животных, оказывает положительное влияние на уровень протеинового обмена, увеличивая концентрацию общего белка на 17,6-26,3 %, альбуминов – на 27,2 % при одновременном снижении γ -глобулинов на 18,6 %. Фармакотерапия ливазеном приводит к снижению трансаминаз: АсАТ – на 20,4 %, АлАТ – на 17,8 %, нивелируя симптоматику цитолиза клеток печени; уменьшается холестатический синдром, проявляемый снижением щелочной фосфатазы в 1,71 раза ($p \leq 0,05$), общего билирубина – в 1,87 раза; улучшается каротиндепонирующая функция печени (концентрации каротина возрастает в 5,0-6,7 раза).

Положительные эффекты отмечаются и в структуре гепатоцитов. Ультрасонография печени коров, которым была проведена терапия ливазеном, показала процессы клеточной регенерации, гомогенность эхоструктуры и отсутствие дистрофических участков в паренхиме органа.

Изучение профилактической эффективности препарата ливазен в комплексе с гепатопротекторным антитоксическим премиксом, проведенное на стельных (5-6 месяцев) и новотельных коровах (1-2 недели после отела) с клиническими и метаболическими нарушениями, показало увеличение ($p \leq 0,05$) концентрации белка в крови на 6,1-19,1%, а также стабилизацию протеинограмм, обусловленную увеличением альбуминов на 8,9-14 % на фоне снижения γ -глобулинов на 13,8-20,9 %. Изменения в липидном обмене характеризовались увеличением триглицеридов в 2,3-3,1 раза, холестерина – на 24,7 %, снижением общего билирубина – в 2,15 раза. Отмечена тенденция снижения ферментной активности: по АсАТ – на 6,9-16,4 %; АлАТ – на 24,4-27,6 %, ЩФ – на 7,3-29,3 %. Происходит улучшение функционального состояния печени, стимуляция обменных процессов и более активное восстановление организма животных после отела.

Таким образом, использование инъекционного гепатопротекторного препарата ливазен в системе профилактических мероприятий оказывает выраженное позитивное действие на возникновение и развитие гепатопатологий, обусловленных метаболическими нарушениями в организме молочных коров.

Экономический эффект от применения препарата при профилактике гепатоза у коров составил 7,56 руб. на один рубль затрат. Следовательно, использование нового инъекционного гепатопротекторного препарата для профилактики гепатопатии у высокопродуктивных коров эффективно и выгодно с экономической точки зрения.

Полученные в ходе проведения исследования обосновывают следующие **выводы:**

1. Ливазен – инъекционный препарат, лекарственная форма которого представляет собой 20 % прозрачный раствор для внутримышечного введения без запаха, слегка маслянистой консистенции, вязкий, сладковато-горьковатого вкуса. В препарате в качестве активных веществ содержится: диизопропиламония дихлорацетат – 200 г, этанол 96 % – 175 мл, глицерин – 625 мл. По степени воздействия на организм животных относится к 4 классу опасности – вещества малоопасные (ГОСТ 12.1.007-76), не вызывая гибели и клинической картины токсикоза как в острых, так и хронических опытах. Длительное внутримышечное введение ливазена в субтоксических дозах не оказывает негативного влияния на гравиметрические показатели, гомеостаз крови, массу и строение внутренних органов подопытных животных. Препарат не проявляет раздражающего, алергизирующего и кожно-резорбтивного действия, не обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами, не влияет на органолептические и качественные показатели мяса.

2. Гепатозащитные свойства ливазена, проводимые на модельной системе острого тетрахлорметанового гепатита у лабораторных животных, характеризуются восстановлением целостности мембран гепатоцитов и их структуры, обуславливая снижение трансаминаз (АсАТ, АлАТ) на 15,7 % и 14,8 %, ЩФ –

на 17,4 %, холестерина – на 40,0 %, общего билирубина – на 24,0 %, уменьшая уровень среднемoleкулярных пептидов в крови в 1,28-2,36 раза.

3. Введение крысам с экспериментальной гиперлипидемией, вызванной детергентом Твин-80 ливазена, сопровождается снижением интенсивности липолиза и показателей липидного обмена: холестерина – в 1,5-1,8 раз, триглицеридов – в 1,3-1,7 раз, улучшением гомеостатического баланса крови в организме опытных животных. Уровень ферментной активности печени снижается на 25,4-31,0 % (АсАТ), 25,0-40,3 % (АлАТ) и 11,9-25,2 % (ЩФ), общего билирубина – на 3,9-20,3 %, глюкозы – на 32,3-38,4 % соответственно.

4. При метаболических нарушениях в организме животных ливазен проявляет выраженное эндотоксическое действие, препятствуя накоплению концентрации среднемoleкулярных пептидов, уровень которых снижается на 8,5-33,4 % в зависимости от тяжести патологического процесса.

5. Применение препарата при терапии жирового гепатоза у коров способствует нормализации клинического состояния и обмена веществ животных, что сопровождается увеличением концентрации общего белка на 17,6-26,3 %, альбуминов – на 27,2 % при одновременном снижении γ -глобулинов на 18,6 %. Фармакотерапия ливазеном приводит к уменьшению уровня трансаминаз: АсАТ – на 20,4 %, АлАТ – на 17,8 %, нивелируя симптоматику цитолиза клеток печени; уменьшается холестатический синдром за счет снижения уровня щелочной фосфатазы в 1,71 раза ($p \leq 0,05$), общего билирубина – в 1,87 раза.

6. Включение ливазена в схему профилактических мероприятий стельным и новотельным коровам с клиническими и метаболическими нарушениями работы печени, обеспечивает активизацию белкового обмена на 6,1-19,1 % ($p \leq 0,05$), стабилизацию протеинограмм, обусловленную увеличением альбуминов на 8,9-14% на фоне снижения γ -глобулинов на 13,8-20,9 %, увеличение триглицеридов в 2,3-3,1 раза, холестерина – на 24,7 %, снижение общего билирубина – в 2,15 раза, активности АсАТ – на 6,9-16,4 %; АлАТ – на 24,4-27,6 %,

ЩФ – на 7,3-29,3 %, а также способствует клеточной регенерации и восстановлению функциональной активности гепатоцитов, подтверждаемой ультразвукографическими исследованиями.

7. Экономический эффект от применения препарата при профилактике гепатоза у коров составляет 7,56 руб. на один рубль затрат.

Практические предложения

Отечественному животноводству предлагается новый эффективный инъекционный гепатопротекторный препарат, обладающий широким спектром фармакологической активности, а также отсутствием токсического и побочного действия, что позволяет рассматривать его в качестве перспективного средства для профилактики и терапии гепатопатий у продуктивных животных.

Для терапии жирового гепатоза ливазен рекомендуется применять внутримышечно в соотношении 1:5 (4 мл препарата и 20 мл стерильного физиологического раствора) в заднебедренные группы мышц (разово или дробно по 12 мл 2 раза в сутки с интервалом в 12 часов) ежедневно в течение 21-го дня.

С профилактической целью ливазен применяют внутримышечно в соотношении 1:5 к стерильному физиологическому раствору (2 мл препарата и 10 мл физиологического раствора) ежедневно в течении 14 дней самостоятельно или в комплексе с адсорбентами.

На ливазен разработана инструкция по применению в ветеринарии, определяющая условия его применения, требования к качеству и методам контроля, рассмотренная и одобренная Ученым советом ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» (протокол №5 от 09.07. 2019г).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов А.А. Фармако-токсикологическая оценка и эффективность препарата Бетатиосол – L при патологиях печени коров [Текст]: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 06.02.03 / Андрей Андреевич Абрамов. – Краснодар, 2020. – 25 с.
2. Акаевский А.И. Анатомия домашних животных / А.И. Акаевский, Ю.Ф. Юдичев, С.Б. Селезнев, под ред. С.Б. Селезнева. – 6-е изд., испр. – М. Аквариум-Принт. – 2009. – 638 с.
3. Алехин Ю.Н. Патология печени новорожденных телят (клинико-биохимические синдромы, профилактика и лечение) [Текст]: автореф. дисс. ... канд. биол. и вет. наук: 03.00.04; 16.00.01 / Алехин Юрий Николаевич, Воронеж, 1992. – 23 с.
4. Алехин Ю.Н. Болезни печени у высокопродуктивных коров (диагностика, профилактика и терапия) / Ю.Н. Алехин // Ветеринария. – 2011. – № 6. – С. 3-7.
5. Алехин Ю.Н. Становление функций преджелудков у телят с патологией печени / Ю.Н. Алехин // Ветеринария. – 2012. – № 10. – С. 44-47.
6. Андрейцев М.З. Гепатоз у коров (патология, диагностика, лечение, профилактика) : дисс. ... канд. вет. наук : 16.00.02, 16.00.01 / Андрейцев Михаил Захарович. – Барнаул, 2000. – 199 с.
7. Андрейцев М.З. Клинический статус при гепатозах у КРС / М.З. Андрейцев // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2001. – №3. – С.145.
8. Анохин Б.М. Гепатоз у собак и меры борьбы с ним / Б.М. Анохин, И.А. Измайлова // – Воронеж: ВГАУ. – 1996. – 20 с.
9. Артемова Е.И. Развитие интеграционных процессов в молочнопродуктовом подкомплексе АПК / Е.И. Артемова, Е.В. Кремянская // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. - Краснодар: КубГАУ, 2015. – №05(109). – С. 512-527.
10. Бабкина Т.Н. Новое в диагностике, терапии и профилактике незаразных болезней животных / Т.Н. Бабкина, Г.Г. Таран // – М.: Колос. – 2002. – С.21-23.

11. Бажибина Е.Б. Методы основы оценки клинико-морфологических показателей крови домашних животных / Е.Б. Бажибина, А.В. Коробов, С.В. Середа, В.П. Сапрыкин // – М.: ООО «Аквариум-принт». – 2007. – 128 с.
12. Байматов В.Н. Гепатозы продуктивных животных и их профилактика / В.Н. Байматов // Учебное пособие для слушателей ФПК, студентов ветеринарных и зооинженерных факультетов. – Уфа. – 1990. – С. 5-110.
13. Байматов В.Н. Морфологические и биохимические изменения в организме животных и человека при патологии печени / В.Н. Байматов, Э.Г. Давлетов // – М. – 1998. – 147с.
14. Байматов В.Н. Патологическая физиология / В.Н. Байматов, В.М. Мешков, А.Г. Савойский // – М.: КолосС. – 2008. – 541с.
15. Барановский А.Ю. Гастроэнтерология: Справочник / Под ред. А. Ю. Барановского. – СПб.: Питер. – 2013. – 512 с.
16. Баратова М.Р. Особенности действий бисульфата на метаболические изменения при токсических поражениях печени / М.Р. Баратова, А.Д. Рахимов, Ф.М. Мадаминов // Российский электронный научный журнал. – 2016. – № 1 (19). – С. 252-258.
17. Баринов Н.Д. Заболеваемость высокопродуктивных коров как следствие глубоких метаболических нарушений/ Н.Д. Баринов, А.Г. Смольянинов, А.А. Шевченко // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: Материалы IX Всерос. науч.-практ. конф. – Саратов: Научная книга, 2009. – С.186-191.
18. Баринов Н.Д. Влияние бутафосфана и витамина В₁₂ на показатели крови коров при профилактике кетоза / Н.Д. Баринов, И.И. Калюжный // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2014. – №7. – С. 3-6.
19. Баринов Н.Д. Фармакологическая профилактика кетоза у молочных коров / Н.Д. Баринов, И.И. Калюжный // Ветеринарный врач. – 2014. – № 4. – С. 34-40.
20. Батраков А.Я. Профилактика и лечение массовых незаразных болезней у крупного рогатого скота / А.Я. Батраков, Т.К. Донская, С.В. Винникова [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 4. – С. 118-121.

21. Баширова Э.М. Терапевтическая эффективность пробиотика Ветом 1.1 при гепатозе коров / Э.М. Баширова, И.Ф. Хазимухаметова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010. – Т. 203. – С. 30-35.
22. Белоусов Ю.Б. Клиническая фармакология: национальное руководство / под ред. Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепехина, В.И. Петрова. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2009. – 976 с.
23. Белугин Н.В. Гепатозы у высокопродуктивных коров, их лечение и профилактика / Н.В. Белугин, Н.А. Писаренко, А.В. Конобейский [и др.] // Вестник АПК Ставрополя. – 2014. – № 2 (14). – С. 112-116.
24. Бергхов П.К. Мелкие домашние животные. Болезни и лечение / Пер. с нем. И. Кравец. Изд. 2, испр.и доп. – М.: «АКВАРИУМ-ПРИНТ». – 2006. – 224 с.
25. Бивалькевич Н.В. Характеристика плоидности гепатоцитов крыс в условиях высокожирового рациона / Н.В. Бивалькевич // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2014. – № 2. – С. 23-28.
26. Бикхард К. Клиническая ветеринарная патофизиология / К. Бикхард. – М.: Аквариум. – 2005. – 397с.
27. Блюгер А.Ф. Тайны и парадоксы печени / А.Ф. Блюгер // . – М.: Знание. – 1988. – 221 с.
28. Большаков Д.С. Биохимические показатели сыворотки крови сельскохозяйственных животных / Д.С. Большаков, Т.Б. Никешина // Ветеринария сегодня. – 2015. – № 15(4). – С.49-56.
29. Буторова Л.И. Лекарственные поражения печени: учеб.-метод. пособие / Л.И. Буторова, А.В. Калинин, А.Ф. Логинов // . – М., 2010. – 64 с.
30. Венгеровский А.И. Механизм действия гепатопротекторов при токсических поражениях печени / А.И. Венгеровский, А.С. Саратиков // Фармакология и токсикология. – 1988. – Т. 51. – №1. – С. 89-92.
31. Вермель А.Е. Применение со3.жирных кислот (рыбий жир) в клинической практике / А.Е. Вермель // Клиническая медицина. – 2005. – №10. – С.51-57.

32. Винницкая Е.В. Силимарин и печень: в фокусе неалкогольная жировая болезнь печени / Е.В. Винницкая, Т.Ю. Хайменова, Ю.Г. Сандлер, Д.С. Бордин // Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова: «Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология», 2018. – №3 (32). – С. 44-50.
33. Владыка А.С. Диагностическое значение уровня молекул средней массы в крови при оценке тяжести эндотоксемии / А.С. Владыка, Н.А. Беляков, А.И. Шугаев // Вестник хирургии. – 1986. – Т.137. – №8. – С.126-129.
34. Воинова А.А. Применение препаратов «Габивит Se» и «Гепатоджект» при дистрофии печени у высокопродуктивных коров / А.А. Воинова, С.П. Ковалев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 4. – С. 128-131.
35. Воинова А.А. Этиология и клиническое проявление гепатоза у коров / А.А. Воинова, С.П. Ковалев, В.А. Трушкин, Г.С. Никитин // Международный вестник ветеринарии. 2017. – № 4. – С. 91-96.
36. Волкова Е.С. Влияние карсила и оксиметиурацила на функцию печени / Е.С. Волкова, В.Н. Байматов // Ветеринария. – 2002. – №1. – С.48-50.
37. Вопросы спиртометрии в фармацевтической технологии: учебно-метод. пос. / Сост.: Ю.В. Шикова, В.А. Лиходед, А.В. Браженко, З.Р. Нова, Ф.Х. Кильдияров, В. В. Петрова. – Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. – 2014. – 73с.
38. Воскобойников В.Ф. Организационно-коммерческий справочник ветеринарного специалиста: Справочное пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС. – 1999. – 368 с.
39. Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. Изд. 7-е, пер. и доп. В трех томах. Том I. Органические вещества. Под ред. засл. деят. науки проф. Н.В. Лазарева и докт. мед. наук Э.Н. Левиной. Л., «Химия». – 1976. – 592 с.
40. Габриэлян Н.И. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях / Н.И. Габриэлян, В.И. Липатова // Лаб. Дело. – 1984. – № 3. – С. 138-140.
41. Гаевый М.Д. Фармакология: Учебник для вузов / Под ред. проф. В.И. Петрова. – М.: ИКЦ «МарТ». – 2008. – 560 с.

42. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова. – Ростов-на-Дону : Ростовский университет. – 1990. – 224 с.
43. Гарник Т.П. Гепатопротекторное действие фито-средств в комплексной терапии и реабилитации больных хроническим гепатитом // Ліки України. – 2002. – №11. – С. 2-5.
44. Гепатозы сельскохозяйственных животных и гепатопротекторные препараты: Методические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике гепатозов с.-х. животных / Кузнецов Н.И., Никулин И.А., Вислогузов А.М. и др. /ВГАУ. ВНИВИПФиТ. – Воронеж. – 2001. – 65 с.
45. Гепатозы у высокопродуктивного молочного скота: диагностика, лечение, профилактика / М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, Е.В. Тяпкина, В.А. Гринь, О.Ю. Черных, А.А. Абрамов // Краснодар, 2018. – 50 с.
46. Гичев Ю.П. Печень: адаптация, экология : монография / Ю.П. Гичев, Отв. ред. Г.С. Якобсон; Рос. акад. мед. наук. Сиб. отделение. Ин-т регион. патологии и патол. морфологии. – Новосибирск : Наука, 1993. – 152 с.
47. Горлов И.Ф. Новые экологические ветеринарные препараты из семян тыквы / И.Ф. Горлов, В.В. Безбородин // Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных: Матер. междунар. координац. совещания. – Воронеж. – 1997. – С. 195-198.
48. Громышевская Л.Л. Средние молекулы как один из показателей «метаболической интоксикации» в организме / Л.Л. Громышевская // Лабораторная диагностика. – 1997. – № 1. – С. 11-16.
49. Губергриц Н.Б. Хронические гепатиты и циррозы печени. Современные классификация, диагностика и лечение [Текст] / Н.Б. Губергриц // . – Донецк: ООО «Лебедь». – 2002. – 166 с.
50. Губергриц Н.Б. Гепатопротекторы: от теории к практике / Н.Б. Губергриц, Г.М. Лукашевич, П.Г. Фоменко. – М. : 4ТЕ Арт. – 2012. – 52 с.
51. Денисенко В.Н. Диагностика и лечение болезней печени у собак / В.Н. Денисенко, Е.А. Кесарева. – М.: КолосС. – 2006. – 63 с.
52. Денисенко В.Н. Диагностика и лечение болезней печени у собак и кошек / В.Н. Денисенко, Е.А. Кесарева и др. – М.: КолосС. – 2012. – 112 с.

53. Диксон М. Ферменты / М. Диксон, Э. Уэбб. – Пер с англ. – М.: Мир, 1982. – Т1. – 392 с.
54. Добрунов Р.А. Коррекция функционального состояния печени сухостойных коров при гепатозе с использованием гепатоника и экстракта сапропеля : дисс. ... канд. вет. наук : 06.02.01 / Добрунов Роман Александрович. – Белгород. – 2017. – 154 с.
55. Душкин Е.В. Показатели липидно-углеводного метаболизма и жирнокислотный состав молочного жира по фазам репродуктивного цикла у ярославских коров: Автореферат диссертации кандидата биологических наук. – Боровск: ВНИИФБП с.-х. животных. – 1993. – 25 с.
56. Душкин Е.В. Особенности адаптации липидного метаболизма у жвачных / Е.В. Душкин // Эффективное животноводство. – Краснодар. – 2007. – №12 (25). – С. 15-16.
57. Душкин Е.В. Функция молочной железы и жировая дистрофия печени / Е.В. Душкин, С.Б. Парапонов, И.Г. Мундяк // Аграрный эксперт. – 2008. – №6. – С. 38-40.
58. Душкин Е.В. Ожирение печени у коров после отела и проблемы сервис-периода / Е.В. Душкин, И.Г. Мундяк // Комбикорма. – 2008. – № 7. – С. 76-77.
59. Душкин Е.В. О связи между функцией молочной железы и жировой дистрофией печени у высокопродуктивных коров / Е.В. Душкин // Сельскохозяйственная биология. Серия биология животных. – Москва. – 2010. – №2. – С. 18-24.
60. Душкин Е.В. Особенности адаптации липидного метаболизма у жвачных / Е.В. Душкин // Ветеринария сельскохозяйственных животных, 2011. – №3. – С. 10-13.
61. Душкин Е.В. Анализ результатов лечения жировой дистрофии печени / Е.В. Душкин, А.В. Конобейский, Б.В. Пьянов // Эффективное животноводство. – 2013. – № 12 (98). – С. 32-33.
62. Душкин Е.В. Предродовая и послеродовая дистрофия печени у высокопродуктивных молочных коров / Е.В. Душкин, Т.Н. Дерезина, Н.Ф. Фирсов [и др.] // Ветеринарная патология. – 2014. – № 3-4 (49-50). – С. 44- 48.
63. Душкин Е.В. Лечение послеродовой гипертрофии печени и результаты восстановления продуктивных функций у коров / Е.В. Душкин, В.И. Еременко,

- А.П. Зеленков // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 7. – С. 154-157.
64. Евглевский А.А. Проблемы обеспечения здоровья высокопродуктивных коров в промышленном животноводстве и практические пути ее решения / А.А. Евглевский, С.Н. Турнаев, В.Ю. Тарасов и др. // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – №4. – С. 26-30.
65. Елисеев А.Н. Лечебно-профилактические свойства сапропеля при болезнях пальцев у парнокопытных : дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.05 / Елисеев Алексей Николаевич. – Троицк. – 1981. – 566 с.
66. Енгашев С.В. Токсикологическая оценка препарата АСД-2ф / С.В. Енгашев, О.А. Дорогова, В.Е. Абрамов // Академическая публицистика. – 2017. – № 2. – С. 286-306.
67. Еременко В.И. Метаболические показатели крови у лактирующих коров с разным уровнем молочной продуктивности / В.И. Еременко, Е.Л. Попова, Е.Г. Бунцева // В кн.: Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства: материалы Международной научно-практической конференции. – Брянск – 2013. – С.23-24.
68. Жаров А.В. Патология обмена веществ у высокопродуктивных животных / А.В. Жаров, Ю.П. Жарова // Ветеринария. – 2012. – №9. – С. 46-50.
69. Зимин Ю.В. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите / Ю.В. Зимин, С.П. Сяткин, Т.Т. Березов // Вопросы медицинской химии. – 2001. – № 3. – С. 346-352.
70. Зотова Т.А. Изучение токсических свойств инъекционной формы препарата дипромоний-М в остром эксперименте / Т.А. Зотова, М.П. Семенов // Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – № 4-3 (35). – С. 52-53.
71. Зотова Т.А. Оценка токсических свойств ливазена в субхроническом эксперименте / Т.А. Зотова, М.П. Семенов // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны». – Санкт – Петербург. – 2015. – С. 105-107.

72. Зотова Т. А. Изучение гепатопротекторных свойств нового инъекционного препарата на высокопродуктивных коровах в послелетельный период / Т.А. Зотова, О.А. Фомин // В сб. статей Международной научно-практической конференции 28 декабря 2015 г. «Наука, образование и инновации», Челябинск. – 2015. – С. 162-164.
73. Зотова Т.А. Изучение алергизирующего действия препарата ливазен / Т.А. Зотова, М.П. Семенов // 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. 37-39.
74. Зотова Т.А. Изучение уровня среднемолекулярных пептидов в сыворотке крови стельных и новотельных коров при применении ливазена / Т.А. Зотова, М.П. Семенов // «Студенттік ғылым – агроөнеркәсіптік кешенді дамыту үшін» атты студенттердің ххі ғылыми конференциясының. Материалдар жинағы /Сборник материалов XXI студенческой научной конференции «Студенческая наука – для развития Агропромышленного комплекса», Республика Казахстан, Алматы. – 2017. – С. 96-99.
75. Зотова Т.А. Оценка уровня эндогенной интоксикации при фармакотерапии острого гепатита у крыс / Т.А. Зотова // В сборнике: НАУЧНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА. Сборник статей по материалам XI Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ и 80-летию со дня образования Краснодарского края. – 2017. – С. 116-117.
76. Зухрабов М.Г. Некоторые параметры адаптации высокопродуктивных коров, завезенных на территорию РТ из зарубежных стран к новым условиям их содержания / М.Г. Зухрабов, З.М. Зухрабова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана, 2012. – Т. 211. – С. 259-263.

77. Иванасова Е.В. Оценка эффективности премикса гепавет при профилактике гепатозов поросят-отъемышей / Е.В. Иванасова // Ветеринарный врач. – 2014. – № 3. – С. 47-49.
78. Ивашкин В.Т. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения: Руководство для практикующих врачей / В.Т. Ивашкин, Т.Л. Лапина и др.; Под общ. ред. В.Т. Ивашкина. – М.: Литтерра. – 2003. – 1046 с.
79. Ивашкин В.Т. Гастроэнтерология: национальное руководство / под ред. В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2008. – 704 с.
80. Ивашкин В.Т. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения: руководство для практикующих врачей. – Москва: Литтерра, 2003. – Часть: Глава 9. Гепатопротекторы. – С. 86-92.
81. Исакова М.Б. Гистологическая структура печени американской норки различных окрасочных генотипов в период постнатального онтогенеза / М.Б. Исакова, О.В. Распутина, И.В. Наумкин // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2017. – № 1 (42). – С. 154-159.
82. Казаков Д.Н. Этиология, диагностика и лечение при гепатитах у собак: Автореф. дис. ... канд. вет. наук / Д.Н. Казаков. – СПб. – 2004. – 20 с.
83. Кайзер С. Терапия мелких домашних животных / С. Кайзер. – М.: «Аквариум-принт». – 2010. – 416 с.
84. Калюжный И.И. Здоровье импортных животных спустя пять месяцев после завоза / И.И. Калюжный, Н.Д. Баринов // Животноводство России. – 2008. – №3. – С.6-8.
85. Калюжный И.И. Поражение печени у высокопродуктивных коров при нарушении обмена веществ / И.И. Калюжный, Н.Д. Баринов // Вестник Саратовского государственного аграрного университета им. Н. И. Вавилова. – 2013. – № 8. – С. 7-11.
86. Калюжный И.И. Лечебно-профилактические мероприятия жирового гепатоза у молочных коров голштино-фризской породы / И.И. Калюжный, Н.Д. Баринов, А.А. Перелыгина, К.А. Пукалова // Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны: мат-лы междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 85-летию со дня

- рождения д. с.-х. наук, профессора А.П. Коробова, Саратов, 14-16 мая 2015 г. / Под ред. А.В. Молчанова, А.А. Васильева. – Саратов: изд. «Научная книга». – 2015. – С. 80-86.
87. Калюжный И.И. Практические аспекты ранней диагностики гепатозов у лактирующих коров / И.И. Калюжный, И.С. Степанов, А.А. Солякина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2016. – Т. 226. – № 2. – С. 72-76.
88. Калюжный И.И. Теоретические и практические аспекты ранней диагностики гепатозов у высокопродуктивных молочных коров / И.И. Калюжный, А.А. Волков, И.С. Степанов, А.В. Красников, А.В. Молчанов, С.В. Козлов, С.А. Староверов // В сборнике: Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий. Материалы Международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 52-73.
89. Камышников В.С. Клинико-лабораторная диагностика заболеваний печени / В.С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ. – 2013. – 96 с.
90. Камышников В.С. Клинико-лабораторная диагностика заболеваний печени / В.С. Камышников // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2016. – №1. – Т. 5. – С. 150-63.
91. Каркищенко Н.Н. Клиническая и экологическая фармакология в терминах и понятиях / Н.Н. Каркищенко // – М.: ИМП-Медицина. – 1995. – 304 с.
92. Карпова Е.А. Коэффициент окислительного стресса при патологии печени и применении нового нанокompозитного препарата селена // Е.А. Карпова, О.П. Ильина // Вестник Иркутской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – № 61. – С. 88-94.
93. Карташова О.Я. Функциональная морфология печени / О.Я. Карташова, Л.А. Максимова // СПб.: Тригон. – 2000. – 118 с.
94. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней животных / А.М. Смирнов, П.Я. Конопелько, Р.П. Пушкарев [и др.]. – 1988. – 512 с.
95. Ковтуненко А.Ю. Биохимические параметры крови коров при адаптации к низким температурам. Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6. – С. 568.

96. Кокуричев П.И. Патологическая анатомия сельскохозяйственных животных / П.И. Кокуричев, Б.Г. Домин, М.П. Кокуричева. – СПб.: Агропромиздат. – 1994. – 212 с.
97. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник / И.П. Кондрахин. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.
98. Кононенко С.И. Биолого-продуктивный потенциал лактирующих коров при скармливании антиоксидантов / С.И. Кононенко, Р.Б. Темираев, А.А. Газдаров // Труды Кубанского государственного аграрного университета. –2011. – № 32. – С. 163-165.
99. Кононенко С.И. Пути снижения влияния неблагоприятных кормовых факторов на организм животных / С.И. Кононенко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2016. – № 119. – С. 293-312.
100. Косинцев В.Л. Опыт использования Catozal 10 % при нарушениях обмена веществ и заболеваниях печени / В.Л. Косинцев // Аграрный вестник Урала. – 2010. – № 11-2 (77). – С. 26-27.
101. Королева Л.Р. Современные гепатопротекторы / Л.Р. Королева // Российский медицинский журнал, 2005. – №2. – С. 35-37.
102. Котомцев В.В. Изменение состава крови у крупного рогатого скота после электростимуляции аппаратом «Зоодэнс» / В.В. Котомцев, С. В. Илларионова // Аграрный вестник Урала. – 2008. – № 11 (53). – С. 53-54.
103. Кошкин В.М. Применение дипромония в комплексной терапии больных с хронической артериальной недостаточностью нижних конечностей / В.М. Кошкин // ЭИ. Новые Лекарственные препараты. – 1983. – №4. – С. 14-16.
104. Краковский М.Э. Основные патогенетические механизмы нарушения детоксикационной функции печени при эндогенных интоксикациях различного генеза / М.Э. Краковский, А.А. Ашарметов // Вест. АМН СССР. –1989. – № 12. – С. 70-76.
105. Кузнецов Н.И. Сравнительная эффективность лечебно-профилактического действия гепатотропных препаратов / Н.И. Кузнецов, Т.И. Елизарова, Л.В. Вишнякова // Актуальные проблемы ветеринарии в борьбе с незаразными болезнями животных. – Воронеж. – 1990. – 46-52.

106. Кузнецов В.М. Повышение устойчивости высокопродуктивных молочных коров к функциональным нарушениям печени / В.М. Кузнецов, Г.Б. Ревина, Л.И. Асташенкова // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2017. – № 3. – С. 88-90.
107. Кузнецов Н.И. Новые препараты для профилактики токсической гепатодистрофии и лечения животных / Н.И. Кузнецов // Ветеринария. – 1990. – № 3. – С. 9-11.
108. Кузьминова Е.В. Современные подходы к лечению гепатопатий крупного рогатого скота / Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, Т.А. Шахмеликьян // Вестник ветеринарии. – 2011. – № 4 (59). – С. 135-137.
109. Кузьминова Е.В. Диагностическое значение биохимических показателей крови при гепатопатологиях / Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, Е.А. Старикова [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 5. – С. 11-13.
110. Кузьминова Е.В. Применение биологически активных веществ для нормализации обменных процессов у животных / Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, Е.А. Старикова [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 11 (109). – С. 80-83.
111. Кузьминова Е.В. Система фармакопрофилактики заболеваний печени у высокопродуктивного молочного скота / Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, С.И. Кононенко, Н.Н. Забашта // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии, 2019. – № 4. – С. 121-132.
112. Кукес В.Г. Клиническая фармакология / Под ред. В.Г. Кукеса. — 3-е изд., перераб.и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2006. – 944 с.
113. Купчинская С.С. Биологическая и патогенетическая роль антиоксидантной системы в функционировании живого организма (обзор литературы) / С.С. Купчинская // Тольяттинский медицинский консилиум. – 2014. – № 1-2. – С. 56-59.
114. Кучерявый Ю.А. Гепатопротекторы: рациональные аспекты применения: учеб. пособие для врачей / Ю.А. Кучерявый, С.В. Морозов // . – М. Форте-Принт. – 2012. – 36 с.
115. Лебедев Н.И. Научное обоснование использования комплекса витаминов и минеральных веществ в кормлении жвачных животных в Нечерноземной зоне

- России : автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.02.02 / Лебедев Николай Иванович. – М. – 1996. – 34 с.
116. Лимаренко А.А. Болезни свиней / А.А. Лимаренко, И.А. Болоцкий, А.И. Баранников. – Лань. – 2008. – 640 с.
117. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Т. 2 / А. Ленинджер. Пер. с англ. – М.: Мир. – 1985. – 368 с.
118. Линеvский Ю.В. Возможности флавоноидных изомеров силимарина в лечении заболеваний печени/ Ю.В. Линеvский, К.Ю. Линеvская, К.А. Воронин и др. // Новости медицины и фармации. Гастроэнтерология. – 2009. – 304 с
119. Липатова В.И. Опыт использования показателей средних молекул для диагностики нефрологических заболеваний у детей / В.И. Липатова // Лаб. дело. – 1984. – № 3. – С. 138 –140.
120. Личук Н.Г. Функциональное состояние печени молочных коров при кетозе после применения кормовой добавки «Нормотел» / Н.Г. Личук, Л.Г. Сливинская, А.В. Березовский [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2016. – Т. 52. – № 3. – С. 57-62.
121. Луцкий Д.Я. Патология обмена веществ у высокопродуктивного крупного рогатого скота / Д.Я. Луцкий, А.В. Жаров, В.П. Шишкин. – М. : Колос. – 1978. – 384 с.
122. Маркова И.В. Фармакология / И.В. Маркова, И.Б. Михайлов, М.В. Неженцев. – СПб.: Фолиант. – 2001 – 415 с.
123. Маркосян А.А. Физиология / А.А. Маркосян. – М.: Медицина, 1995. – 351 с.
124. Матвеев А.В. Гепатопротекторы: Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2013. – 384 с.
125. Машковский М.Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. / М.Д. Машковский. – 14-е изд. — М.: Изд-во Новая Волна, 2002. – Т. 1. – С. 506-510.
126. Мерзленко Р.А. Гепатоз у лактирующих коров и его клинико-биохимические корреляты / Р.А. Мерзленко, М.Н. Заздравных, В.В. Дронов, Г.И. Горшков // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2012. – № 6. – С. 78-80.

127. Мерзленко Р.А. Влияние гепатоника и экстракта сапропеля на физиологическое состояние и акушерско-гинекологические показатели коров при гепатозе / Р.А. Мерзленко, Р.А. Добрунов, А.Н. Мусохранова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 4 (114). – С. 83-87.
128. Мерзленко Р.А. Применение гепатоника и экстракта сапропеля для коррекции функционального состояния печени при гепатозах сухостойных коров (Монография) ISBN 978-5-905686-60-3 / Р.А. Мерзленко, Р.А. Добрунов // Белгород: Изд-во Белгородский ГАУ, 2016. – 122 с.
129. Мерзленко Р.А. Профилактика и лечение жировой дистрофии печени у свиней (Монография) / Р.А. Мерзленко, С.А. Стрельников // Белгород: ООО Издательско-полиграфический центр «Политерра», 2018. – 111 с.
130. Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий // Ветеринарное законодательство. Т. 1; под ред. В.М. Авилова. – М.: Росзоветснабпром. – 2000. – С. 293-326.
131. Методические рекомендации «Морфологические исследования в ветеринарных лабораториях», утв. ДВ МСХ РФ 17.07.2002 г.
132. Методические рекомендации по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии / М. Н. Аргунов, Л. Б. Сафонова, В. В. Василенко. – Воронеж, 1998. – 24 с.
133. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма. ВНИВИПФиТ. Воронеж, 2010. – 72 с.
134. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия). Под ред. проф. И.В. Саноцкого. – М.: «Медицина», 1970. 340 с.
135. Милостивый Р.В. Воспроизводительная способность и продуктивное долголетие голштинского скота в условиях промышленной технологии производства молока / Р.В. Милостивый, А.А. Калиниченко, Т.А. Василенко, А.С. Гуцуляк // Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России: сборник научных статей / Ставропольский гос. аграрный ун-т. – Ставрополь, 2016. – С.112-115.

136. Минушкин О.Н. Применение гепатопротекторов в клинической практике / О.Н. Минушкин, Л.В. Масловский, А.А. Букшук // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2012. – 112(10-2). – С. 67-72.
137. Минушкин О.Н. Гепатопротекторы растительного происхождения в терапии лекарственного гепатита / О.Н. Минушкин, И.В. Зверков, А.И. Островская // Медицинский совет. – 2016. – №14. – С.48-52.
138. Мищенко В.А. Анализ причин заболеваний высокопродуктивных коров / В.А. Мищенко // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2008. – Т. 11. – № 2. – С. 20-24.
139. Мищенко В.А. Анализ нарушений обмена веществ у высокоудойных коров / В.В. Мищенко // Ветеринария Кубани. – Краснодар, 2012. – №6. – С.16-20.
140. Мищенко В.А. Проблема патологии печени у высокопродуктивных коров / В.А. Мищенко, А.В. Мищенко, О.Ю. Черных // Ветеринария Кубани. – №2. – 2014. – С. 11-12.
141. Молчанов Н.С. Клиника и лечение острых пневмоний / Н.С. Молчанов и В.В. Ставская // Медицина, 1971. – 294 с.
142. Морозов С.В. Гепатопротекторы в клинической практике: рациональные аспекты использования: пособие для врачей/ С.В. Морозов, Ю.А. Кучерявый. – М.: 4ТЕ Арт. – 2011. – 28 с.
143. Налетов Н.А. Патологическая физиология и патологическая анатомия животных / Н.А. Налетов, И.В. Иванов, П.Д. Федоров, В.Ф. Черкашин. — М.: Агропромиздат, 1991. – 352 с.
144. Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных / А.М. Смирнов, В.И. Дорожкин // Москва. – 2008. – 120 с.
145. Никитин И.Н. Организация ветеринарного дела / И.Н. Никитин. – СПб.: Лань. – 2012. – 288 с.
146. Никитин И.Н. Практикум по организации ветеринарного дела и предпринимательству / И.Н. Никитин. – М.: КолосС. – 2007. – 311 с.
147. Никулин И.А. Метаболические функции печени у крупного рогатого скота при силосно-концентратном типе кормления и ее коррекция гепатотропными

- препаратами : автореф. дисс. ... док. вет. наук : 16.00.01 / Никулин Иван Алексеевич. – Воронеж. – 2002. – 46 с.
148. Никулин И.А. Клинико-биохимический статус глубококостельных коров и новорожденных телят при гепатозе / И.А. Никулин, Н.И. Кузнецов, Б.М. Анохин, Ю.В. Водолазский // Диагностика, лечение и профилактика болезней животных. Сборник научных трудов факультета ветеринарной медицины. Том 1. – Воронеж – 2004. – С. 32-36.
 149. Никулин И.А. Результаты апробации гумата калия при гепатозе телят / И. А. Никулин, О. А. Ратных // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2017. – № 4 (16). – С. 147-152.
 150. Новикова В.П. Жировой гепатоз в структуре метаболического синдрома у детей / В.П. Новикова // Профилактическая и клиническая медицина. – 2010. – № 3-4. – С. 33-41.
 151. Носков С.Б. Изучение гепатопротекторных свойств ларикарвита / С.Б. Носков, Л.В. Резниченко // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – № 8. – С. 67-68.
 152. Нугуманова Г.Н. Биологическая активность производных изатина, функционализированно пространственно затрудненными фенолами / Г.Н. Нугуманова, Р.Г. Тагашева, С.В. Бухаров, Н.А. Мукменёва, Ю.Н. Олудина, Л.Ф. Саттарова, Б.П. Струнин, В.А. Антипов, П.А. Гуревич // Вестник Казанского технолог. ун-та. – 2010. – №10. – С. 91-95.
 153. Оковитый С.В. Гепатотропные средства: современное состояние проблемы / С.В. Оковитый, Д.С. Суханов, М.Г. Романцов // Терапевтический архив. – 2012. – Т. 84, № 2. – С. 62-68.
 154. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.
 155. Орлов В.Н. Хронические заболевания печени / В.Н. Орлов, В.И. Фомичев. – М.: Знание. – 1988. – 64с.
 156. Повышение сохранности и продуктивности здоровья импортного молочного скота /В.А. Антипов, М.П. Семененко, Н.Ю. Басова, А.Н. Турченко, А.Я. Сапунов, Е.В. Кузьминова и др. //Краснодар, 2009. – 63 с.

157. Подымова С.Д. Болезни печени : руководство для врачей / С.Д. Подымова. – 4–е изд. М.: Медицина. – 2005. – 766 с.
158. Покровский Б. Лечение и профилактика болезней печени / Б. Покровский. – М. АСТ. – 2007. – 62 с.
159. Полищук Ф.И. Кинология / Ф.И. Полищук, А.Л. Трофименко // – К.: «Перун». – 2007. – 600 с.
160. Постников В.С. Исследование печени. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней сельскохозяйственных животных / Под ред. А.М. Смирнова. М.: Колос. – 1981. – С. 248-253.
161. Постников В.С. Лечение коров при функциональных нарушениях печени / В.С. Постников, Ф.Н. Насибов // Ветеринария. – 1989. – № 12. – С.49-50.
162. Прасолов А.А. Применение дипроанемина для нормализации обмена веществ и функции печени у крупного рогатого скота : автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01 / Прасолов Алексей Алексеевич. – Воронеж, 2000. – 25 с.
163. Профилактика нарушений метаболического статуса у высокопродуктивных коров молочного направления на территории Ставропольского края / И.В. Киреев, В.С. Скрипкин, В.А. Оробец, В.А. Беляев, О.И. Севостьянова, Т.С. Денисенко // Методические рекомендации. – Ставрополь, 2017. – 64 с.
164. Расщектаев А.С. Методы диагностики жирового гепатоза, их эффективность / А.С. Расщектаев, П.Н. Щербаков // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 2 (100). – С. 90-92.
165. Ратных О.А. Лечебная эффективность гумата калия при гепатозе лактирующих коров и телят молочного периода : дисс. ... канд. вет. наук : 06.02.01 / Ратных Ольга Александровна. – Воронеж. – 2018. – 193 с.
166. Рецкий М.И. Антиоксидантный статус при жировой дистрофии печени у бычков / М.И. Рецкий, А.М. Самогин, Г.Н. Блинецова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 4. – С. 106-109.
167. Роменский Р.В. Влияние препарата «АДЕ-СЕЛЕН» на функциональное состояние печени новорожденных телят / Р.В. Роменский, Н.В. Роменская, В.А. Василенко // Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения: материалы VI междунар. научно-произв. конф. – Белгород. – 2002. – С. 140.

168. Роменский Р.В. Влияние функционального состояния печени на возникновение острых желудочно-кишечных расстройств новорожденных телят / Р.В. Роменский, Н.В. Роменская // Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения: материалы VI междунар. научно-произв. конф. – Белгород. – 2002. – С. 141.
169. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общей редакцией проф. Р. У. Хабриева. Изд. второе, переработанное и дополненное, Москва, 2005.
170. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
171. Рябова Е.В. Адипозно-гепатический синдром у высокопродуктивных молочных коров / Е.В. Рябова, А.Б. Рогова, И.И. Калюжный, Н.Д. Баринов // Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной научно-практической конференции. Под редакцией А.А. Волкова. – Саратов. – 2012. – С. 272-275.
172. Савойский А.Г. Углеводно-белковые комплексы сыворотки крови в процессе перинатального развития плода у здоровых и больных кетозом коров-матерей / А.Г. Савойский // Биоконплексы и их значение в обмене веществ. – М. – 1966. – С. 185-190.
173. Самогин А.М. Гепатотропные препараты и их применение крупному рогатому скоту : автореф. дис. ... докт. вет. наук: 16.00.01, 03.00.04 / Самогин Анатолий Митрофанович. – Воронеж. – 2002. – 48 с.
174. Самохин В.Т. Проблемы патологии обмена веществ у сельскохозяйственных животных в современном животноводстве / В.Т. Самохин, Б.В. Уша, Н.Х. Мамаев и др. // Состояние, проблемы и перспективы развития ветеринарной науки в России. – М., 1999. – Т. 2. – С. 141-144.
175. Саратиков А.С. Влияние гепатопротекторов, содержащих фосфолипиды, на зависимость от цитохрома Р-450 антиоксидантную функцию печени при экспериментальном токсическом гепатите / А.С. Саратиков, А.И. Венгеровский // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1999. – №4. – С. 392-394.

176. Сахно Т.А. Результаты исследования антимикробной активности препарата ливазен / Т.А. Сахно, М.П. Семенов, К.А. Семенов // Сборник научных трудов ФГБНУ КНЦЗВ. Краснодар. – 2020. – Выпуск 9. – Т 1. – С.376-379.
177. Сахно Т.А. Диагностика биохимических показателей крови новотельных коров на фоне применения гепатопротектора / Т.А. Сахно, В.А. Гринь, М.П. Семенов //: Международная научно-практическая конференция «Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК», посвященной 100-летию кафедры фармакологии СпбГУВМ, 2021. – Санкт-Петербург. – С. 211-212.
178. Сахно Т.А. Влияние ливазена на динамику массы тела и гомеостаз крови крыс при остром модельном поражении печени / Т.А. Сахно, К.А. Семенов, М.П. Семенов // В сборнике: Актуальные проблемы ветеринарной медицины, биотехнологии и морфологии. Сборник научных трудов Национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию Заслуженного деятеля науки РФ, доктора биологических наук, профессора Баймишева Хамидуллы Балтухановича. Кинель, 2021. С. 90-93.
179. Сахно Т.А. Оценка липотропного действия ливазена на фоне развития дислипидемии у крыс, индуцированной детергентом Твин-80 / Т.А. Сахно, М.П. Семенов, Е.В. Кузьмина, К.А. Семенов // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 6 (108). – Ч.2 – С. 61-64.
180. Сбоев Г.А. Проблемы гармонизации аптечной практики с международной системой фармацевтической помощи / Г.А. Сбоев, И.И. Краснюк // Ремедиум. – 2006. – № 8. – С.38.
181. Сенченко Б.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животного и растительного происхождения / Б.С. Сенченко // Серия «Технологии пищевых производств» – Ростов-на-Дону: Изд. центр «МарТ», 2001. – 704 с.
182. Семенов М.П. Фармакология и применение бентонитов в ветеринарии / Семенов Марина Петровна: диссертация... доктора вет. наук: / ФГОУВПО «Кубанский государственный аграрный университет». Краснодар, 2008. – 348 с.
183. Семенов М.П. Новые подходы к лабораторной диагностике болезней печени у высокопродуктивного молочного скота / М.П. Семенов, Е.В. Кузьмина, О.А. Фомин // Ветеринария Кубани. – 2014. – № 3. – С. 11-13.

184. Семененко М.П. Этиопатогенез и особенности гепатотропной терапии коров при гепатозах / М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, Ф.Д. Онищук [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 4. – С. 42-46.
185. Семененко М.П. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения инъекционных гепатопротекторов в профилактике заболеваний печени у коров / М.П. Семененко, Т.А. Зотова, Е.В. Кузьминова [и др.] // Научный журнал КубГАУ. – 2017. – № 132 (08). – С. 1-11.
186. Семененко М.П. Перспективы применения ливазена в терапии гепатоза коров, индуцированного метаболическими нарушениями / М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, Т.А. Зотова, Е.В. Тяпкина, А.А. Лысенко // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 1. – С. 12-14.
187. Семененко М.П. Этиопатогенетические факторы возникновения и развития гепатозов у высокопродуктивного молочного скота в условиях Краснодарского края / М.П. Семененко, Е.В. Кузьминова, В.А. Гринь // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии, 2018. – Т. 7. – № 3. С. 183-188.
188. Серов В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В.В. Серов, К. Лапиш. – АМН СССР. – М.: Медицина. – 1989. – 336 с.
189. Симбирцев С.А. Тромбоэмболии легких / С.А. Симбирцев, Н.А. Беляков // Л. – 1986. – 216 с.
190. Скаржинская Г.М. Уровень селена в крови коров / Г.М. Скаржинская, Е.А. Кузьменкова, В.И. Иванов и др. // Ветеринария. – 1997. – № 1. – С. 38-41.
191. Слесаренко Н.А. Анатомия собаки. Висцеральные системы (спланхнология): учебник / Н.А. Слесаренко, Н.В. Бабичев, А.И. Торба, А.Е. Сербский; ред. проф. Н.А. Слесаренко. – СПб.: Изд-во «Лань», 2004. – 88 с.
192. Слободяник В.С. Морфология печени домашних животных при гепатодистрофии / В.С. Слободяник: учебное пособие. – М.: Лань. – 2007. – 277с.
193. Смирнов А.М. Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины / А.М. Смирнов [и др.]. – М. – 2007. – ч. III. – С. 8-38.
194. Соболева Ю.Г. Исследование активности аминотрансфераз, холинэстеразы и концентрации сывороточного альбумина у коров при патологии печени / Ю.Г.

- Соболева, В.М. Холод, В.П. Баран, Е.А. Жвикова // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения, 2012. – С. 217-222.
195. Современные проблемы в скотоводстве: учеб. пособие / И.Н. Тузов, М.Г. Григорьева – Краснодар: КубГАУ, 2016. – 117 с.
196. Стельмах В.В. Патогенетическая терапия метаболического синдрома на стадии органических поражений / В. В. Стельмах, В. К. Козлов, В. Г. Радченко [и др.] // Клиническая медицина, 2012. – Т. 90. – № 6. – С. 61-65.
197. Струнин Б.П. Структура лекарственного средства диизопропиламмония дихлорацетата / Б.П. Струнин, А.Т. Губайдуллин, Т.Б. Пахомова, И.Р. Кильметова И.Р. и др. // Вестник Казанского технологического университета, 2013. – Т. 16. – № 1. С. 179-181.
198. Телегина Л.Г. Опыт применения рибавина для лечения больных гепатозом коров / Л.Г. Телегина, В.М. Мешков, Р.А. Ортман, Г.Г. Михин // Новые фармакологические средства в ветеринарии: матер. 9-й междунар. мезвуз. науч.-практич. конф. – Санкт-Петербург. – 1997. – С. 38-39.
199. Тимофеев Б.А. Профилактика лекарственных осложнений у сельскохозяйственных животных / Б.А. Тимофеев. – М.: Росагропромиздат. – 1989. – 160с.
200. Толкач Н.Г. Ветеринарная фармакология / Н.Г. Толкач, И.А. Ятусевич, В.В. Петров, И.Н. Николаенко. – Минск: Вышэйная школа. – 2013. – 334 с.
201. Толыбаев О.Н. Современное состояние и перспективы развития молочного скотоводства / О.Н. Толыбаев, Х. Машарипова // Молодой ученый. – 2021. – № 11 (353). – С. 216-218.
202. Убеева И.Л. Особенности влияния поливитохолола при вирусном гепатите В / И.Л. Убеева, В.Г. Убеева, Б.Д. Батуева и др. // Вест. Бурят. университета. Серия 11. – Улан-Удэ, 2003. – С. 28-32.
203. Удинцев С.Н. Коррекция нарушений функции печени глубокопородных и лактирующих коров препаратом гутитон / С.Н. Удинцев, Т.П. Жилиякова // Ветеринария. – 2009. – № 12. – С. 67-73.
204. Уша Б.В. Ветеринарная гепатология /Б.В. Уша // М.: Колос. – 1979. – с. 263.
205. Уша Б.В. Болезни печени собак / Б.В. Уша, И.М. Беляков – М.: ПАЛЬМА пресс. – 2002. – 377 с.

206. Уша Б.В. Вторичная жировая дистрофия печени у собак / Б.В. Уша, Э.В. Жавнис, Т.Б. Горювая // Актуальные проблемы ветеринарно-санитарного контроля и биологической безопасности с.х. продукции. – М., МГУПБ. – 2004. – С.181.
207. Уша Б.В. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней животных / Уша Б.В., Беляков И.М., Пушкарев Р.П. – Санкт-Петербург : Квадро. – 2021. – 504 с.
208. Ушкалова Е.А. Проблемы применения гепатопротекторов / Е.А. Ушкалова // Фарматека. – 2004. – №24. – С. 45-55.
209. Фердман Н.А. Эффективность селеносодержащих препаратов при гепатозе коров [Текст]: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01 / Фердман Наталья Анатольевна. – Екатеринбург, 2007. – 18 с.
210. Фомин О.А. Влияние ликверола на биохимические показатели крови коров / О.А. Фомин // Сборник XI Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, посвященный 95-летию Кубанского ГАУ и 80-летию со дня образования Краснодарского края «Научное обеспечение агропромышленного комплекса». КубГАУ. – 2017. – С. 168-169.
211. Фомин О.А. Фармако-токсикологические свойства ликверола и его применение при гепатозе крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. вет. наук : 06.02.03 / Фомин Олег Анатольевич. – Краснодар, 2019. – 24с.
212. Фрейм М. Ультразвуковая диагностика заболеваний мелких домашних животных / М. Фрейм, Ш. Редроб, Э. Дики, Й. Ленг, В. Шмид, П. Маннион. – М.: «Аквариум-принт». – 2008 – 320 с.
213. Хазанов А.И. Функциональная диагностика болезней печени / А.И. Хазанов. – М. : Медицина. – 1988. – 304 с.
214. Хазиева А.М. Об особенностях изменения динамики и структуры поголовья скота / А.М. Хазиева // Перспективы инновационного развития АПК: материалы международной научно-практической конференции в рамках XXIV Международной специализированной выставки «АгроКомплекс–2014». Часть III. – Уфа: Башкирский ГАУ, 2014. – С. 239-242
215. Хазимухаметова И.Ф. Динамика показателей метаболизма при лечении гепатоза у коров / И.Ф. Хазимухаметова, Э.М. Баширова // Аграрный вестник Урала. – 2010. – № 6 (72). – С. 50-51.

216. Хазимухаметова И.Ф. Лечение коров при гепатозе / И.Ф. Хазимухаметова, Р.Р. Идрисова // Ветеринария. – 2008. – №5. – С. 39-42.
217. Хенниг А. Эрготропики: регуляторы обмена веществ и использования кормов сельскохозяйственными животными / А. Хенниг. – М.: Агропромиздат. – 1986. – 344 с.
218. Хмельницкий Г.А. Терапия животных при отравлениях / Г.А. Хмельницкий. – К.: Урожай. – 1990. – 216 с.
219. Чандлер Э.А. Болезни кошек / Э.А. Чандлер, Р.М. Гаскелл, К.Дж. Гаскелл. – М.: «Аквариум-принт». – 2011. – 712 с.
220. Шабанов П.Д. Защитные эффекты полипrenoлов на модели подострого гепатоза с энцефалопатией у крыс / П. Д. Шабанов, В. С. Султанов, А. А. Лебедев [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т. 10. – № 2. – С. 50-57.
221. Шакиров О.Ф. Катозал 10 % как средство для профилактики кетоза у коров / О.Ф. Шакиров // Ветеринария Кубани. – 2007. – № 5. – С. 13.
222. Шамсутдинова И.Р. Влияние наночастиц серебра на некоторые функции печени в организме животных / И.Р. Шамсутдинова // Новая наука: Теоретический и практический взгляд. – 2015. – № 5-3. – С. 22-25.
223. Шарабрин И.Г. Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных / И.Г. Шарабрин // М.: «Колос». – 1976. – С. 261-262.
224. Шаталов С.В. Молочная продуктивность черно-пестрого скота в хозяйствах Российской Федерации / С.В. Шаталов, В.Н. Приступа, Я.В. Кочуева // Вестник Донского государственного аграрного университета, 2015. – № 2-1(16). – С. 79-91.
225. Шах-Меликьян Т.А. Изучение фармако-токсикологических свойств препарата Дипромоний-М. дисс. ... канд. вет. наук : 06.02.03 / Шах-Меликьян Татьяна Антраниковна. – Краснодар, 2012. – 144 с.
226. Шиповская А.А. Урсодеоксихолевая кислота в лечении больных неалкогольным стеатогепатитом / А.А. Шиповская, И.В. Курбатова, И.А. Белавина [и др.] // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2016. – № 3-4. – С. 7-11.

227. Шкуратова И.А. Морфофункциональные изменения печени у коров и их плодов при повышенном содержании в рационе свинца и кадмия / И.А. Шкуратова, Л.И. Дроздова, А.И. Белоусов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 3. – С. 162-164.
228. Шпарке А. Синдром мобилизации липоидов коров молочного направления – как изменяется печень? / А. Шпарке // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. – № 12. – С. 31-37.
229. Шульпекова Ю.О. Флавоноиды расторопши пятнистой в лечении заболеваний печени / Ю.О. Шульпекова // Русский мед. журн. – 2004. – Т 12. – №5. – С. 248-250.
230. Шульпекова Ю.О. Таргентная терапия заболеваний печени / Ю.О. Шульпекова // Справочник поликлинического врача. – 2009. – № 5. – С. 21-25.
231. Шулутко Б.И. Болезни печени и почек / Б.И. Шулутко. – Изд. 2-е испр. и дополн. – СПб.: изд-во РЕНКОР, 1995. – 480 с.
232. Щербаков Г.Г. Справочник ветеринарного терапевта: Учебное пособие. 5-е изд. испр. и доп. / Под ред. проф. Г. Г. Щербакова. – СПб., Издательство «Лань». – 2009. – 656 с.
233. Щербаков Г.Г. Внутренние болезни животных / Г.Г. Щербаков, А.В. Коробов, Б.М. Анохин и др.; под общ. ред. Г.Г. Щербакова, А.В. Коробова. СПб.: Лань, 2002. – 736 с.
234. Яковенко Э.П. Хронические заболевания печени: диагностика и лечение / Э.П. Яковенко, П.Я. Григорьев // Русский мед. журн. – 2003. – Т.11. – №5. – С. 291-296.
235. Яковлева Е.Г. Пирролизидиновые алкалоиды растений семейства бумбациковых и их гепатотоксическое действие на животных / Е.Г. Яковлева // С.-х. биология. – 2003. – №2. – С. 90-95.
236. APEX2 (Version 2.1), SAINT Plus. Data Reduction and Correction Program (Version 7.31A), Bruker Advanced X-ray Solutions, BrukerAXS Inc. Madison, Wisconsin, USA. – 2006.
237. Belugin N.V. Hepatosis in highly productive cows, treatment and prevention / N.V. Belugin, N.A. Pisarenko, B.V. P'yanov, E.N. Shuvalova // Agricultural Bulletin of Stavropol Region, 2015. – № 214. – P. 112-116.

238. Berkson B.M. A conservative triple antioxidant approach to treatment of hepatitis C. Combination of alpha lipoic acid (thioctic acid), silymarin, and selenium: three case histories / B. M. Berkson // *Medizinische Klinik (Munich)*. – 1999. – Vol. 94. – № 3. – P. 84-89.
239. Bobe G. Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. / G. Bobe, J. W. Young, and D. C. Beitz // *Journal of dairy science*. – 2004. – Vol. 87. – P. 3105-3124.
240. Brill M.S. Adult generation of glutamatergic olfactory bulb interneurons / M.S. Brill [et al.] // *Nat. Neurosci.* – 2009. – Vol. 12. – P. 1524-1533.
241. Cheng D. Preliminary profiling of micro-RNA in the normal and regenerating liver of *Chiloscyllium plagiosum* / D. Cheng, Y. Chen, C. Lu [et al.] // *Comparative Biochemistry and Physiology – Part D: Genomics and Proteomics*. – 2017. – Vol. 24. – P. 60-67.
242. Cienfuegos J.A. Liver regeneration – the best kept secret. A model of tissue injury response / J.A. Cienfuegos [et al.] // *Rev Esp Enferm Dig.* – 2014. – Vol. 106(3). – P. 171-194.
243. Cotran R.S. Robbins' pathologic basis of disease / R.S. Cotran, V. Kumar, S.L. Robbins, W.B. Saunders // Philadelphia, 1989. – Pages: 1519.
244. Dietz W.H. Overweight children and adolescents / W.H. Dietz, T.N. Robinson // *The New England Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 352. – P. 2100-2109.
245. Ding L. Bile acid nuclear receptor FXR and digestive system diseases / L. Ding, L. Yang, Z. Wang [et al.] // *Acta Pharm. Sin. B.* – 2015. – Vol. 5. – P. 135-144.
246. Eremeeva E.V. Oxygen activation of apo-obelin-coelenterazine complex / E.V. Eremeeva, P.V. Natashin, L. Song [et al.] // *Chembiochem.* – 2013. – Vol. 14 (6). – P. 739-745.
247. ETS № 123, Strasbourg, 18.03.1986.
248. Ettinger S.J. Textbook of Veterinary Internal Medicine / S.J. Ettinger, E. Feldman. – 6th edition (2 Volume set) Volume 1. – 2010. – P. 912.
249. Faccin Tatiane Cargnin, Kommers Glaucia Denise, Galiza Glauco José Nogueira de, Pupin Rayane Chitolina, Madureira Renata Cunha, & Lemos Ricardo Antônio Amaral de. Chronic liver disease in cattle associated with ingestion of *Brachiaria* spp. *Ciência Rural*, 2016. – 46(11). – 2036-2042.

250. Farrell G.C. Hepatic microcirculation in fatty liver disease. / G.C. Farrell, N.C. Teoh, and R.S. Mc-Cuskey // *The anatomical record*. – 2004. – Vol. 291. – P. 684-692.
251. Gould K.S. Flavonoid functions in plants/ K.S. Gould, C. Lister // Andersen O.M., Markham K.R. (eds.): *Flavonoids // Chemistry, biochemistry and applications*. – London: CRC Press, 2010. – P. 397-440.
252. Gundermann K.J. Essential phospholipids in fatty liver: a scientific update / K.J. Gundermann, S. Gundermann, M. Drozdziak, V.G. Mohan Prasad // *Clin Exp Gastroenterol*. – 2016. – Vol. 63. – № 9. – P. 105-117.
253. Higgins R.J. Fat cow syndrome in a British dairy herd / R.J. Higgins, W.S. Anderson // *Veterinary Record*. – 1983. – Vol. 20. – P. 461-463.
254. <http://morehealthy.ru/material/primenenie-glitserina-v-medicine-1783.html>. [электронный ресурс] (дата обращения 12.05. 2017).
255. <http://www.neboleem.net/glicerin.php> [электронный ресурс] (дата обращения 24.03. 2017).
256. <https://ru.wikipedia.org/wiki/Этанол>. [электронный ресурс] (дата обращения 07.10. 2016).
257. Jacobs B. Milk thistle for the treatment of liver diseases: a systematic review and meta-analysis / B. Jacobs, C. Dennehy, G. Ramirez, J. Sapp // *Lawrence Am J Med*. 2002. – 113:506-515.
258. Jiang J. Nonalcoholic Steatohepatitis and the Metabolic Syndrome / J. Jiang, N. Torok // *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. – 2008. – March. – P. 1-7.
259. Kang J.S. Inhibition of Inducible nitric-oxide synthase expression by silymarin in lipopolysaccharide-Stimulated macrophages / J.S. Kang, Y.J. Jeon, H.M. Kim Han et al. // *Teh journal of pharmacology and experienta therapeutics*. – 2002. – Vol. 302. – №. 1. – P.138-144.
260. Kuntz E. The role of the active agent silymarin in liver disease. – Frebiurg: Falk-Foundation. – 1994. – P. 75.
261. Kotb M.A. Molecular mechanisms of ursodeoxycholic acid toxicity & side effects: ursodeoxycholic acid freezes regeneration & induces hibernation mode / M.A. Kotb // *Int. J. Mol. Sci*. – 2012. – Vol. 7. – P. 8882-8914.

262. Lima F.S. Effects of feeding rumen-protected choline on incidence of diseases and reproduction in dairy cows / F.S. Lima, M.F. Sa Filho, L.F. Creco [et al.] // *The Veterinary Journal*. – 2011. – Vol. 193 (1). – P. 140-144.
263. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver diseases: part 1 // *Altern. Med. Rev.* – 1998. – Vol. 3. – P. 410-421.
264. Mandjori S. The secrets of clinical diagnostics the small animals / S. Mandjori. – 2004. – P.427.
265. Mari M. Redox Control of Liver Function in Health and Disease / M. Mari, A. Colell, A. Morales et al. // *Antioxidants & Redox signaling*. – 2010. – ol. 12. – № 11. – P. 1295-1331.
266. McAvoy N.C. Nonalcoholic fatty liver disease: natural history, pathogenesis and treatment / N.C. McAvoy, J.W. Ferguson, I.W. Campbell [et al.] // *Diabetes & Vascular Disease Research* – 2006. – Vol. 6. – P. 251-260.
267. McCuskey R.S. Hepatic microvascular dysfunction during evolution of dietary steatohepatitis in mice. / R.S. McCuskey, Y. Ito, G.R. Robertson [et al.] // *Hepatology*. – 2004. – Vol. 40. – P. 386-393.
268. McDonnell M.E. Drug-related hepatotoxicity / M.E. McDonnell, L.E. Braverman, K.P. Patel [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2014. – Vol. 354. – P. 2191-2193.
269. Mitcheva M. Biochem and morphological studies on the effects of anthocyanins and vitamin E on carbon tetrachloride induced liver injury / M. Mitcheva, H. Astroug, D. Drenska et al. // *Cell – Mol – Biol. – Noisy – le-grand*. – 1993. – Jun. – №39 (4). – P. 443-448.
270. Méndez-Sánchez N. Current concepts in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease / N. Méndez-Sánchez, M. Arrese, D. Zamora-Valdés, M. Uribe // *Current concepts in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. Liver Int.* 2007. – 27(4):423-33.
271. Mudron P. Plasma and liver alpha-tocopherol in dairy cows with left abomasal displacement and fatty liver / P. Mudron, I. Rehage, H.P. Sallmann et al. // *Zentralbl – Veterinarmed – A*. – 1997. – Apr. – №44 (2). – P.91-97.
272. Mueller M. Ursodeoxycholic acid exerts farnesoid X receptor-antagonistic effects on bile acid and lipid metabolism in morbid obesity / M. Mueller, A. Thorell, T. Claudel [et al.] // *J. Hepatology*. – 2015. – № 6. – P1398-1404.

273. National Research Council. 2011. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. Washington, DC: The National Academies Press.
274. Neuschwander-Tetri B.A. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference / B. A. Neuschwander-Tetri, S.H. Caldwell // Hepatology. – 2003. – Vol. 37. – P. 1202-1219.
275. Okushin K. The intrahepatic expression levels of bile acid transporters are inversely correlated with the histological progression of nonalcoholic fatty liver disease / K. Okushin, T. Tsutsumi, K. Enooku [et al.] // J. Gastroenterol. – 2016. – Vol. 51 (8). – P. 808-818.
276. Pechova A. Einwirkungen der Lebersteatose auf den Stoffwechsel bei Milchkühen / A. Pechova, J. Inek, I. Pavlata // Wien. tierarzti. Mschr. – 2002. –1. Jg 89. – H 11. – S. 325-332.
277. Pradhan S.C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine / S.C. Pradhan, C. Girish // Ind. Med. Res. 2006. – Vol. 124. – № 5. – P. 491-504.
278. Presisig R. Supplements to the editorial «Liver protection Therapy» / R. Presisig // Schweiz Rundsch Med Prax., 1970. – № 59 (45). – P. 1559-1560.
279. Read E. Current Understanding of Acute Bovine Liver Disease in Australia / E. Read, J. Edwards, M. Deseo, G. Rawlin, S. Rochfort // Toxins (Basel). – 2016;9(1):8.
280. Semenenko M.P. Opportunities of complex hepatitis therapy in cattle / M.P. Semenenko, D.V. Osepchuk, N.A. Yurina, E.V. Kuzminova and K.A. Semenenko // AGRITECH-III-2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 548 (2020) 042048.
281. Semenenko M.P. Endogenic intoxication as a reflection of metabolic disorders in cows and possibilities of its pharmacological correction / M.P. Semenenko, T.A. Sakhno, E.V. Kuzminova and A.V. Savinkov // BIO Web Conf., 27 (2020) 00029.
282. Shanani S. Evaluation of hepatoprotective efficacy of APCL-A polyherbal formulation in vivo in rats / S. Shanani // Indian Drugs. – vol.36. – 1999. – P. 628-631.
283. Simeone J.F. The sonographic diagnosis of acute gangrenous cholecystitis: importance of the Murphy sign / J.F. Simeone, J.A. Brink, P. Mueller // Vol. 152. – ARJ. – 1989. – P. 289-292.

284. Weijers G. Interactive and automatic ultrasound image segmentation methods for staging hepatic lipidosis / G. Weijers, A. Starke, A. Haudum [et al.] // *Ultrasonic Imaging*. – 2010. – Vol. 32. – P. 143-153.
285. West H. Clinical and Pathological Studies in Cattle with Hepatic Disease / H. West // *Vet Res Commun*. 1997 – 21. – 169-185.
286. Williams J.M. The liver and biliary tract / J.M. Williams, D.N. Jacqui. – *BSAVA Manual of Canine and Feline Abdominal Surgery*, BSAV – 2005. – P. 168-194.
287. Zun Xiang The role of Ursodeoxycholic acid in nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review / Zun Xiang, Yi-Peng Chen, Kui-fen Ma [et al.] // *BMC Gastroenterol*. – 2013. – Vol. 13. – P. 14.

ПРИЛОЖЕНИЕ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2680393

Инъекционное средство для лечения гепатозов у крупного рогатого скота

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

Авторы: *Семененко Марина Петровна (RU), Кузьминова Елена Васильевна (RU), Трошин Андрей Николаевич (RU), Онищук Филипп Давидович (RU), Фомин Олег Анатольевич (RU), Тяпкина Евгения Викторовна (RU), Зотова Татьяна Александровна (RU)*

Заявка № 2018109836

Приоритет изобретения 20 марта 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 20 февраля 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 20 марта 2038 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



Рассмотрено и одобрено Ученым советом
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоо-
технике и ветеринарии»

Протокол № 5

09 июля 2019 года



Председатель совета,
доктор сельскохозяйственных наук
Д.В. Осепчук
" 07 " 07 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению препарата ЛИВАЗЕН в ветеринарии и животноводстве
(в порядке производственных испытаний)

ИЗГОТОВЛЕНО: ООО «УНИФАРМ»

(Краснодарский край, г. Славянск-на-Кубани).

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Торговое наименование лекарственного препарата:
ЛИВАЗЕН (LIVAZEN), Международное непатентованное наименование:
диизопропиламмония дихлорацетат.

1.2 Лекарственная форма: 20 %-ный раствор для внутримышечного введения
в ампулах по 1мл и 5 мл, во флаконах 50 мл и 100 мл

1.3 В препарате в качестве активных веществ содержится: диизопропиламмо-
ния дихлорацетат – 200 г, этанол 96 % – 175 мл, глицерин – 625 мл.

2. ФАСОВКА И МАРКИРОВКА

2.1 Препарат выпускают в виде 20 %-ного раствора в стеклянных флаконах
ТУ 9461-010-00480514 объемом 5, 10, 50, 100 мл, которые укупоривают резиновыми
пробками ТУ 9467-001-44111344 и закатывают алюминиевыми колпачками или в
контурную безъячейковую упаковку типа пакет-саше из комбинированного матери-
ала «Буфлен» или других многослойных синтетических материалов.

2.2 Срок годности препарата при соблюдении условий хранения – 2 года со
дня производства.

2.3 Хранят ЛИВАЗЕН в закрытой упаковке организации-производителя в су-
хом, защищенном от прямых солнечных лучей месте, отдельно от пищевых продук-
тов и кормов, при температуре от 0°C до 25°C.

2.4 Препарат следует хранить в местах, недоступных для детей.

2.5 Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии
с требованиями законодательства.

3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

3.1 Лекарственный препарат ЛИВАЗЕН обладает выраженными гепатопротекторными, антиоксидантными, липотропными свойствами.

3.2 Механизм действия, входящего в состав препарата, диизопропиламмония дихлорацетата обусловлен его антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием. Он ингибирует процессы перекисного окисления липидов, повышает активность супероксидоксидазы, повышает соотношение липид-белок, уменьшает вязкость мембраны, увеличивает ее текучесть. Модулирует активность мембраносвязанных ферментов, рецепторных комплексов, что усиливает их способность связывания, способствует сохранению структурно-функциональной организации биомембран. Диизопропиламмония дихлорацетат оказывает липотропное действие, благоприятно влияет на антитоксическую и пигментную функцию печени, повышает устойчивость к гипоксии и различного рода интоксикациям.

3.3 По степени воздействия на организм ЛИВАЗЕН относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает местно-раздражающим, эмбриотоксическим и тератогенным свойствами.

4. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Лекарственный препарат ЛИВАЗЕН назначают животным самостоятельно или в составе комплексной терапии:

- при острых и хронических заболеваниях печени различной этиологии (в том числе вызванных бактериальными и вирусными инфекциями),
- для нормализации функции и регенерации печени после эндо- и экзотоксикозов, соматических и инфекционных заболеваний,
- для снижения отрицательного влияния лекарственных средств, обладающих гепатотоксичностью;
- для повышения устойчивости к заболеваниям;
- сокращения длительности восстановительного послеоперационного периода;
- для детоксикации и скорейшего вывода из организма вредных метаболитов (тяжелые металлы, нитраты, органические фосфаты);

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

4.3 Дозы и способ применения:

Препарат применяют крупному рогатому скоту внутримышечно в соотношении 1:5 (4 мл препарата и 20 мл стерильного физиологического раствора) в заднебедренные группы мышц (разово или дробно по 12 мл 2 раза в сутки с интервалом в 12 часов) ежедневно в течение 21-го дня.

При необходимости курс лечения повторяют через 2-3 недели.

С профилактической целью ЛИВАЗЕН применяют внутримышечно в соотношении 1:5 к стерильному физиологическому раствору (2 мл препарата и 10 мл физраствора) ежедневно в течение 14 дней.

4.4 Симптомы передозировки у животных не выявлены.

4.5 Особенности действия препарата при его первом применении и отмене не установлено.

4.6 При применении препарата в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений, как правило, не наблюдается. В случае появления аллергических реакций использование препарата прекращают и назначают животному антигистаминные и симптоматические средства.

4.7 Применение препарата ЛИВАЗЕН не исключает использование других лекарственных средств, патогенетической и симптоматической терапии.

5. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

5.1 При применении препарата ЛИВАЗЕН следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами.

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

По окончании работы следует тщательно вымыть руки с мылом.

Пустые упаковки из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, они подлежат утилизации 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.

Организация-производитель – ООО «УНИФАРМ», г. Славянск-на-Кубани.
353560 Краснодарский край, г. Славянск-на-Кубани, ул. Проточная 177.

УТВЕРЖДАЮ:



А К Т

Об изучении фармакодинамических эффектов гепатопротекторного препарата ливазен при коррекции гепатозов у крупного рогатого скота

Нами, главным ветеринарным врачом ООО «Агрофирма «Лада» Павлюк А.В., заведующей лабораторией фармакологии Краснодарского НИВИ Семененко М.П., старшим научным сотрудником лаборатории фармакологии Краснодарского НИВИ Тяпкиной Е.В, младшим научным сотрудником лаборатории Зотовой Т.А., проводились исследования по изучению фармакодинамических эффектов гепатопротекторного препарата ливазен при коррекции гепатозов у крупного рогатого скота.

Опыт проводился на послеотельных коровах в возрасте 3–4 лет без клинических признаков патологии печени, и животных, с признаками нарушения функциональной активности печени (угнетение, снижение аппетита, матовость и взъерошенность волосяного покрова, снижение эластичности кожи. В двух случаях отмечалась гипотония преджелудков и повышение болевой чувствительности при пальпации области печени). Выбор животных был обусловлен тем, что в процессе отела в организме коров происходят серьезные физиологические сдвиги, обуславливающие интенсификацию обменных процессов и увеличение функциональной нагрузки на органы и системы, и, в первую очередь, на печень.

Коров, отобранных в опыт, разделили на две группы по 5 животных в каждой и на протяжении 28 дней внутримышечно вводили ливазен в дозе 3 мл препарата, смешанного с 15 мл стерильного физиологического раствора в заднебедренную группу мышц. Кровь для исследований отбирали до начала введения препарата (фон), на 7,14,21 и 28 дни эксперимента.

Результатами эксперимента установлено, что в группе здоровых животных, статистически значимых изменений в основных показателях обмена веществ на протяжении всего периода исследований не выявлено. Все динамические колебания, наблюдаемые в течение 30 дней носили характер тенденции и варьировали в пределах видовой нормы. Тогда как у животных с признаками нарушения функциональной активности печени, динамика изменения ряда показателей носила следующий характер:





В белковом обмене отмечено возрастание уровня общего белка на 11,75% относительно фоновых показателей. Причем, это повышение прямо пропорционально увеличению уровня альбуминовой фракции, которая на протяжении всего периода исследований имела тенденцию к возрастанию, достигая пика роста на 7-14 дни введения препарата. Под действием ливазена произошло снижение воспалительного синдрома клеток печени, который изначально проявлялся повышением таких показателей, как γ -глобулины и тимоловая проба. Высокий уровень γ -глобулинов к концу эксперимента снизился на 14,8%, а воспаление печеночной паренхимы к 28-му дню полностью исчезло.

Под действием препарата произошли изменения ферментной активности клеток печени. Концентрация аспартатаминотрансферазы снизилась на 24,4%, аланинаминотрансферазы – на 49,0% (при высокой степени достоверности – $P \leq 0,05$). Отмечена тенденция к снижению активности щелочной фосфатазы.

Неоднозначно происходили изменения в обмене билирубина. При фоновом исследовании концентрация общего билирубина находилась на пограничном с нормой уровне. И к 7-му дню эксперимента произошло его резкое (в 1,56 раза) увеличение, что может происходить при деструктивно-дистрофических изменениях в гепатоцитах печени, приводящих к их разрушению. Однако применение ливазена, обладающего липотропным действием на липидный слой мембран гепатоцитов, способствовало снижению цитолитического синдрома и укреплению стенок клеток печени.

Выполненные экспериментальные исследования свидетельствуют, что фармакодинамика ливазена характеризуется комплексом динамических эффектов, выражающихся улучшением протеинсинтетической (увеличение уровня общего белка с прямой корреляцией возрастания альбуминов) и ферментобразующей функций печени, а также снижением воспалительного и цитолитического синдромов печеночных клеток.

Гл. в/в ООО «Агрофирма «Лада»
Зав. лаб. фармакологии КНИВИ
Ст. научн. сотрудник лаб. фармакологии
Мл. научн. сотрудник лаб. фармакологии





Павлюк А.В.
Семенов М.П.
Тяпкина Е.В.
Зотова Т.А.

УТВЕРЖДАЮ:

Руководитель
ООО «Агрофирма Кубань»
Северского района
Краснодарского края
Абдуллаев И.А.

2017 г.



АКТ

По изучению влияния ливазена на уровень эндогенной интоксикации в организме коров

Нами, главным ветеринарным врачом ООО «Агрофирма Кубань» Нестеровым В.М., заведующей лабораторией фармакологии ФГБНУ Краснодарский НИВИ Семенов М.П., старшим научным сотрудником лаборатории фармакологии ФГБНУ Краснодарский НИВИ Тяпкиной Е.В., младшим научным сотрудником лаборатории фармакологии Зотовой Т.А. в период с октября по декабрь 2016 г. проведены испытания по изучению влияния ливазена на уровень эндогенной интоксикации в организме коров.

Для изучения эндотоксических свойств препарата ливазен было сформировано четыре группы животных по 5 голов в каждой – две опытные и две контрольные. Первая опытная группа – животные, находящиеся на пятом месяце стельности, вторая опытная – новотельные коровы. Животным опытных групп препарат ливазен вводили внутримышечно в профилактической дозе в соотношении 1:5 (2 мл препарата и 10 мл стерильного физиологического раствора) в течение 14 дней. Контрольным группам животных с учетом способа введения в тех же дозах применяли физиологический раствор.

Оценку результатов проводили по динамике холестерина и молекул средней массы, для чего в начале эксперимента и по его окончанию у всех коров, отобранных в опыт, производили забор крови.

Анализ результатов биохимического исследования сыворотки крови установил, что введение коровам ливазена оказало значительное влияние на показатели холестерина и МСМ. Так, концентрация холестерина в первой опытной группе снизилась на 21,0% относительно фоновых значений, во второй опытной группе – на 15,9% соответственно. Тогда как в контрольных группах, напротив, произошло увеличение данного показателя на 16,3% и 12,2%.

Показатель молекул средней массы с момента начала исследований в первой опытной группе снизился, в зависимости от длины экспозиции на 10,0% и 11,8% что, объективно указывает на снижение интенсивности катаболических процессов, являющихся основным источником среднемолекулярных эндогенных токсинов и улучшение функционирования интегральных

(детоксикационных) систем организма, отражающих динамику метаболических сдвигов в сторону улучшения. Уровень средних молекул в опытной группе новотельных коров при длине экспозиции 254 усл. ед. снизился на 4,0%, не изменившись при длине волны 280 усл.ед. Возможно, в этом случае, применение препарата стабилизирует протекание биохимических реакций в организме, обеспечивая его нормальное функционирование.

Уровень СМП в контрольных группах претерпел изменения только у стельных коров. В конце экспериментального периода произошло их снижение (на уровне тенденции) на 7,7% и 4,3% в зависимости от длины экспозиции. У новотельных животных данные показатели остались практически неизменными, либо незначительно выросли (на 4,5% при длине волны 280 усл. ед.).

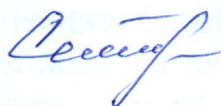
Таким образом, спектр фармакологической активности препарата ливазен проявляется снижением уровня средних молекул и, прежде всего, пептидов с более низкой молекулярной массой, приводя, тем самым, к уменьшению выраженности эндогенного («метаболического») токсикоза у крупного рогатого скота. При этом наиболее выраженное действие препарата наблюдается у животных в период беременности, когда в организме происходит усиление липидного обмена, тогда как в послеродовой период отмечается его регрессия, поэтому уровень эндогенной интоксикации может уменьшаться за счет внутренних процессов самого организма.

Главный ветврач ООО «Агрофирма
Кубань»



Нестеров В.М

Зав. лабораторией фармакологии
ФГБНУ Краснодарский НИВИ, д.в.н.



Семенов М.П.

Старший научный сотрудник
лаборатории фармакологии ФГБНУ
Краснодарский НИВИ, к.в.н.



Тяпкина Е.В.

Младший научный сотрудник лабора-
тории фармакологии



Зотова Т.А.



УТВЕРЖДАЮ:

Директор
УОХ «Кубань» КубГАУ
Логойда Т.В.
«*14*» *марта* 2017 г.

АКТ

По изучению профилактической эффективности ливазена при гепатозах коров

Нами, главным ветеринарным врачом УОХ «Кубань» КубГАУ Пшеничным М.Е., заведующей лабораторией фармакологии ФГБНУ Краснодарский НИВИ Семененко М.П., старшим научным сотрудником лаборатории фармакологии ФГБНУ Краснодарский НИВИ Тяпкиной Е.В., младшим научным сотрудником лаборатории фармакологии Зотовой Т.А. в период с февраля по март 2017 г. проведены испытания профилактической эффективности ливазена при гепатозах коров.

Исследования проведены на коровах голштино-фризской породы в возрасте 2-3 лет. Первая группа состояла из животных, находящихся на 5-6 месяцах стельности, вторая группа – новотельных коров.

Клиническое обследование коров выявило комплекс общих обменных нарушений. В биохимических показателях сыворотки крови установлено снижение уровня общего белка, глюкозы, триглицеридов, β -глобулинов и повышении γ -глобулинов, АЛАТ, общего билирубина (до 2,46 раза). В минеральном обмене установлено нарушение Са:Р соотношения, связано со снижением уровня кальция.

При ультрасонографии коров изображение паренхимы печени характеризовалось выраженной неоднородностью. Просматривались отдельные мелкие очажки высокой эхогенности отражающие склерозирование сосудистой стенки гепатоцитов. В структуре паренхимы по видимому полю визуализировались мелкие зернистые участки, чередующиеся с множеством эхонегативных образований, соответствующих расширенным венам и желчным протокам. В некоторых случаях выявлялись участки пониженной или повышенной контрастности. Печеночный край увеличен, смазан, в отдельных случаях слегка деформирован

Установлено, что применение препарата ливазен оказало существенное влияние на клинический статус и гомеостаз подопытных животных. В результате профилактических мероприятий отмечена активизация белоксинтетической функции печени на фоне


ослабления «воспалительного синдрома» в гепатоцитах, что подтверждалось отрицательными значениями тимоловой пробы. Использование препарата позволило сохранить постоянство энергетических запасов в организме коров и обеспечить более эффективное использование обменной энергии. Ливазен оказал нормализующее влияние на показатели липидного обмена (уровень триглицеридов увеличился в 2,3 раза). Отмечено увеличение концентрации кальция (на 14,5-29,9%), стабилизация кальций-фосфорного соотношения. Профилактическое использование препарата позволило обеспечить тенденцию к снижению ферментной активности (по АсАТ – на 6,9 %; по АлАТ – на 24,4%; по ЩФ – на 11,6%). Уровень билирубина снизился в 2,2 раза.

Использование ливазена в профилактике гепатозов у коров оказало выраженное влияние на показатели среднемoleкулярных пептидов в крови животных. Снижение МСМ у опытных животных в зависимости от длины волны составило от 5,3% до 33,3%.

Через 14 дней при УЗИ-исследовании наблюдались регенеративные процессы в печени почти у всех опытных животных. Края долей печени были ровными, местами четкими. Эхоструктура органа имела гомогенное строение с одинаковым распределением сигналов по интенсивности, равномерным изображением сосудов, местами встречаются участки слабой и выраженной эхогенности.

Таким образом, использование препарата ливазен обеспечивает выраженный профилактический эффект у коров.

Главный ветврач УОХ «Кубань»
КубГАУ

 Пшеничнов М.Е.

Зав. лабораторией фармакологии
ФГБНУ Краснодарский НИВИ,
д.в.н.

 Семенов М.П.

Старший научный сотрудник
лаборатории фармакологии
ФГБНУ
Краснодарский НИВИ, к.в.н.

 Тяпкина Е.В.

Младший научный сотрудник ла-
боратории фармакологии

 Зотова Т.А.

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ОАО «Кубань»
МТФ №1

Новопокровского района
Сыроватко С.И.
« 05 » 05 2018 г.



АКТ

По изучению лечебной эффективности ливазена при гепатозах коров

Нами, главным ветеринарным врачом ОАО «Кубань» МТФ №1 Рыбалкин А.В., заведующей лабораторией фармакологии ФГБНУ Краснодарский НИВИ Семеновко М.П., старшим научным сотрудником лаборатории фармакологии ФГБНУ Краснодарский НИВИ Тяпкиной Е.В., младшими научными сотрудниками лаборатории фармакологии Зотовой Т.А. и Абрамовым А.А. в период с февраля по апрель 2018 года проведены испытания лечебной эффективности ливазена при гепатозах коров.

Исследования проведены на коровах голштино-фризской породы в возрасте 3 – 5 лет в период сухостоя с признаками с признаками жирового гепатоза. Диагноз ставился на основании клинического обследования животных, биохимического исследовании сыворотки крови и УЗИ-диагностики.

Комплексом клинических исследований у коров были установлены серьезные поражения печени, сопровождающиеся чрезвычайно широким спектром обменных нарушений.

Для проведения эксперимента по принципу парных аналогов было сформировано две группы по 5 животных в каждой (контрольная и опытная). Первой группе внутримышечно вводили препарат ливазен в соотношении 1:5 (4 мл препарата и 20 мл стерильного физиологического раствора) в заднебедренные группы мышц ежедневно в течение 21-го дня. Контрольной группе в том же объеме вводили 25 мл стерильного физиологического раствора.

Клиническое состояние за подопытными животными проводили ежедневно, биохимические исследования сыворотки крови – на 14-й и 21-й дни экспериментального периода. Кроме того, в ходе исследования проводилась регистрация всех нежелательных явлений для оценки безопасности применения препарата животным.

Анализ результатов биохимического исследования сыворотки крови установил, что введение коровам ливазена оказало значительное влияние на ряд показателей

По уровню протеинового обмена отмечена положительная динамика с достоверным преимуществом увеличения концентрации общего белка в сыворотке крови опытных животных. Так, в опытной группе этот показатель на 21-й день

исследований увеличился относительно контрольных аналогов на 17,6%, относительно фоновых значений – на 26,3%.

Анализ протеинограмм показал существенные изменения от применяемой терапии. Фракция альбуминов увеличилась на 27,2%, достигнув уровня границ видовой нормы. Отмечена тенденция к снижению γ -глобулинов на 18,6%.

На фоне проведения терапии больных хроническим гепатозом коров, наблюдалось достоверное снижение ферментной активности трансаминаз печени при одновременном увеличении этих показателей в группе контроля. К концу эксперимента уровень аспартатаминотрансферазы в опытной группе снизился в 1,6 раза, аланинаминотрансферазы – в 1,71 раза, относительно фоновых показателей и на 20,4% и 17,8% – относительно коров контрольной группы, что свидетельствует об эффективном устранении синдрома цитолиза клеток печени под воздействием препарата.

В результате улучшения метаболических процессов в группе опытных животных наблюдалось повышение уровня мочевины (в 2,29 раза к фону и в 1,78 раза к животным биологического контроля). Достоверно уменьшилась выраженность холестатического синдрома, что характеризовалось снижением активности щелочной фосфатазы в 1,71 раза ($p < 0,05$), общего билирубина – в 1,87 раза. В контроле эти показатели к концу исследований снизились на 5,2% и 28,6%.

Существенные изменения произошли в обмене каротина. Его концентрация в опытной группе коров на 14-й день лечения выросла в 5,0 раз, а к 21-му дню – в 6,7 раза.

При клиническом осмотре у животных была отмечена нормализация работы желудочно-кишечного тракта, улучшение аппетита, двигательной активности. Атония преджелудков не наблюдалась.

Таким образом, ливазен показал выраженную эффективность в коррекции основных синдромов поражения печени у коров, что подтвердилось результатами УЗИ.

Главный ветврач ОАО «Кубань» МТФ №1
Зав. лабораторией фармакологии
ФГБНУ Краснодарский НИВИ, д.в.н.
Старший научный сотрудник
лаборатории фармакологии ФГБНУ
Краснодарский НИВИ, к.в.н.
Младший научный сотрудник лаборатории
фармакологии
Младший научный сотрудник лаборатории
фармакологии



Рыбалкин А.В.



Семенов М.П.



Тяпкина Е.В.

Зотова Т.А.

Абрамов А.А.

УТВЕРЖДАЮ:

Врио директора ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»
доктор ветеринарных наук, профессор

Е.А. Паршин

« 18 »

2021 г.



КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований Сахно Татьяны Александровны по диссертационной работе на тему: «Фармако-токсикологические свойства и клиническая эффективность ливазена при гепатозах коров», 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

