

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова»

На правах рукописи



ЛОЩИНИНА ЕВГЕНИЯ ВИКТОРОВНА

**ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ
ПРЕПАРАТА «ГЕПАСЕЙФ» ПРИ ГЕПАТИТАХ ЖИВОТНЫХ**

06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор ветеринарных наук,
профессор
А.А. Волков

Саратов – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБРАННОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ	11
1.1 Обзор встречаемости заболеваний печени у животных	11
1.2 Определение и классификация заболеваний печени у животных	12
1.3 Этиология и патогенез заболеваний печени у животных	14
1.4 Диагностика и лечение животных с заболеваниями печени	16
1.5 Обзор рынка ветеринарных гепатопротекторных препаратов, их преимущества и недостатки	22
1.6 Преимущества предлагаемого гепатопротекторного препарата «Гепасейф»	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	53
3.1 Доклинические исследования препарата «Гепасейф»	53
3.1.1 Изучение острой и хронической токсичности препарата «Гепасейф»	53
3.1.2 Изучение кумулятивных свойств и биологического действия препарата «Гепасейф» в хроническом эксперименте	59
3.1.3 Изучение аллергизирующего действия препарата «Гепасейф»	66
3.1.4 Изучение иммунотоксичности и эмбриотоксического действия препарата «Гепасейф»	69
3.1.5 Изучение переносимости препарата «Гепасейф» собаками и кошками при однократном и повторном введении в терапевтических и повышенных дозах	74
3.1.6 Изучение фармакокинетических параметров препарата «Гепасейф»	82
3.2 Определение гепатопротекторной активности препарата «Гепасейф»	85
3.3 Клинические исследования препарата «Гепасейф»	93
3.3.1 Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении кошек с хроническим гепатитом	93

3.3.2 Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении собак с острым бабезиозным гепатитом	99
3.3.3 Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении поросят с токсической дистрофией печени	105
3.4 Экономическая эффективность применения препарата «Гепасейф» в свиноводстве	111
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	119
ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	122
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	139
ПРИЛОЖЕНИЕ	140

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В последнее время особое внимание в ветеринарной медицине уделяется проблеме роста заболеваний гепатобилиарной системы животных. Как показывает статистика, патологии печени занимают до 25% от всех незаразных болезней. Наибольшее распространение и клиническую актуальность имеют гепатиты, гепатозы, циррозы, холециститы и желчнокаменная болезнь [72, 87, 88].

Печень является центральным органом метаболизма, кроме того, печень активно участвует в пищеварении, дезинтоксикации токсических веществ, поступающих из ЖКТ, а также попадающих в организм извне, поддержании гомеостаза и т.д. Поэтому нарушения её функциональной активности ведёт к довольно значительным нарушениям жизнедеятельности организма [1]. Все это делает актуальным поиск эффективных средств или их комбинаций, позволяющих снизить риск возникновения гепатопатий и осуществить эффективную терапию патологий печени, связанных с неблагоприятными факторами окружающей среды. При этом важно, чтобы лекарственные средства были нетоксичны и обладали высокой биодоступностью [4]. Одним из методов повышения биодоступности лекарственных веществ является применение коллоидных частиц и полимерных матриц [5,42].

Флаволигнаны, выделяемые из лекарственного растения расторопши пятнистой (*Silybum marianum*) (L. Gaerth), относятся к наиболее перспективным препаратам, отвечающим требованиям современной медицины [36]. Они являются сильными антиоксидантами и способны инактивировать как свободные радикалы, так и активные формы кислорода в клетке, блокировать рецепторы и транспортные системы на клеточной мембране, которые обеспечивают перенос токсических веществ в клетку, уменьшать активность макрофагальных клеток, участвующих в презентации антигенов, снижать продукцию гамма-глобулинов, блокировать

липооксигеназы и циклооксигеназы, тем самым оказывая противовоспалительное, иммуномодулирующее и антиканцерогенное действие [34,35].

Степень разработанности темы исследования. Современная фармацевтика предлагает широкий спектр лекарственных препаратов как медицинских, так и ветеринарных, изготовляемых на основе экстракта плодов расторопши пятнистой, таких как Силибинин, Карсил, Гепатовет, Легалон, Гепадестал, Флавобион и другие. [2,112]. Основными действующими веществами этих препаратов являются составляющие силимарина – силибин А и В, изосилибин А и В, изосиликристин, силикристин и силидианин. Флаволигнаны, выделяемые из лекарственного растения расторопши пятнистой (*Silybum marianum*), относятся к наиболее перспективным препаратам, отвечающим требованиям современной медицины. Однако флаволигнаны обладают низкой терапевтической активностью и биодоступностью, которая обусловлена их низкой растворимостью, как в гидрофильных, так и в липофильных растворителях. Поэтому все приведенные выше препараты выпускаются в форме суспензий и таблеток, для орального введения. [20,107]. Это значительно снижает биодоступность лекарственных веществ и осложняет дачу препарата больным животным, а соответственно снижается эффективность назначенного лечения.

В этой связи фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработана инъекционная форма препарата «Гепасейф», имеющая в своем составе экстракт плодов расторопши пятнистой в мицелярной форме, витамин Е, растворитель и соразтворитель на водной основе. Соответственно, новый инъекционный гепатопротекторный препарат «Гепасейф», созданный на основе полимерной матрицы (мицелл), позволяющей значительно повысить биодоступность изомерных биофлавоноидных соединений расторопши пятнистой и снизить побочные явления, является решением актуальной для современной ветеринарии проблемы [6,34,35].

Цели и задачи исследования. Целью работы являлась оценка безопасности и эффективности применения препарата «Гепасейф» при гепатитах животных.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- обосновать безопасность применения препарата «Гепасейф» по результатам доклинического исследования;
- дать оценку гепатопротекторной активности препарата «Гепасейф»;
- изучить терапевтическую эффективность препарата «Гепасейф» при лечении гепатитов собак и кошек;
- изучить терапевтическую эффективность препарата «Гепасейф» при лечении токсической дистрофии печени у поросят и обосновать экономическую эффективность и целесообразность применения препарата «Гепасейф» в свиноводстве.

Объект исследований. Собаки и кошки с воспалительными заболеваниями печени. Больные токсической гепатодистрофией поросята. Лабораторные животные (белые мыши, белые крысы, кролики, морские свинки). Препарат «Гепасейф».

Предмет исследования. Состояние гомеостаза организма животных. Фармако - токсикологические свойства препарата «Гепасейф». Кровь лабораторных животных, поросят, собак и кошек. Клинические, морфологические, биохимические исследования.

Научная новизна исследований. Впервые:

- установлены параметры острой и хронической токсичности препарата «Гепасейф» в эксперименте на лабораторных животных, изучены переносимость и фармакокинетические параметры препарата «Гепасейф»;
- определено гепатопротекторное действие нового препарата «Гепасейф»;
- установлена терапевтическая эффективность препарата «Гепасейф» при гепатитах у мелких домашних животных;
- установлена терапевтическая и экономическая эффективность препарата «Гепасейф» при токсической дистрофии печени у поросят.

Теоретическая и практическая значимость работы. Предложен новый инъекционный лекарственный препарат «Гепасейф», синтезированный на основе изомерных биофлавоноидных соединений расторопши пятнистой, обладающий выраженными гепатопротекторными свойствами. Экспериментально доказана безопасность и эффективность применения, обоснована схема назначения препарата при заболеваниях печени у поросят и мелких домашних животных.

В работе, в эксперименте на лабораторных животных, установлены степени острой и хронической токсичности препарата «Гепасейф», а также получены сведения о его переносимости и фармакокинетике, которые свидетельствуют о том, что данный препарат обладает высокой биодоступностью и относится к препаратам 4-го класса опасности. Установлено, что препарат «Гепасейф» относится к умеренно кумулятивным соединениям (3 класс опасности), не обладает сенсibiliзирующим действием, не вызывает угнетения Т- и В- клеточного звена иммунитета и не обладает эмбриотоксическим действием.

Определено гепатопротекторное действие нового препарата «Гепасейф». Установлены терапевтическая эффективность применения препарата «Гепасейф» при токсической дистрофии печени у поросят и гепатитах мелких домашних животных, которые позволяют рекомендовать практической ветеринарной службе его применение в свиноводстве и клинической практике лечения собак и кошек. Определена экономическая эффективность и целесообразность применения препарата «Гепасейф» при токсической дистрофии печени у поросят начального периода дорастивания. Наиболее целесообразной дозой препарата при лечении заболеваний печени является дозировка 0,1 мл/кг массы животного. Эффективность препарата «Гепасейф» при токсической дистрофии печени у поросят, острого гепатита собак и хронического гепатита кошек составляет 100%.

В работе получены материалы, которые используются:

- специалистами ветеринарных клиник различных организационно -

правовых форм собственности при лечении заболеваний печени собак, кошек;

- в учебном процессе ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ имени Н.И. Вавилова» при изучении дисциплин: клиническая диагностика, внутренние незаразные болезни, фармакология, на курсах повышения квалификации и переподготовки ветеринарных специалистов;

- в научной и исследовательской работе организаций биологического и ветеринарного профиля, а также при написании учебных пособий, методических рекомендаций и монографий.

Методология и методы исследования. Методика исследований основана на применении современного сертифицированного оборудования. Экспериментальные и клинические исследования выполнены с использованием методики планирования экспериментов путем формирования (по принципу аналогов) подопытных и контрольных групп поросят больных токсической дистрофией печени, собак и кошек с воспалительными заболеваниями печени. При обработке экспериментальных и клинических данных были использованы методы математической статистики с применением современных технических средств.

Положения, выносимые на защиту:

- гепатопротекторное действие препарата «Гепасейф»;

- терапевтическая эффективность препарата «Гепасейф» при гепатитах собак и кошек;

- терапевтическая и экономическая эффективность препарата «Гепасейф» при токсической дистрофии печени у поросят; и гепатитов мелких домашних животных;

- фармако – токсикологическая характеристика препарата «Гепасейф».

Степень достоверности, апробация и реализация результатов. Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а клинические, диагностические и экспериментальные исследования проведены на сертифицированном современном оборудовании. Достоверность

полученных результатов проанализирована и подтверждается статистической обработкой данных.

Результаты диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных научно - практических конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» (Саратов, 2011 - 2014), Международной научно-практической конференции, посвящённой 100-летию СГАУ им.Н.И Вавилова (Саратов, 13-14 марта 2013), Congress «Animal hygiene, health and welfare as corner stones of sustainable animal production» (China, 2013), на II этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по Центральному федеральному округу в ФГБОУ ВПО «Казанская ветеринарная академия им. Н. Э. Баумана» (Казань, 2014); на III этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации в ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины» (Санкт-Петербург, 2014).

Личный вклад соискателя. Основной объем исследований проведен автором самостоятельно, в 9 публикациях использовано более 80% материалов исследований, представленных в диссертационной работе.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 9 работ, которые отражают основное содержание диссертации. Из них 3 статьи в рецензируемых научных журналах, включённых в Перечень ВАК Минобрнауки РФ, 2 статьи в зарубежных изданиях.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 157 листах машинописного текста и включает: введение, обзор научной литературы, собственные исследования, включающие разделы: материалы и методы, результаты собственных исследований, их обсуждение, заключение, производственные рекомендации, список литературы, список сокращений и 9

приложений. Список литературы содержит 161 источник, в том числе 67 иностранных. Работа содержит 49 таблиц, 9 иллюстраций.

ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБРАННОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

1.1 ОБЗОР ВСТРЕЧАЕМОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ У ЖИВОТНЫХ

В современной ветеринарии среди всех патологий, регистрируемых у различных видов животных, наибольший удельный вес занимают незаразные болезни. Исследования последних лет показывают рост числа заболеваний гепатобилиарной системы животных. По последним статистическим данным, патологии печени занимают 5-25% от всех незаразных болезней. Наибольшее распространение и клиническую актуальность имеют гепатиты, гепатозы, циррозы, холециститы и желчнокаменная болезнь [72,87,88]. Болезни молодняка занимают ведущее место среди всех незаразных патологий сельскохозяйственных животных, обусловленных нарушением технологий содержания и кормления. При этом на одно из первых мест по частоте, массовости и величине экономического ущерба выходят болезни пищеварительной системы, в частности, болезни печени. Одним из таких заболеваний является токсическая дистрофия печени, которая наиболее часто отмечается у поросят [46]. В крупных промышленных свиноводческих комплексах это заболевание наблюдается в течение всего года, нередко сочетается с патологией других органов и систем, приводит к падежу поросят до 60 % и наносит большой экономический ущерб.

По данным Strombeck DR, Guilford WD частота печеночных патологий собак (в процентном соотношении от всех заболеваний печени) составляет: гепатит 18%, метастазирующие опухоли 13,9%, застой крови 9,1%, порто-системные шунты 5,7%, кисты 5,6%, фиброз 4,1%, жировая дистрофия 3,9%, первичные опухоли 3,8%, цирроз 2,3%, другие болезни печени 33,6%. Из заболеваний печени у кошек, по данным Strombeck D.R., Guilford W.D., 1990 наиболее распространены: гепатит (22,9%), гепатопатия (13,5%), метастазирующие опухоли (12,8%) и липидоз (11%). Следовательно,

наиболее встречаемыми заболеваниями печени у мелких домашних животных являются острые или хронические гепатиты, жировые дистрофии, которые могут привести к острой печеночной недостаточности. [161]. Этим заболеваниям уделяется большое внимание, так как печень является важнейшим органом, от которого зависит не только ее функционирование как отдельного органа, но также состояние всего желудочно-кишечного тракта и в целом всего организма животного. У заболевших животных снижается резистентность организма, и они чаще подвергаются другим различным заболеваниям [64,73].

1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ У ЖИВОТНЫХ

Заболевания печени (гепатопатии) имеют разнообразную симптоматику, в связи с тем, что печень участвует в обмене веществ и выполняет большое количество функций в организме. Гепатопатии в 80% случаев напрямую связаны с заболеваниями других органов и систем, таких как центральная нервная система, почки, желудочно-кишечный тракт [149,153]. Печень отличается высокими резервами и регенеративными способностями. Предположительно большая часть заболеваний печени приводит лишь к субклиническим нарушениям, которые излечиваются либо спонтанно, либо проявляются со временем. Клинические симптомы проявляются в случае тяжелых поражений больших участков печени. К печеночной недостаточности приводит поражение до 70-80% гепатоцитов [14,62,94].

Классификация. В настоящий момент в медицине и ветеринарии не удалось выделить единую классификацию, которая охватывает все возможные патологические процессы, протекающие в печени, их этиологию, патогенез и влияние на функционирование организма в целом, а также изменения, протекающие на клеточном уровне в гепатоцитах. В связи с этим

гепатологами всего мира используется несколько видов классификаций печеночных патологий с учетом различных процессов. А именно, этиологии и патогенеза, а также форм проявления заболевания [102, 136].

Если рассматривать патогенетические механизмы, то гепатопатии можно подразделить на:

1. Истинную (печеночно-клеточную недостаточность).
2. Печеночную энцефалопатию (аммиачную кому) [91,95].
3. Электролитную кому (связанную с гипокалиемией).
4. Холистатическую кому.
5. Осложненные смешанные функциональные расстройства (не является самостоятельным) [51,63,74].

В зарубежной литературе часто упоминают классификацию по Hardy R.M. (1989), которая подразделяет гепатопатии по течению процесса. Эта классификация выделяет 2 типа заболевания:

1. Острая печеночная недостаточность – быстро развивается (несколько часов, дней), обратима, при активном своевременном лечении.
2. Хроническая печеночная недостаточность – развитие медленное, постепенное (несколько недель, месяцев). Иногда отмечается добавление провоцирующих факторов (инфекция, переутомление, токсические вещества), что приводит к осложнениям и развитию печеночной комы [19,22,60].

Джозеф М.Хендерсон в 1999 г. предложил классификацию по гистологическому принципу:

1. Гепатоцеллюлярная или истинная, протекает с выраженным снижением метаболизма в организме.
2. Инфильтративная (рак, туберкулез, микоз).
3. Холестатическая, с нарушением секреторных, экскреторных функции клеток печени [38,39].

1.3 ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ У ЖИВОТНЫХ

Гепатопатии в ветеринарной медицине регистрируются в различные сезоны года, у животных всех видов, полов и возрастов [15].

Причин возникновения патологий печени большое количество. По степени оказываемого воздействия в этиологии гепатопатий факторы распределяют следующим порядком:

- токсины, поступаемые с пищей (при кормлении пряностями и копченостями, при неполном переваривании пищи, при различных заболеваниях кишечника);
- токсины, вырабатываемые при острой и хронической почечной недостаточности;
- отравляющие продукты расщепления белков в случае опухолевых процессов в организме;
- отравление ядами с гепатотоксическим эффектом;
- нарушения в жировом, белковом, углеводном обмене;
- сахарный диабет;
- нарушения коронарной системы кровообращения и сердечная недостаточность;
- различные инфекционные заболевания, такие как аденовироз и лептоспироз;
- глистные инвазии и поражение простейшими, например описторхоз, кокцидиоз, дипилидиоз, токсокароз;
- при несбалансированном рационе у собак диагностируют белковую алиментарную недостаточность [13,14,77,78].

По принципу воздействия на организм определяют 2 группы причин, которые приводят к появлению печеночной недостаточности, а именно, внепеченочные и печеночные. К 1 группе причин относят все патологические процессы, которые локализуются вне печени. Это могут быть различные

экстремальные состояния, такие как сепсис, ожоги, травмы, шок и коллапс. Так же следует обратить внимание на хронические процессы, протекающие в сердечнососудистой системе и почках. Кроме того, причинами заболевания являются гиповитаминозы и эндокринные расстройства, а так же белковое голодание [4,27,90,92]. Ко 2 группе гепатопатий относят процессы, локализующиеся непосредственно в печени, желчевыводящих путях. Это могут быть токсические гепатиты, возникающие под воздействием гепатотропных веществ (промышленных и растительных ядов - бензола, соединения мышьяка, толуола, эфира, фосфора). Развитие патологии печени может быть вызвано и ятрогенными причинами, такими как, применение нестероидных противовоспалительных препаратов, антибиотических лекарственных средств, антгельминтиков. Циррозы печени, гепатозы, камни в желчных проходах и пузыре, опухоли в печени, а также генетические отклонения в гепатоцитах так же относят ко 2 группе причин возникновения патологий [46].

Патогенез. Патогенез при различных патологиях печени во многом схож, в настоящее время установлены основные изменения и их последовательность, протекающие под воздействием токсических факторов в этом органе. Пероксидное окисление жиров вызывается различными патогенными факторами, оно уменьшает липидную гидрофобность, меняет структуру и форму липидов, приводит к образованию связей между молекулами белков и жиров. Из этого следует повреждение и разрушение мембран клеток печени, а так же их органелл и ядер. По исследованиям Скобелевой Т.В. выяснено, что изменение (увеличение) проницаемости мембран нарушает большинство функций субклеточных структур [47]. В итоге наблюдается высвобождение лизосомальных ферментов (гидролазы), что приводит к усугублению повреждений оболочек клеток. Часть ферментов изменяют активность, они способствуют уменьшению восстановительных процессов в уже поврежденных клетках. Мышкин В.А. 1998, отмечает, что белки клеток печени приобретают свойства антигенов.

Они начинают стимулировать образование аутоантител, сенсibilизацию лимфоцитов. На самой мембране гепатоцитов закрепляются аутоантитела, что провоцируют сенсibilизированные лимфоциты влиять непосредственно на клетки печени [67]. Аутоиммунная реакция протекает по принципу гиперчувствительности замедленного типа. Кроме того происходят изменения в морфогенезе гепатоцитов, а соответственно и в строение всей печени [3,38,39]. Степень повреждения паренхимы печени, вид регенерации определяется множеством факторов [82]. Это и тип повреждающего фактора, период его влияния, а также индивидуальная восприимчивость организма. В случае патологической регенерации полная структура поврежденного узла не сохраняется и не восстанавливается, соотношение в количестве долек - балок, сосудистых коллатералей портального тракта и центральной печеночной вены нарушается. В итоге в организме животного наблюдают гипоксию. Она в свою очередь приводит к увеличению количества соединительной ткани, появляются новые ложные доли, а также нарушается кровоснабжение в органе, за счет изменения архитектоники сосудов [86]. А это в свою очередь приводит к формированию портальной гипертензии, что и отмечает Федоскин В.Н. 1999. В ряде случаев в связи с этим диагностируют спленомеглию, асцит и увеличение диаметра вен передней брюшной стенки [22,23]. При поражении гепатоцитов происходят значительные нарушения множества процессов и выполняемых функций не только в печени, но и во всем организме животного [54,55].

1.4 ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЖИВОТНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ

Диагностика заболеваний печени проводится комплексно. Первоначально учитываются данные анамнеза и клинические симптомы, как печёночного, так и внепеченочного генеза. В большинстве случаев клинические признаки заболеваний печени неспецифичны, поэтому необходима точная лабораторная и инструментальная диагностика. Диагноз

подтверждается биохимическим, рентгенографическим и эхографическим методами исследования. При необходимости, прибегают к лапароскопии и биопсии печени [29]. Сбор анамнеза - *Anamnesis vitae* – дает информацию о предшествовавшем заболеванию периоде жизни животного, вакцинациях, возможных перенесенных или хронических патологических процессах и аллергиях [9].

Клинические исследования животного направлены на выявление синдромов нарушения функций печени [21,41]. Выделяют: цитолитический синдром, мезенхимально-воспалительный синдром (синдром повышенной активности мезенхимы, иммуновоспалительный синдром), холестатический синдром (синдром нарушения секреции и циркуляции желчи), синдром портокавального шунтирования печени (синдром "отключения печени", синдром портальной гипертензии), синдром печеночной недостаточности (гепатодепрессивный синдром, гепатопривный синдром), синдром повышенной регенерации и опухолевого роста [16,18]. На основании анамнеза и клинических исследований определяют необходимый объём лабораторных и специальных исследований [17].

Для получения полной картины исследуют общий анализ крови и биохимический. Биохимический анализ проводят по следующим показателям:

Общий белок – альбумин синтезируется клетками печени. Его концентрация снижается при гепатоцеллюлярной недостаточности. В связи с высоким функциональным резервом печени и длительным периодом полураспада альбумина, данный тест имеет слабую чувствительность [141].

Протромбин синтезируется гепатоцитами. Период полураспада протромбина достаточно короткий и данный тест очень чувствительный. В случае нарушения коагуляции время свёртывания крови увеличивается.

Мочевина – продукт распада аммиака в печени. В норме концентрация аммиака в плазме крови ниже 60 мкмоль/л, но она сильно возрастает при гепатоцеллюлярной недостаточности.

Глюкоза – ключевая единица углеводного обмена. При патологии печени нарушается обмен углеводов, что проявляется нестабильным уровнем глюкозы в крови. У больных животных регистрируется гипогликемия натощак и гипергликемия после приёма пищи.

Билирубин и желчные кислоты. Билирубин образуется при распаде эритроцитов. Он практически отсутствует в сыворотке крови здоровых собак (концентрация его ниже 5 мкмоль/л). Содержание общего билирубина возрастает при заболеваниях печени, а также при внепеченочных нарушениях. Желчные кислоты образуются при катаболизме холестерина. Они практически отсутствуют в плазме здоровых собак. При исследовании натощак, в норме их концентрация ниже 2 мкмоль/л. Концентрация желчных кислот в плазме возрастает при заболеваниях печени [10].

Ферменты в плазме крови (АлАТ, АсАТ, щелочная фосфатаза ЩФ, ЛДГ, g-ГТ). Органоспецифические ферменты гепатоцитов освобождаются при повреждении или полной деструкции клеток. В настоящее время для диагностики заболеваний печени наиболее широко используется определение каталитической активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). АлАТ содержится в основном в гепатоцитах и в, меньшей степени, в мышечных клетках. Показатель каталитической активности АлАТ у здоровых собак изменяется, но, в основном, он ниже 100 МЕ/л. Увеличение показателя АлАТ наблюдается при разрушении клеток печени, и является стойким и выраженным. В норму показатель АлАТ приходит в случае прерывания цитолиза, данные биохимии по нему восстанавливаются за 2 недели. АсАТ содержится в клетках различных тканей, причём самая большая активность АсАТ наблюдается в печени, в сердечной и скелетной мускулатуре, в почках. Это преимущественно митохондриальный фермент. Повышение концентрации АсАТ свыше 40 МЕ/л свидетельствует о поражении печени только при одновременном подъёме АлАТ. Активность аминотрансфераз сыворотки крови является чувствительным индикатором повреждения клеток печени,

вызванными лекарственными препаратами и гепатотоксичными веществами, а также при сердечной недостаточности и различных инфекциях. Повышение активности аминотрансфераз в 7-10 раз указывает на острое поражение печёночной паренхимы [103].

Де Ритисом был предложен коэффициент АсАТ/АлАТ, свидетельствующий о тяжести поражения печени (в норме этот коэффициент равен 1,33). Преимущественное повышение уровня АсАТ наблюдается при остром гепатите, циррозах и опухолях печени. При инфекционном гепатите коэффициент де Ритиса ниже единицы, так как преобладает повышение активности АлАТ [45,56].

Щелочная фосфатаза. Каталитическая активность щелочной фосфатазы при развитии холестаза многократно увеличивается. Данный показатель неспецифичен в связи с тем, что щелочная фосфатаза присутствует не только в печени, но и в костной ткани, кишечнике и плаценте.

Гаммаглутамилтранспептидаза (γ -ГТФ) – специфический показатель, отвечающий за состояние желчных путей у собак. Активность γ -ГТФ повышается при болезнях печени и желчевыводящих путей с явлением холестаза.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) содержится в сердечной и скелетной мышцах, в печени, в легких и клетках крови. Повышение активности ЛДГ более типично для гепатоцеллюлярных заболеваний и менее – для холестатических.

При необходимости, для уточнения диагноза проводят исследование мочи на наличие уробилина и билирубина. При интерпретации результатов исследования следует учитывать относительную плотность мочи.

Кроме того проводят серологическую диагностику для исключения наличия инфекционных заболеваний, анализ транссудата при его наличии в брюшной полости [28,160].

В случае необходимости уточнения диагноза или дифференциальной диагностики применяют рентгенографию, ультразвуковое исследование, лапароскопию и отбор тканей или клеток печени путем биопсии [83].

Лечение. При правильном подходе комплексное лечение болезней гепатобилиарной системы у животных дает положительные результаты даже при поражении 70-75% клеток. В первую очередь лечение должно быть направлено на купирование этиологических факторов, уменьшение токсической нагрузки на орган, активизацию метаболизма и регенеративных процессов в гепатоцитах, восстановление всех функций печени, в том числе барьерной, мочевино- и желчеобразующей [97].

На первом этапе лечения купируются основные синдромы, проявляющиеся при данном патологическом процессе. При наличии выраженного болевого синдрома животным назначают анальгетики, спазмолитики и антигистамины [5].

Назначение дальнейшего лечения зависит от проведенной диагностики и окончательного диагноза. Этиотропная терапия при поражениях печени инфекционной природы включает применение гипериммунных сывороток и антибиотиков. В случае выявления инвазии назначают противопаразитарные препараты. При этом, применение фармацевтических препаратов, обладающих гепатотоксическими свойствами не допускается [113].

Проводится оценка и коррекция рациона больного животного, при необходимости назначается диета. Целью кормления пациентов с заболеваниями печени является поддержание адекватного питания для удовлетворения нормальных потребностей животного, а также потребностей, связанных с выздоровлением и регенерацией печени, стараясь при этом избегать ненужных нагрузок на этот орган, в противном случае это может привести к накоплению токсичных продуктов обмена. Пищевая терапия животных с дисфункцией печени является дополнительным средством ухода. При кормлении животных с хроническими заболеваниями печени главное

внимание следует обращать на содержание белков и аминокислот, углеводов, жиров, меди, цинка и антиоксидантов. Однако конкретные рекомендации будут зависеть от причин заболевания и клинических проявлений, и поэтому они будут различаться. В ряде случаев патологии печени и желчевыводящих путей сопровождаются различными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, в случае нарушения процесса пищеварения, образуются эндотоксины, обезвреживать которые является функцией гепатобилиарной системы. Для борьбы с эндотоксикозом в первую очередь осуществляется лечение сопутствующих заболеваний желудочно-кишечного тракта – гастритов, энтеритов, колитов, копростазов, добиваясь восстановления процессов пищеварения и обмена веществ в организме животного. Для этого применяются пробиотики и пребиотики, энтеросорбенты. Для снятия интоксикации организма и улучшения функционирования печени назначают внутривенные инъекции антитоксических веществ и жидкостей – глюкоза 5%, трисоль, полиглюкин, реополиглюкин, гемодез, неогемодез, цитохром С.

Во время острой печеночно-почечной недостаточности положительные результаты показывает перитонеальный диализ и гемодиализ [142].

В комплексе лечения пациента с больной печенью большое значение оказывает необходимая норма витаминов. У здоровых животных печень обеспечивает накопление многих необходимых витаминов и микроэлементов. При хронических болезнях печени эта функция нарушается. При лечении гепатита и гепатоза применяют водорастворимые и жирорастворимые витамины [21].

И наконец, лекарственные препараты, которые используются при лечении болезней печени и оказывают непосредственное влияние на работу органа, подразделяются на желчегонные и гепатотропные (гепатопротекторы). Желчегонные препараты стимулируют образование желчи клетками печени, нормализуют ее концентрацию, повышают тонус желчного пузыря и желчных путей, обладают спазмолитическим действием. Желчегонные препараты применяют orally при подостром и хроническом

течении болезни. Противопоказано применение их при выраженных желтухах [12].

Вещества, называемые в ветеринарной медицине гепатопротекторами, оказывают непосредственное воздействие на гепатоциты, стимулируя их восстановление. При значительных отличиях в схемах лечения патологий гепатобилиарной системы в зависимости от этиологических факторов, патогенетических процессов и форм проявлений заболеваний, гепатопротекторы занимают ведущее место в любой из них. К таким препаратам в современной ветеринарии относятся Легафитон 200, Гепатовет, Гепатолюкс, Биопротектин и препараты гуманной медицины – Карсил, Силибор, Силибинин, Силимар, Легалон, Эссенциале, Эссенциале фотре Н, Гептрал.

Продолжительность лечения острых и подострых болезней печени составляет 25-30 дней. Улучшение клинического состояния больных животных не всегда коррелирует с полным восстановлением морфологии и функциональной активности органа. Объективно оценить морфологическую структуру печени можно при помощи гистологических исследований ее образцов, полученных методом пункционной биопсии и при помощи ультразвукового сканирования. Результаты биохимических исследований сыворотки крови и функциональных проб позволяют оценить функциональную активность органа.

При неэффективном или незаконченном лечении острые процессы в печени переходят в хроническое течение и могут заканчиваться циррозом [12,142].

1.5 ОБЗОР РЫНКА ВЕТЕРИНАРНЫХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ ПРЕПАРАТОВ, ИХ ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ

Лекарственные средства – вещества, применяемые для профилактики, диагностики, лечения болезни, предотвращения беременности, полученные

из крови, плазмы крови, а также органов, тканей человека или животного, растений, минералов, методами синтеза или с применением биологических технологий. К лекарственным средствам относятся также вещества растительного, животного или синтетического происхождения, обладающие фармакологической активностью и предназначенные для производства и изготовления лекарственных средств (фармацевтические субстанции) [89].

Гепатопротекторы – это комплексные препараты в основном растительного происхождения, предназначенные для повышения устойчивости печени к токсическим воздействиям, способствующие восстановлению ее функций, нормализующие или усиливающие активность ферментов клеток печени. Основной функцией гепатопротекторов является предохранение клеток печени от повреждающего воздействия различных факторов [7,8].

В связи с тем, что общепринятая классификация препаратов для лечения патологий печени отсутствует, как всегда в таких случаях, в настоящее время выделяют группы в зависимости от их происхождения:

- препараты растительного происхождения (в т. ч. БАДы);
- препараты животного происхождения (гидролизаты экстракта печени крупного рогатого скота);
- синтетические препараты (разных химических групп и механизмов действия) [58,59,85].

В современной ветеринарии известно большое количество различных видов гепатопротекторов, как растительного происхождения (листья boldo, экстракт артишока, расторопша пятнистая), так и фосфолипидных, липосомальных и других препаратов. Наиболее широкое распространение получили средства растительного происхождения (54%), второе место занимают препараты аминокислот (30%), реже используются фосфолипидные препараты (16%). Некоторые препараты обладают комплексом свойств, способствующих нормализации работы печени, а, следовательно, и общего обмена [31,32,114].

Лекарственные препараты, обладающие гепатопротекторными свойствами, применяемые в ветеринарной медицине:

Гепатовет для собак и кошек (Hepatovet) – комплексный гепатопротектор для лечения и профилактики заболеваний печени у собак и кошек в форме суспензии. В 1 мл суспензии в качестве активных компонентов содержатся: эссенциальные фосфолипиды – 60 мг, метионин – 100 мг, L-орнитин – 50 мг, экстракт расторопши пятнистой – 15 мг, экстракт травы бессмертника – 15 мг и вспомогательные вещества. По внешнему виду представляет собой однородную суспензию со специфическим запахом для применения внутрь [115,118,151]. Назначают собакам и кошкам для профилактики и комплексного лечения острых и хронических заболеваний печени различной этиологии, в том числе после отравлений, инфекционных заболеваний, а также для снижения риска побочных эффектов назначаемых животным химиотерапевтических средств, обладающих гепатотоксичностью. Препарат применяют 2-3 раза в день 21-35 дней. При необходимости курс лечения повторяют через 2-3 недели.

Недостатки: применяется для лечения только собак и кошек, единственная форма введения – орально.

Гепатолюкс – комплексный гепатопротектор с натуральным пчелиным маточным молочком и растительными компонентами для лечения и профилактики гепатитов и других заболеваний печени различной этиологии. Применяется для лечения собак и кошек. Выпускается в виде суспензии и таблеток для орального применения. В 1 таблетке гепатолюкс для кошек содержится: соль глицирризиновой кислоты (экстракт корня солодки) – 10 мг, глицин – 10 мг, L-аргинин – 50 мг, экстракт семян расторопши (силлимарин) – 15 мг, экстракт листьев артишока полевого – 20 мг, экстракт пчелиного маточного молочка – 1 мг, вспомогательные компоненты. В 1 мл гепатолюкс для собак содержится: фосфолипиды эссенциальные (лецитин) растительного происхождения из семян сои – 50 мг, соль глицирризиновой кислоты (экстракт корня солодки) – 12,5 мг, глицин – 10 мг, L-аргинин – 50

мг, экстракт семян расторопши (силимарин) – 15 мг, экстракт листьев артишока полевого – 20 мг, экстракт пчелиного маточного молочка – 1 мг, вспомогательные компоненты [127,143,152]. Препарат назначают животным в профилактических и лечебных целях при гепатитах и других острых и хронических заболеваниях печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей различного генеза, в том числе при жировой дистрофии и дегенерации печени, при интоксикации организма, а также в качестве профилактической и восстановительной терапии после медикаментозного лечения. Препарат значительно снижает риск возникновения цирроза и рака печени. Применяется как самостоятельно, так и в составе комплексной терапии. Препарат применяют 2 раза в сутки, 20-30 дней. Недостатки: применяется для лечения только собак и кошек, единственная форма введения – орально.

Гепатоджект (Hepatoject) – комбинированный гепатопротективный лекарственный препарат, применяемый для лечения собак, кошек, лошадей, крупного рогатого скота, свиней, овец. Гепатоджект в качестве действующих веществ в 1 мл содержит: 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 воду для инъекций – до 1 мл. Гепатоджект назначают животным самостоятельно или в составе комплексной терапии при острых и хронических заболеваниях печени различной этиологии, в целях нормализации функции и регенерации клеток печени после эндо- и экзотоксикозов, соматических и инфекционных заболеваний, а также для снижения гепатотоксического действия лекарственных средств. Применяется внутримышечно или внутривенно 1-2 раза в сутки в течение 5-7 дней [126].

Недостатки: не оказывает непосредственного воздействия на гепатоциты, работает за счет нормализации биохимических процессов, подходит для внутривенного введения, что не всегда возможно осуществить, для внутримышечного введения большие разовые дозы (КРС – 50-100 мл, свиньи – 15 мл, кошки – до 5 мл 2 раза в сутки).

Глютамакс. Кормовая добавка Глютамакс содержит белый петролатум (вазелин), сухие экстракты *Curcuma longa*, *Cynara scolymus* и *Silybum marianum*, N-ацетил-L-цистеин, холин, альфа-липолиевую кислоту, витамин B6, витамин B12 и вспомогательные компоненты. По внешнему виду представляет собой пасту. Расфасовывают по 15 мл в полимерные шприцы-дозаторы, упакованные в картонные коробки. Назначают собакам и кошкам в комплексной терапии, в качестве гепатопротектора при хронических и острых заболеваниях печени различной этиологии, в том числе при кровепаразитарных, вирусных, бактериальных и протозойных инфекциях, отравлениях, а также с целью снижения возможного побочного гепатопатического действия ряда химиотерапевтических средств при применении животным. Форма выпуска – паста и таблетки. Применяют 2 раза в сутки, 20-30 дней [79,80].

Недостатки: применяется для лечения только собак и кошек, единственная форма введения – орально.

Ковертал - комплексное гомеопатическое лекарственное средство, содержащее в качестве действующих веществ *Chelidonium*, *Lycorodium*, *Veronica*, *Carduus*, *Colocynthis* и *Taraxacum*, а также вспомогательные компоненты натрия хлорид и воду для инъекций [43,48]. Препарат выпускают в форме стерильного раствора для инъекций, таблеток для орального применения. Назначают крупному рогатому скоту, лошадям, собакам, кошкам, хорькам и грызунам с лечебной целью при острых и хронических гепатитах, жировой дегенерации печени, токсических поражениях печени, инфекционных и инвазионных заболеваниях в качестве лекарственного средства сопутствующей терапии. Применяется подкожно, внутримышечно или орально 1-2 раза в сутки от 10-14 дней до 21-28 дней при хронических заболеваниях. Применение Ковертала не исключает использования других лекарственных средств этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии [26,147,148].

Недостатки: гомеопатическое средство, разовая доза составляет у КРС, лошадей – 5,0-10,0 мл, у собак, кошек 0,1 мл/кг массы, при стоимости в среднем 200 руб за 10 мл.

Легафитон 200 в своем составе в качестве активных компонентов содержит сухие экстракты расторопши остро-пестрой и ортосифона, а также аминокислоту – L-орнитин. По внешнему виду представляет собой таблетки круглой формы, кремовато-белого цвета массой 400 мг. Расфасовывают по 12 или 24 таблетки в блистеры из ламинированной бумаги, вложенные по 1 или 2 штуки в картонную коробку. Назначают собакам и кошкам в профилактических и лечебных целях при заболеваниях печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей различного генеза, в том числе при жировой дистрофии и дегенерации печени, некрозе, циррозе и гепатопатии в качестве средства для монотерапии, так и в комплексе с другими препаратами. Применяют 1 раз в сутки в течение 10-20 дней [1].

Недостатки: применяется для лечения только собак и кошек, единственная форма введения – орально.

Биопротектин (Bioprotectin) состоит из очищенного экстракта плодов расторопши пятнистой не менее 0,1 г, лиофилизированной микробной массы бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum* № 1 не менее 50 млн. колониеобразующих единиц (5×10^7 КОЕ) и лактобактерий – *Lactobacillus fermentum* № 90Т-С4 не менее 50 млн. колониеобразующих единиц (5×10^7 КОЕ), сорбированных на высокодисперсном кремнеземе (ВДК) и лактулозы не менее 0,12 г в капсуле. Выпускается в форме капсул. Назначается 1-4 раза в день, 23 дня.

Для собак мелких пород и щенков с питьем (кипяченой остуженной водой) или кормом, перед употреблением капсулы раскрывают и перемешивают их содержимое.

Недостатки: применяется для лечения только собак и кошек, единственная форма введения – орально.

Кроме вышеперечисленных препаратов в отечественной ветеринарии очень часто рекомендуется ряд медицинских лекарственных средств [65,84]. Рассмотрим самые распространенные из них.

Карсил (Carsil) - 1 драже содержит расторопши пятнистой плодов экстракт сухой (эквивалент силимарина) 35 мг, вспомогательные вещества: лактозы моногидрат; крахмал пшеничный; повидон (Колидон 25); МКЦ; магния стеарат; тальк; декстрозы моногидрат; сорбитол; натрия гидрокарбонат, вспомогательные вещества оболочки: целлацефат; диэтилфталат; сахароза; акации камедь; желатин; тальк; титана диоксид; макрогол (ПЭГ 6000); краска Браун Опалюкс (сахароза, железа оксид красный, железа оксид черный, метил- и пропилпарагидроксибензоат, вода очищенная); глицерол. Показания к применению – токсические повреждения печени (алкоголизм, интоксикация галогенсодержащими углеводородами, соединениями тяжелых металлов, лекарственные поражения печени) и их профилактика [81,155]. Хронический гепатит, цирроз печени (в составе комплексной терапии). Состояния после инфекционного и токсического гепатитов, дистрофия и жировая инфильтрация печени. Коррекция нарушений липидного обмена. Выпускается в форме драже для орального приема. Аналогами Карсила, производимыми другими фармакологическими компаниями являются Силибор, Силибинин, Силимар, Легалон, Расторопша, Здравушка, Силимарол, Силимарин, Флавобион, Силибанкол и многие другие. Все выше перечисленные препараты выпускаются только для орального применения.

Недостатки: медицинский препарат, нет расчета доз и рекомендаций по применению для животных, оральная форма.

Эссенциале Форте Н – гепатопротектор. При нарушении метаболической активности печени препарат обеспечивает поступление, готовых к усвоению высокоэнергетичных "эссенциальных" фосфолипидов, которые идеально сочетаются с эндогенными фосфолипидами по химической структуре и проникают в клетки печени, внедряясь в их мембраны. Активный

ингредиент: фосфолипиды из соевых бобов, содержащие 76% (3-sn-фосфатидил)-холина (синонимы: EPL, эссенциальные фосфолипиды) – 300 мг; вспомогательные ингредиенты: жир твердый – 57,000 мг, соевых бобов масло – 36,000 мг, касторовое масло гидрированное – 1,600 мг, этанол 96% – 8,100 мг, этилванилин – 1,500 мг, 4-метоксиацетофенон – 0,800 мг, а-токоферол – 0,750 мг. Выпускается в виде раствора для внутривенного введения и капсул для орального применения [98,99].

Недостатки: медицинский препарат, нет расчета доз и рекомендаций по применению для животных, высокая стоимость 25 мл от 1000 руб.

Гептрал – гепатопротектор, обладает антидепрессивной активностью. Оказывает холеретическое и холекинетическое действие. Обладает детоксикационными, регенерирующими, антиоксидантными, антифиброзирующими и нейропротекторными свойствами. Действующее вещество – Адеметионин (Adamethioninum) 1,4-бутандисульфат – 760 мг, (соответствует 400 мг иона адеметионина), вспомогательные вещества: кремния диоксид коллоидный – 4,4 мг; МКЦ – 93,6 мг; карбоксиметилкрахмал натрия (тип А) – 17,6 мг; магния стеарат – 4,4 мг.

Выпускается в форме таблеток, покрытых оболочкой, растворимой в кишечнике 400 мг и лиофилизата для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения (уколы в ампулах для инъекций) [52,53,66].

Недостатки: медицинский препарат, нет расчета доз и рекомендаций по применению для животных, высокая стоимость 400 мг – 5 флаконов (1 флакон на 1 применение) от 1700 руб.

Если рассмотреть гепатопротекторы, применяемые в ветеринарии в сравнительном аспекте, то можно резюмировать следующее: гепатопротективное действие препаратов обуславливается свойствами входящих в его состав компонентов [124,145,157]. Хотя в каждом указанном препарате свой подбор активных аминокислот, рассмотрим действие некоторых из них. L-орнитин, участвуя в орнитиновом цикле

мочевинообразования Кребса (образования мочевины из аммиака), снижает в организме уровень аммиака, повышенный при заболеваниях печени, способствует синтезу инсулина и соматотропина, активизирует белковый обмен [119]. L-цитруллин – аминокислота, участвующая в цикле образования мочевины, способствует образованию и выведению из организма мочевины. L-Аргинин (амино-гуанидил-валериановая кислота) стимулирует клеточный метаболизм, способствует обезвреживанию и выведению аммиака, регулирует уровень сахара в крови и снижает молочнокислый ацидоз, обусловленный мышечной нагрузкой, активизирует систему азотосодержащих ферментов, синтезирующих нитрозогруппу (NO), обеспечивая необходимый тонус артерий [30,33,129]. Бетаин (триметилглицин) оказывает желчегонное и липотропное действие, активизирует метаболическое метилирование в печени и синтез фосфолипидов клеточных мембран [76,128]. Функционируя, как альтернативный донор метильных групп, в превращении метионина из гомоцистеина, может замещать дефекты в реакциях метилирования, вызванные нарушением функционирования фолатного цикла и недостатком витамина В12 [96,104]. Сорбитол оказывает дезинтоксикационное и желчегонное действие, обеспечивает восполнение ОЦК [11, 111].

Некоторые препараты относятся к гомеопатическим средствам – Ковертал. Входящие в его состав лекарственного средства активные компоненты в гомеопатических разведениях способствуют активации и защите фосфолипидозависимых ферментных систем гепатоцитов, улучшают детоксикационную функцию печени, обладают гепатопротекторным и противовоспалительным действием, оказывают выраженное спазмолитическое, желчегонное действие, способствуют улучшению кровоснабжения органа путем устранения застойных явлений [75].

Другие включают в состав фосфолипиды, такие как Эссенциале Н, Эссенциале Форте Н, принцип действия которых основан на активности высокоэнергетических молекул фосфолипидов, аналогичных эндогенным.

Они, встраиваясь в структуру мембран печеночных клеток, повышают регенерацию мембран [24,44,65,84].

Благодаря особенностям химической структуры эссенциальных фосфолипидов, наличие цис-двойных (расположение углеводородных цепочек по одну сторону от двойных связей) связей в полиненасыщенных жирных кислотах клеточных мембран, препятствует уплотнению структуры жирных кислот [116,137]. Это приводит к большему разжижению структуры мембран, что необходимо для оптимального функционирования большинства клеток в организме [121,150]. Посредством этого механизма, эссенциальные фосфолипиды воздействуют на части клеток, которые являются рецепторами для гормонов или нейротрансмиттеров, таким образом, усиливается скорость обмена веществ, особенно липидов [130,157]. Фосфолипиды вмешиваются в нарушенный липидный обмен путем регулирования метаболизма липопротеинов так, что нейтральные жиры и холестерин превращаются в транспортируемые формы, и, что особенно важно, это происходит за счет увеличения емкости захвата холестерина липопротеинами высокой плотности и может, таким образом, приводить к его окислению [106,108,134]. Экзогенные молекулы фосфолипидов своими антиоксидантными свойствами и способностью захватывать свободные радикалы достоверно защищают липиды от перекисления, т.е. подавляют окислительный стресс и уменьшают повреждение клеток. Эссенциальные фосфолипиды снижают продукцию перекиси водорода в печеночных микросомах и повышают концентрацию сниженного глутатиона в печени и плазме [101,117].

Внутривенное введение препарата Эссенциале® Н улучшает кишечнo-печеночную циркуляцию желчных кислот у пациентов с нарушенной функцией печени. Фосфолипиды оказывают глубокое влияние на состав и течение желчи [100,138]. Во время экскреции фосфолипидов желчью снижается риск образования желчных камней, и состав желчи стабилизируется.

Но самая большая группа гепатопротекторов в своем составе по действующему веществу имеет растительные компоненты [104,118]. К ним относят ветеринарные препараты Легафитон 200, Гепатовет, Гепатолукс, Биопротектин и препараты гуманной медицины – Карсил, Силибор, Силибинин, Силимар, Легалон. Эту группу препаратов объединяет, имеющиеся в их составе силимарин, получаемый из растений расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) [135,146]. Основными действующими веществами силимарина являются силибин А и В, изосилибин А и В, изосиликристин, силикристин и силидианин. Флаволигнаны, выделяемые из лекарственного растения расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L.), относятся к наиболее перспективным препаратам, отвечающим требованиям современной медицины [100,139]. Имеются подтвержденные данные, что флаволигнаны из расторопши пятнистой являются сильными антиоксидантами и способны инактивировать как свободные радикалы, так и активные формы кислорода в клетке, блокировать рецепторы и транспортные системы на клеточной мембране, которые обеспечивают перенос токсических веществ в клетку, уменьшать активность макрофагальных клеток, участвующих в презентации антигенов, снижать продукцию гамма-глобулинов, блокировать липооксигеназы и циклооксигеназы тем самым оказывая противовоспалительное, иммуномодулирующее и антиканцерогенное действие [105,120]. Наряду с этим флавоноиды расторопши взаимодействуя с мембранами гепатоцитов, способны ингибировать активность цАМФ и кальцийзависимого процесса активации фосфолипаз, оказывать цитопротективный эффект на гепатоциты. Кроме того силимарин стимулирует синтез белка и регенерацию в гепатоцитах из-за частичного структурного сходства со стероидными гормонами, оказывая тем самым регенеративный эффект [122,154].

Все вышеизложенное во многом обуславливает их высокую гепатопротекторную и терапевтическую эффективность при лечении таких заболеваний печени, как токсические и вирусные гепатиты, цирроз,

лекарственные, радиационные и ишемические повреждения, канцерогенез. Эффективные антиоксиданты – селенит натрия и витамин Е, растительные флавоноиды силибинин, силимарин, силибор. Барабой (1976), Ажунова Т.А. (1998) объясняют лечебную активность флавоноидов их стабилизирующим, восстанавливающим желчеобразованием, нормализующим холестериновый обмен, противокислительным действием на мембранные фосфолипиды [1,92,93]. Очевидно преимущество растительных препаратов на основе флаволигнанов расторопши пятнистой [96,115,116]. Однако флаволигнаны обладают низкой терапевтической активностью и биодоступностью, которая обусловлена их низкой растворимостью, как в гидрофильных, так и в липофильных растворителях [98,105,127]. Кроме того все известные препараты выпускаются в форме суспензий и таблеток, для орального введения. Это значительно осложняет дачу препарата больным животным, а соответственно снижается эффективность назначенного лечения [134,139,157]. Тем более, одним из симптомов гепатопатий является рвота, при которой дача препаратов орально становится неэффективной.

Новый современный инъекционный гепатопротектор «Гепасейф» призван решить проблемы биодоступности силимарина. Препарат «Гепасейф» в своем составе имеет экстракт плодов расторопши пятнистой в мицелярной форме, витамин Е, растворитель и соразтворитель на водной основе. Разработан для подкожного и внутримышечного введения.

1.6 ПРЕИМУЩЕСТВА ПРЕДЛАГАЕМОГО ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ПРЕПАРАТА «ГЕПАСЕЙФ»

В настоящее время первостепенное внимание научным и медицинским сообществом уделяется поиску средств или их комбинаций, обладающих комплексным профилактическим и терапевтическим потенциалом, позволяющим снизить риск возникновения и осуществить эффективную терапию патологий, связанных с неблагоприятными факторами окружающей

среды. Особое значение при этом придается снижению токсичности препаратов и увеличению их биодоступности [6,61].

К наиболее перспективным препаратам, отвечающим требованиям современной медицины, относятся флаволигнаны, выделяемые из лекарственного растения расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaerth). Сумму флаволигнанов силибинина, силикрестина, силидианина, изосилибинина и дегидросилибинина, выделяемых из лекарственного сырья расторопши, традиционно называют силимарином [35].

Известно использование плодов расторопши пятнистой или их экстрактов в качестве гепатопротекторных препаратов, таких как Карсил, Легалон, Силибор [45,52]. Широко известно, что печень является центральным органом метаболизма, в котором совершается большая часть химических процессов, связанных с обменом белков, углеводов, липидов, витаминов и минеральных веществ, кроме того печень активно участвует в пищеварении, дезинтоксикации токсических веществ поступающих из ЖКТ, а также попадающих в организм извне, поддержании гомеостаза и т.д. [144,151]. Поэтому нарушения ее функциональной активности ведет к довольно значительным нарушениям жизнедеятельности организма. Все это делает актуальным поиск эффективных средств лечения патологий печени в настоящее время [36].

Флаволигнаны из расторопши пятнистой являются сильными антиоксидантами и способны инактивировать как свободные радикалы, так и активные формы кислорода в клетке, блокировать рецепторы и транспортные системы на клеточной мембране, которые обеспечивают перенос токсических веществ в клетку, уменьшать активность макрофагальных клеток, участвующих в презентации антигенов, снижать продукцию гамма-глобулинов, блокировать липооксигеназы и циклооксигеназы тем самым оказывая противовоспалительное, иммуномодулирующее и антиканцерогенное действие [132]. Наряду с этим флавоноиды расторопши, взаимодействуя с мембранами гепатоцитов, способны ингибировать

активность цАМФ и кальцийзависимого процесса активации фосфолипаз, оказывают цитопротективный эффект на гепатоциты [25,159]. Кроме того силимарин стимулирует синтез белка и регенерацию в гепатоцитах из-за частичного структурного сходства со стероидными гормонами, оказывая тем самым регенеративный эффект. Все вышеизложенное во многом обуславливает их высокую гепатопротекторную и терапевтическую эффективность при лечении таких заболеваний печени, как токсические и вирусные гепатиты, цирроз, лекарственные, радиационные и ишемические повреждения, канцерогенез [1].

При гепатопатиях лечебное влияние силимарина связывают с его ярко выраженным противоокислительным потенциалом, а так же способностью к стабилизации мембран. Противоокислительное воздействие осуществляется за счет взаимодействия силимарина со свободными радикалами в печени, их детоксикацией, путем трансформации в другие соединения. Это останавливает процесс окисления жиров, в связи, с чем клеточные структуры не разрушаются [135,154].

Наряду с этим, флаволигнаны расторопши, взаимодействуя с мембранами гепатоцитов, способны ингибировать активность цАМФ и кальций-зависимого процесса активации фосфолипаз, оказывают цитопротективный эффект на гепатоциты и вызывают репарацию поврежденных клеток печени, что приводит к улучшению, как субъективного состояния пациента (улучшение аппетита, общего состояния, процессов пищеварения), так и нормализации клинических и биологических показателей – снижению уровня трансаминаз и билирубина [149].

Указанные выше свойства позволяют использовать препараты, содержащие флаволигнаны расторопши пятнистой, при лечении таких заболеваний печени, как токсические и вирусные гепатиты, цирроз, лекарственные, радиационные и ишемические повреждения, канцерогенез и другие [130].

Противовоспалительный эффект достигается благодаря наличию антиоксидантных свойств расторопши. Многолетние исследования и опыты подтверждают лечебное действие силимарина, силибинина, силикрстина. Оно было продемонстрировано при моделировании токсического гепатита у лабораторных крыс (с использованием тетрахлорметана). При проведении острого эксперимента в случае назначения флавоноидов расторопши пятнистой сопровождалось снижением степени холестаза и разрушения клеток. [49,50] А в хроническом эксперименте в свою очередь введение силибинина способствовало выраженному снижению цитолиза [119].

По мнению Berkson В.М. (1999), достаточно доступным, безопасным способом патогенетического лечения вирусного гепатита С является введение «тройной антиоксидантной схемы» - силимарин, тиоктацид и селен. Это обеспечивает прекращение прогрессирования разрушения печени до стадии цирроза, подавляется воспалительно-некротическая реакция, протекающая в поврежденном органе, замедляется развитие фиброза, уменьшается риск трансформации клеток печени [97, 124].

Кроме вышеперечисленного воздействия исследователями отмечено метаболическое действие флаволигнанов расторопши, таких как стимуляция образования пептидов, активация транскрипции и времени синтеза РНК в клетке, тем самым обеспечивая регенерацию гепатоцитов [76].

Большинство гепатопатий протекает с нарушением процессов желчеобразования и желчевыведения. Что приводит к сильным болевым ощущениям, которые локализуются в эпигастрии и правом подреберье [20]. При наличии таких симптомов в схему лечения необходимо вводить спазмолитические препараты. Флавоноиды, как уже говорилось выше, обладают холекинетическим и холеретическим действием, снижает тонус сфинктеров желчных путей.

Но главным препятствием на пути проявления максимальной терапевтической активности флаволигнанов является их низкая биодоступность при пероральном применении. Флаволигнаны, как правило,

нерастворимы или минимально растворимы в воде, вследствие чего скорость высвобождения этих соединений и, следовательно, также их биологическая доступность и их всасываемость в организме неудовлетворительны. Кроме того, низкая растворимость флаволигнанов в воде и биологических жидкостях не позволяет применять их для инъекций или инфузий, что могло бы значительно повысить эффективность терапевтического действия этих препаратов [79,80].

Как в медицинской, так и в ветеринарной фармакологии прогресс характеризуется постоянным поиском и конструированием принципиально новых, еще более активных, нетоксичных лекарственных препаратов [57,71,156].

Инъекционные растворы относительно новая лекарственная форма. Растворы для инъекций начали применять в медицинской и ветеринарной практике позднее других лекарственных форм [37,40,123]. Но это оказался и наиболее быстродействующий и эффективный способ введения активных веществ. Одним из видов инъекционных растворов являются коллоидные системы. Коллоидные растворы являются гетерогенными, многофазными (в простейшем случае двухфазными) системами, в отличие от истинных растворов, которые являются гомогенными, однофазными системами. Условием их образования является нерастворимость (или очень малая растворимость) вещества одной фазы в веществе другой. Дисперсная фаза в коллоидных растворах находится в сильно раздробленном состоянии, в котором отдельные частицы являются не молекулами, а агрегатами, состоящими из множества молекул [125,139,140]. Диаметр частиц — от 1 мкм до 0,1 мк. В медицинской практике коллоидные растворы лекарственных веществ применяются в форме жидких лекарств для наружного применения, капель и микстур, редко — для инъекционного введения. Усовершенствование достаточно сложных технологий производства коллоидов дало возможность в один раствор вместить совершенно разные ингредиенты, получая высокоэффективные препараты,

способные воздействовать на организм комплексно практически без побочных эффектов. Биологически активные ингредиенты лекарственного препарата на 98% сразу проникают в ткани и органы животного именно благодаря структурному сходству составов. По этой же причине биологически активные вещества из коллоидных фитоформул начинают усваиваться уже в полости рта через слизистую, в отличие от обычных лекарств, которые организм вначале доводит до коллоидного состояния в желудочно-кишечном тракте, а потом усваивает [109,110,131]. Все это, делает коллоидные растворы, лекарственными средствами с высокой биодоступностью и эффективностью.

В этой связи фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработана коллоидная инъекционная форма препарата «Гепасейф», имеющая в своем составе экстракт плодов расторопши пятнистой в мицелярной форме (силимарин 12 мг/мл), витамин Е (2 мг/мл), растворитель и соразтворитель на водной основе.

«Гепасейф» - это лекарственное средство для комплексного лечения и профилактики патологий печени и желчевыводящих путей, обладает детоксикационным, регенерирующим, антиоксидантным и антифиброзирующим свойствами.

Витамин Е, входящий в состав препарата участвует в развитии активности мускулов и процессе репродукции, а также он действует как антиоксидант, предотвращающий некоторые сердечные заболевания. Витамин Е и селен тесно взаимосвязаны; снижающийся уровень одного, вызывает возрастание потребности в другом. Витамин Е обладает антиокислительными свойствами, предотвращает разрушение и улучшает усвоение витамина А. Благодаря сильным антиоксидантным свойствам, витамин Е защищает воспроизводство клеток иммунной системы, которые активно размножаются при встрече с патогенами. Представленные литературные данные свидетельствуют о высокой биологической активности силимарина и витамина Е, что позволило использовать витамин Е в качестве

антиоксиданта в составе комбинированного лекарственного препарата «Гепасейф» в форме раствора для инъекций, предназначенного в качестве гепатопротектора. В отличие от уже существующих гепатопротекторов на основе расторопши пятнистой, препарат «Гепасейф» обладает высокой биодоступностью и удобен в применении за счет возможности подкожного или внутримышечного способа введения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась в период с 2011 по 2014 годы в ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ»: на кафедре «Терапия, акушерство и фармакология», в Центре коллективного пользования «Молекулярная Биология», на кафедре патологической анатомии. Часть исследований проводились в клинике для животных «Doctor-Vet» г. Саратова и в учебно-опытном хозяйстве «Муммовское» ФГБОУ ВПО «Российский ГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева».

Диссертационные исследования выполнялись в соответствии с планом НИР ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» на тему: «Фармако-токсикологическая оценка и клиническая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» (научный руководитель темы, заведующий кафедрой «Терапии, акушерства и фармакологии» д.в.н., профессор Волков А.А).

Экспериментальная часть диссертационной работы посвящена проведению исследований инъекционного гепатопротекторного лекарственного препарата «Гепасейф» с определением его токсико-фармакологической характеристики и терапевтической эффективности для поросят, собак и кошек.

Инъекционная форма препарата «Гепасейф», имеет в своем составе экстракт плодов расторопши пятнистой в мицеллярной форме (силимарин 12 мг/мл), витамин Е (2 мг/мл), растворитель и соразтворитель на водной основе. «Гепасейф» – это лекарственное средство для комплексного лечения и профилактики патологий печени и желчевыводящих путей, обладает детоксикационным, регенерирующим, антиоксидантным и антифиброзирующим свойствами.

Получаемый при синтезе раствор препарата:

1. $\rho = 1,035$ г/мл (плотность при 28°C)

2. $\eta = 2,038$ (относительная вязкость)
3. абсолютная вязкость 1,706 мПа/с, при 28°C.
4. рН = 5,13
5. Установлено, что данный раствор стабилен при 25-40° С, при охлаждении до -18,0°C раствор замерзает, после размораживания видимых изменений не наблюдается, под действием света (на протяжении 10 часов) изменений в растворе не наблюдалось.

Фармако-токсикологическая оценка препарата «Генасейф».
Экспериментальные исследования для решения поставленных задач были проведены на белых крысах - самцах, белых мышах и кроликах.

Исходный вес животных колебался в пределах: для крыс - 180-200 г; для мышей – 20-22 г; для кроликов – 2200-2800 г. В опыт брали клинически здоровых животных, которые предварительно выдерживались на 15-дневном карантине в виварии. Статистические группы состояли из 6-10 животных.

При исследовании руководствовались утвержденными Методическими рекомендациями [53,66].

Изучение острой токсичности препарата при введении в желудок проводили на 36 белых мышах-самцах. Препарат в чистом виде насильно вводился в желудок с помощью металлического зонда. Было испытано пять доз: 8,0; 10,0; 12,5; 16,5; и 33,5 г/кг массы тела. Каждая доза вводилась шести животным. Контрольным животным вводили воду в тех же объемах.

Полученные данные использовались для определения параметров смертельного эффекта – ЛД₁₆, ЛД₅₀ и ЛД₈₄. При этом применялся метод Кёрбера в модификации В.Б. Прозоровского (пробит-анализ) [64]. Стандартная ошибка вычислялась по эмпирической формуле Гаддама.

Для характеристики степени развития острого смертельного отравления помимо величины ЛД₅₀, указывающей на степень токсичности, использовались некоторые показатели, характеризующие опасность препарата в условиях введения в желудок. Это величина – «ЛД₈₄/ЛД₁₆», характеризующая вариабельность смертельных доз в виде отношения

вероятностных параметров, и величина «S» – функция угла наклона прямой смертельных доз к оси абсцисс».

При изучении острой токсичности препарата при введении в брюшину, было испытано четыре дозы: 10,8; 15,0; 26,0; 52,0 г/кг массы. Опыт проводили на 30 белых мышах-самцах. Каждая доза вводилась 6 животным. Контрольным животным вводили физиологический раствор в тех же объемах.

Полученные данные использовались для определения параметров смертельного эффекта – ЛД₁₆, ЛД₅₀ и ЛД₈₄.

За животными вели наблюдение в течение 2-х недель после введения, отмечая сроки гибели или выздоровления животных. Учитывали общее состояние животных, сохранение двигательных функций, аппетита, состояние шерстного покрова, дыхания, реакцию на внешние раздражители.

В ходе изучения хронической токсичности опыты проводили на 18 белых нелинейных мышах–самцах с исходной массой 20-25 г. Все животные были разделены на 3 группы, по 6 животных в каждой. Животным 1 опытной группы внутримышечно ежедневно в течение 1 месяца вводили «Гепасейф» в дозе 10 мг/кг по действующему веществу или 0,8 мл/кг (концентрация действующего вещества в препарате составляла 12 мг/мл), что соответствовало 1/10 ЛД₅₀; 2 группы – 1 мг/кг по действующему веществу или 0,4 мл/кг (концентрация действующего вещества в препарате составляла 2,4 мг/мл), что соответствовало 1/100 от ЛД₅₀. Животным контрольной группы, при тех же условиях содержания и кормления, вводили равный объем раствора вспомогательных веществ, входящих в состав препарата без активного вещества из расчета 0,8 мл/кг препарата без действующего вещества. В течение всего опыта вели наблюдение за состоянием и поведением животных, динамикой роста массы тела, регулярно проводили исследования по оценке функционального состояния печени, почек и изучали влияние препарата на гематологические показатели. Статистическую обработку полученных данных проводили по Стьюденту-Фишеру [64]. С

целью оценки функционального состояния печени определяли концентрацию общего белка и его фракций, глюкозу и холестерин в сыворотке крови мышей, ферментный спектр включал определение активности индикаторных ферментов АсАТ и АлАТ. О состоянии функциональной активности почек судили по концентрации креатинина и мочевины в сыворотке крови животных. Биохимические исследования проводили при помощи наборов реагентов Hospitexdiagnostics на биохимическом анализаторе Myndrey.

При изучении кумулятивных свойств препарата использовали метод, который используется для нетоксичных соединений и предусматривает введение препарата в условиях повторного 2-х недельного эксперимента в дозе, составляющей 1/10 от ЛД₅₀, полученной в однократном опыте. Учитывали как материальную (гибель животных), так и функциональную кумуляцию. При изучении функциональной кумуляции проводилась оценка ряда показателей: регистрировалась масса тела, измерялась ректальная температура, определялся суммационно-пороговый показатель (СПП), проводился анализ периферической крови (гемоглобин, лейкоциты, эритроциты), регистрировались некоторые поведенческие реакции животных.

Раздражающее и аллергическое действие препарата изучалось на морских свинках и кроликах породы «Шиншилла», по целому ряду методик, согласно Методическим рекомендациям [54, 66].

Вначале на 6 морских свинках в реакции непрямой дегрануляции тучных клеток по методу Фрадкина (1978), затем проводили внутрикожную пробу. Определение сенсibiliзирующих свойств препарата «Гепасейф» проводили также согласно методическим рекомендациям по оценке аллергизирующих свойств фармакологических средств N 98/300, под общей редакцией доктора мед. наук, профессора А.Г.Рудакова (ГИДКЭЛ Минздрава России) и член-корр. РАМН, профессора В.П.Фисенко (Фармакологический государственный комитет), 1998 год.

В первой серии опыта проведено тестирование препарата в разных концентрациях. Препарат наносился на выстриженные (3 x 3) участки боковой поверхности кожи кроликов пять раз в неделю на протяжении 2-х недель. Ежедневная экспозиция - четыре часа, после чего препарат смывали водой. Реакцию кожи оценивали по шкале Суворова.

Этот опыт позволяет выявить опасность развития неаллергического контактного дерматита и одновременно подобрать оптимальную концентрацию, не обладающую раздражающим действием (рабочую дозу).

Во 2-ой серии, препарат в «рабочей дозе» наносился на левый бок кролика, где выстригался участок кожи размером 4x4 см. Экспозиция четыре часа, пять раз в неделю, на протяжении 20 дней.

Первое тестирование по шкале оценки кожных проб проводилось через 10 дней. При этом выстригали кожу на противоположном боку кролика и наносили препарат в той же дозе. Реакцию кожи анализировали через 24, 48 и 72 часа после смывания продукта. При отрицательном результате опыт продолжили и довели число аппликаций до 20, после чего проводили повторное тестирование.

Для количественной оценки сенсibilизации к препарату использовали иммунологический метод по выявлению реакции клеток крови на аллерген «in vitro» – реакцию специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ), а также неспецифические показатели – определение относительного количества эозинофилов и базофилов.

Исследование раздражающего действия препарата на слизистые оболочки глаз проводили на кроликах. Препарат в количестве 3-х капель вносился в конъюнктивальный мешок правого глаза трём кроликам. Левые глаза кроликов служили контролем. Наблюдение за состоянием животных проводилось в течение 2-х недель. Оценку раздражающего действия проводили по рекомендациям A.Maida и K.Chrusaielska, учитывая изменение кровенаполнения конъюнктивы, состояние роговицы и радужной оболочки, количество выделений из глаз [54, 66].

Для изучения биологического действия препарата был поставлен эксперимент на белых крысах-самцах, которым «Гепасейф» вводили внутримышечно.

При выборе доз руководствовались рекомендациями, представленными в «Инструкции по применению лекарственного средства «Гепасейф» при заболеваниях печени и желчевыводящих путей у собак и кошек». Рекомендуемые в данной Инструкции суточные дозы для кошек и собак пересчитывали на массу крыс и количество корма, потребляемого крысами за сутки.

Исследования проводились на уровне терапевтической дозы (0,1 мл/кг массы тела) и в три раза больше (0,3 мл/кг массы тела). При этом терапевтическая доза соответствовала рекомендуемой суточной дозе для собак и кошек, т.е. 0,1 мл/кг массы тела. Протяжённость эксперимента два месяца. Статистические группы состояли из 10 голов.

На протяжении подострого и хронического экспериментов, а также при изучении кожно-резорбтивного действия данного средства животных обследовали, используя интегральные и специфические показатели.

В качестве интегральных показателей были взяты: определение массы тела, оценка периферической крови, весовые коэффициенты внутренних органов. Специфическими можно считать оценку функционального состояния центральной нервной системы, печени и почек.

Для регистрации поведенческих реакций использовались некоторые показатели динамической и статической работоспособности животных.

Динамическая двигательная активность определялась с помощью «вертикального» двигательного компонента, который основан на подсчете количества вставаний животных на задние лапы за три минуты. Имеются данные о высокой чувствительности данной реакции для крыс. Указанный метод может служить объективным показателем общего состояния животных. Сезонные колебания показателя незначительны ($5,6 \pm 0,65$).

Для оценки статической мышечной работоспособности применяли метод удерживания животных на горизонтальном стержне. Учитывалось длительность пребывания животного на стержне. Этот метод является наиболее простым и доступным для токсикологических исследований. Он не требует дорогостоящих приборов, и длительность его выполнения может быть учтена с достаточной точностью.

Состояние периферической крови оценивали с помощью общепринятых методик. Определяли количество гемоглобина, лейкоцитов и эритроцитов.

Функциональное состояние центральной нервной системы оценивали по величине суммационно - порогового показателя (Сперанский СВ., 1965). Использовался прибор СПП-01-М. Нервно-мышечная возбудимость животных определялась с помощью электродов по сокращению межпальцевых мышц с увеличением подачи тока.

При изучении влияния препарата на печень использовались показатели, характеризующие обезвреживающую и белковообразовательную функции органа.

Обезвреживающая функция печени исследовалась по способности органа синтезировать гиппуровую кислоту (метод Квика-Пытеля в модификации Н.Г.Степановой, 1962).

О белковообразовательной функции печени животных судили по содержанию общего белка в сыворотке крови (на рефрактометре).

Изучение функционального состояния почек проводилось по комплексу методов – измерялся диурез, определялся удельный вес мочи, содержание в моче белка и хлоридов.

Определение белка в моче основано на взаимодействии белка с сульфосалициловой кислотой, в результате которого степень помутнения анализируется с помощью фотоколориметрического анализа.

Принцип метода определения хлоридов в моче основан на разрушении белков мочи кипячением ее с 10% уксусной кислотой и последующим

добавлением азотной кислоты. Титрование производили раствором азотнокислой ртути (окисной) в присутствии индикатора дифенилкарбазона.

После окончания эксперимента животных умервщляли и определяли массовые коэффициенты внутренних органов.

Статистическая обработка результатов проводилась по методу Стьюдента в модификации Типпета.

Изучение фармакокинетических параметров препарата «Гепасейф». Фармакокинетические исследования проводились на беспородных кошках (в количестве 30 голов) подобранных по принципу аналогов (животные были сходны по массе ($3,6 \pm 0,5$ кг) и возрасту (1,5 -2 года) и на беспородных собаках (в количестве 30 голов) подобранных по принципу аналогов (животные были сходны по массе ($10 \pm 0,5$ кг) и возрасту (2 - 3 года).

Перед исследованием кошек делили на две группы – первой группе (15 голов) внутримышечно вводили разработанный инъекционный препарат силимарина («Гепасейф») в дозе 20 мг/кг массы, второй группе (15 голов) орально давался препарат «Карсил» в дозе 20 мг/кг массы. Кровь для исследования бралась через 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 24, 48 часов после введения препаратов.

Фармакокинетические исследования на собаках проводили по той же схеме: животных делили на две группы – первой группе (6 голов) внутримышечно вводили разработанный инъекционный препарат силимарина («Гепасейф») в дозе 20 мг/кг массы, второй группе (6 голов) орально давался препарат «Карсил» в дозе 20 мг/кг массы. Кровь для исследования бралась через 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 24, 48 часов после введения препарата.

Исследования проводили с помощью прибора ВЭЖХ с УФ детектором (Стайер Аквилон). При этом использовалась колонка Luna C18 с применением элюента ацетонитрил / 1% раствор уксусной кислоты в отношении 2/3 со скоростью потока 0,9 мл/мин на длине волны 288 нм на протяжении 10 мин, объем пробы 20 мкл.

После взятия образца в исследуемую кровь сразу вносилось по 2 мл метанола и производилось интенсивное перемешивание при 25°C на протяжении 12 часов. Далее полученный раствор центрифугировали при 3500 об/мин на протяжении 25 минут.

Из полученного раствора отбирали 1 мл раствора и добавляли 1 мл стандартного раствора силимарина с концентрацией 1 мг/мл.

Для построения градуировочного графика использовали стандартные растворы силимарина в метаноле с концентрациями 1, 0,5 и 0,25 мг/мл.

Градуировочные растворы и исследуемые образцы исследовали на хроматографе 10 раз каждую пробу.

Вычисляется средняя площадь пика силимарина и на основании градуировочного раствора строится график, по которому вычисляется концентрация силимарина в исследуемой пробе: $C_{п}$.

Концентрация силимарина в исследуемой крови вычисляется по формуле:

$$C_{иссл.} = (C_{п} - C_{д}/2) * 4,$$

Где:

$C_{п}$ – концентрация силимарина в исследуемой пробе

На основании полученных данных строится график и производится его экстраполяция на дозировку 1 мг/мл.

По формуле

$$C_{иссл\ 1\ мг/мл} = C_{иссл\ 20\ мг/мл} / 20.$$

При исследованиях силимарина необходимо учитывать, что срок годности градуировочных растворов силимарина не более 48 часов, и максимальная температура не более 35°C.

Определение гепатопротекторной активности препарата «Гепасейф» проводили в сравнении с лекарственным средством, содержащим силимарин в оральной форме, выпускаемым фармацевтической промышленностью «Карсил». Для этого по методу аналогов было

сформировано 3 группы животных (самцы белых мышей) по 10 голов в каждой.

Животные всех групп получали препарат парацетамол, обладающий гепатотоксическим действием. Гепатотоксин вводили мышам самцам 1 раз в день в дозе 500 мг/кг массы тела в течение 5 дней, до наступления клинических симптомов интоксикации.

С шестого дня эксперимента животным опытных групп в течение 14 дней вводили гепатопротекторные препараты. Животные первой группы (контроль) гепатопротекторных препаратов не получали.

Животным второй группы внутримышечно вводили препарат «Гепасейф» из расчета 5 мг/кг массы тела (по действующему веществу).

Животным третьей группы вводили гепатопротекторный препарат «Карсил» per os из расчета 5 мг/кг массы тела (по действующему веществу).

На всем протяжении опыта за животными вели клинические наблюдения, регистрировали гибель мышей.

Животных выводили из опыта на 19-й день путем декапитации, осуществляли забор крови, при вскрытии извлекали внутренние органы для взвешивания и последующего патоморфологического исследования. Кусочки тканей и органов немедленно помещали в фиксирующий раствор: 10% водный нейтральный раствор формалина. Из материала, фиксированного 10%-ным водным раствором нейтрального формалина, на замораживающем микротоме модели 2515 (Reichert Wien) готовили гистологические срезы толщиной 15 мкм. Для обзорных целей гистологические срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином.

Проводили общий и биохимический анализ крови. Для гематологических исследований применяли ветеринарный автоматический гематологический анализатор крови HaemaScreenvet, биохимические показатели сыворотки крови определяли на биохимическом анализаторе BA-88A Mindray, при помощи наборов реагентов ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS».

В комплекс биохимических исследований входило определение концентрации общего белка, альбуминов, глюкозы, щелочной фосфатазы, активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы (АсАТ и АлАТ).

Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении хронического гепатита кошек и при лечении острого гепатита собак. Материалом для исследования послужили мелкие домашние животные: кошки и собаки с заболеваниями гепатобилиарной системы, поступившие на приём в клинику для животных «Doctor-Vet» г. Саратова в период с сентября 2013 года по июнь 2014 года.

Все животные подвергались комплексному обследованию, которое включало в себя клиническое исследование, биохимический анализ крови, ультразвуковую диагностику. При необходимости выполнялось рентгенологическое исследование.

Биохимические исследования проводили на биохимическом анализаторе «MindrayBA-88A» с использованием диагностических систем фирмы «Ольвекс диагностикум» и «Диакон ДС». Ультразвуковую диагностику проводили на портативном ультразвуковом сканере марки «НТИ PU-2200V» и «Mindray DP-6900» с использованием с микроконвексных датчиков частотой 3,5-8 МГц. Рентгенологические исследования проводили на рентгеновском аппарате РУМ-20 и 12П6 (Россия) общепринятыми в рентгенологии методами.

После проведения комплексных диагностических исследований животному назначали соответствующую терапию. Для этого было отобрано 20 собак и 20 кошек. При лечении опытной группы препарат «Гепасейф» применялся как основной гепатопротекторный компонент при общей схеме лечения.

Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении гепатотоксической дистрофии у поросят. Исследования по определению эффективности применения инъекционного

препарата «Гепасейф» для терапии поросят с диагнозом токсическая дистрофия печени проводились на базе учхоза РГАУ-МСХА «Муммовское» Аткарского района Саратовской области, а также в лаборатории ЦКП «Молекулярная Биология» при кафедре «Терапия, акушерство и фармакология» ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова».

Препарат исследовали на поросятах начального периода дорастивания в возрасте 35-40 дней. Было сформировано три группы по 10 поросят в каждой. В двух группах находились животные, больные токсической дистрофией, в третьей группе – клинически здоровые поросята. Поросятам первой группы вводили исследуемый препарат «Гепасейф» в дозе 1,0 мл внутримышечно один раз в день, семь дней. Поросятам второй группы вводили препарат-сравнения – «Катозал» в дозе 2,5 мл внутримышечно один раз в день, семь дней. Поросятам группы контроля лечение не оказывалось. Животные всех групп находились в аналогичных условиях кормления и содержания.

В процессе работы осуществляли ежедневный контроль над состоянием животных. Для этого проводили клинический осмотр, особое внимание, уделяя функционированию пищеварительной системы, в частности печени, наличие признаков интоксикации и дегидратации организма. Исчезновение симптомов болезни, восстановление аппетита и динамика лабораторных показателей свидетельствовала о выздоровлении поросят. Контрольное взвешивание экспериментальных животных проводили в первый и последний день исследования, а также у пяти поросят из каждой группы брали пробы крови. Исследования крови проводили по соответствующим методикам, кроме общего анализа крови, исследовали следующие биохимические показатели: концентрация общего белка, альбуминов, глюкозы, общего билирубина, щелочной фосфатазы, активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы (АсАТ и АлАТ), гаммаглутамилтрансферазы (γ -ГТФ).

В случаях падежа животных проводили патологоанатомическое вскрытие. Патологический материал от павших животных для бактериологических, микологических и токсикологических исследований отбирали в соответствии с существующими инструкциями и рекомендациями – бактериальных инфекций не обнаружено. При копрологическом исследовании больных животных инвазионных поражений не выявлено.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТА «ГЕПАСЕЙФ»

3.1.1 Изучение острой и хронической токсичности препарата «Гепасейф»

Изучение острой токсичности препарата при введении в желудок.
 Препарат вводился в чистом виде белым мышам-самцам. Данные смертельного эффекта использовались для определения смертельных параметров – ЛД₁₆, ЛД₅₀ и ЛД₈₄. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты острой токсичности препарата «Гепасейф» при введении в желудок лабораторных мышей

	Доза, мг/кг				
	8,0	10,0	12,5	16,5	33,5
Выжило	6	4	4	2	0
Погибло	0	2	2	4	6
Z	1,0	2,0	3,0	5,0	
d	2,0	2,5	4,0	17,5	
Zd	2,0	5,0	12,0	87,5	

Обозначения: Z-среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между 2-мя смежными дозами.

Определение ЛД₅₀ проводили по формуле:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum Zd}{n} = 33,5 - \frac{106,5}{6,0} = 15,75 \text{ г/кг};$$

Графический анализ зависимости «доза-эффект» позволяет определить смертельные дозы - ЛД₁₆ и ЛД₈₄, которые составили – 9,5г/кг и 18,5 г/кг, соответственно.

Стандартную ошибку устанавливали по формуле Гаддама (2):

$$S = \sqrt{\frac{K \times s \times d}{n}};$$

где $K = 0,564$; d -средняя интервала между дозами = $6,5$ г/кг

$$s = \frac{ЛД_{84} - ЛД_{16}}{2} = \frac{18,5 - 9,5}{2} = 4,5 \text{ г/кг};$$

$$S = \sqrt{\frac{0,564 \times 4,5 \times 6,5}{6}} = 1,7 \text{ г/кг}$$

Таким образом, $ЛД_{50}$ данного средства составляет $15,8 \pm 1,7$ г/кг (190,0 мг/кг по д.в.) массы тела.

Полученный результат свидетельствует о том, что данный препарат относится к 4-ому классу слаботоксичных соединений (ГОСТ 12.1.007-76).

Для количественной оценки опасности средства на смертельном уровне учитывали два показателя – средне смертельную величину и показатель отношения смертельных величин - «S», выраженный через функцию угла наклона прямой летальности к оси абсцисс $(ЛД_{84}/ЛД_{50} + ЛД_{50}/ЛД_{16}):2 = 1,4$.

Коэффициент опасности смертельного отравления (K) вычисляли по следующей формуле: $\frac{1}{ЛД_{50} \times S}$

В результате этот показатель составил 0,045 и свидетельствует о низкой опасности острого смертельного отравления данным средством (4 класс).

Клиническая картина интоксикации животных, получивших смертельные дозы, после введения проявлялась в виде симптомов, характерных для смертельного отравления – нарушение координации движения, шатающаяся походка, снижение тургора кожи. Вскоре животные впадали в кому. Через 2-3 дня часть из них погибала. При вскрытии

наблюдались умеренная гиперемия слизистой желудка и некоторое полнокровие печени и почек. У животных, получивших дозу 8,0 г/кг, клиническая картина интоксикации не выражена.

Изучение острой токсичности препарата при внутрибрюшинном введении. Препарат вводился в чистом виде белым мышам-самцам. Данные смертельного эффекта использовались для определения смертельных параметров - ЛД₁₆, ЛД₅₀ и ЛД₈₄. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты острой токсичности препарата «Гепасейф» при внутрибрюшинном введении

	Доза, мг/кг			
	10,8	15,0	26,0	52,0
Выжило	6	2	1	0
Погибло	0	4	5	6
Z	2,0		4,5	5,5
d	4,2		11,0	26,0
Zd	8,4		49,5	143,0

Обозначения: Z-среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между 2-мя смежными дозами.

Определение ЛД₅₀ проводили по формуле:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum Zd}{n} = 52,0 - \frac{200,9}{6,0} = 18,5 \text{ г/кг};$$

Графический анализ зависимости «доза-эффект» позволяет определить смертельные дозы ЛД₁₆ и ЛД₈₄, которые составили – 12,5г/кг и 25,5 г/кг, соответственно.

Стандартную ошибку устанавливали по формуле Гаддама (2):

$$S = \sqrt{\frac{K \times s \times d}{n}};$$

где $K = 0,564$; d -средняя интервала между дозами = $13,7$ г/кг

$$s = \frac{ЛД_{84} - ЛД_{16}}{2} = \frac{25,5 - 12,5}{2} = 6,5 \text{ г/кг};$$

$$S = \sqrt{\frac{0,564 \times 4,5 \times 6,5}{6}} = 2,8 \text{ г/кг}$$

Таким образом, $ЛД_{50}$ данного средства при внутрибрюшинном введении составляет $18,5 \pm 2,8$ г/кг ($220,0$ мг/кг по д.в) массы тела.

Полученный результат свидетельствует о том, что данный препарат, согласно классификации Организации экономического содействия и развития (ОЕСД), можно отнести к относительно безвредным соединениям (6 класс токсичности) в условиях введения в брюшину.

Изучение хронической токсичности препарата «Гепасейф» на лабораторных животных. Хроническую токсичность препарата «Гепасейф» изучали в опытах, на 18 белых нелинейных мышах–самцах с исходной массой 20-25 г (таблица 3).

Таблица 3 - Схема опыта

Группа	Препарат	Доза мг/к г	Концентра- ция д.в., мг/мл	Доза мл/кг	Крат- ность	Путь введения	Примеча- ние
1	Гепасейф	10	12	0,8	1 р/д	в/м	ежедневно
2	Гепасейф	1	2,4	0,4	1 р/д	в/м	ежедневно
3	Гепасейф	0	0	0,8	1 р/д	в/м	ежедневно

Результаты исследований показали, что в течение опыта внешних признаков интоксикации у животных не отмечалось. Все животные как

опытной, так и контрольной группы были активными, волосяной покров блестящий, приглажен. Реакция на внешние раздражители сохранена.

Признаков токсикоза и гибели животных не наблюдали, что дает основание говорить об отсутствии у препарата в указанных дозах эффекта кумуляции по токсическому признаку.

Препарат благоприятно сказывался на приросте живой массы у исследуемых животных, о чем свидетельствует положительная динамика результатов взвешивания животных (таблица 4).

Таблица 4 - Влияние препарата «Гепасейф» на прирост массы тела мышей при внутримышечном введении в течение месяца (n=6)

Сроки взвешивания	Масса тела мышей, г		
	контроль	1 мг/кг	10 мг/кг ж.м.
0	26,01±1,08	25,04±1,02	22,97±2,2
1 недели	22,95±0,34	27,3±2,13	26,39±3,7
2 недели	29,94±1,41	29,6±1,61	28,35±4,44
3 недель	30,1±1,24	30,24±2,24	28,96±3,24
4 недель	30,82±2,94	30,28±2,62	29,13±4,25

Примечание: P > 0,05.

Таблица 5 - Показатели функционального состояния почек и печени мышей при введении препарата «Гепасейф» (n=6, P > 0,05)

Показатели	Ед.изм.	Контроль	1 группа (10 мг/кг д.в.)	2 группа (1 мг/кг д.в.)
Глюкоза	ммоль/л	3,56±1,99	3,68±1,08	3,32±1,53
Холестерин	ммоль/л	2,00± 0,82	2,01±0,40	1,83± 0,41
Мочевина	ммоль/л	6,15±1,73	5,67±0,98	4,77± 1,01
Креатинин	мкмоль/л	82,25 ±17,71	80,34±7,89	77,00±6,03
Белок общий	г/л	73,65±5,07	76,98±8,56	75,03±24,61
Альбумин	г/л	46,83 ±5,64	44,86±4,61	41,77±9,80
Глобулин	г/л	26,83 ±8,27	32,12±4,78	33,25±22,60
АЛТ	Е/л	150,75±36,43	150,12±12,84	145,8 ±20,41
АСТ	Е/л	249,00±28,40	254,54±18,98	265,83±47,29

Анализ биохимических показателей крови животных разных групп при длительном введении препарата «Гепасейф» не выявил статистически

значимых отличий от таковых параметров у животных контрольной группы (таблица 5). Эти данные косвенно свидетельствуют об отсутствии нарушений в функциональном состоянии почек и печени.

Влияние препарата «Гепасейф» на периферическую кровь оценивали по морфологическому составу клеток и уровню гемоглобина, на аппарате НаемаScreen. Как показали наши результаты, хроническое введение препарата не вызывало достоверных отличий гематологических показателей в сравнении с контролем (таблица 6).

Таблица 6 - Гематологические показатели мышей при внутримышечном введении гепатосейв (n=6, P>0,05)

Показатель	Ед.изм.	Контроль	1 группа (10 мг/кг д.в.)	2 группа (1 мг/кг д.в.)
WBC	$\times 10^9/L$	7,63±1,44	6,30±3,28	7,70±2,40
LYM	$\times 10^9/L$	5,40±1,11	4,40±2,59	4,70±1,50
MID	$\times 10^9/L$	1,48±0,33	1,23±0,45	1,87±0,83
GRA	$\times 10^9/L$	0,75±0,26	0,67±0,25	1,13±0,61
LYM	%	70,50±3,76	67,67±5,03	61,33±5,41
MID	%	18,88±1,13	21,43±3,95	24,47±8,28
GRA	%	10,63±3,08	10,90±1,21	14,20±3,82
RBC	$\times 10^{12}/L$	9,07±0,72	9,52±1,14	9,90±1,11
HGB	g/L	131,0±6,78	122,33±17,04	124,33±24,03
MCHC	g/L	303,25±9,36	284,33±9,87	296,00±6,56
MCH	Pg	14,48±0,98	12,83±1,10	12,50±1,14
MCV	Fl	47,75±2,45	45,20±2,49	42,30±4,82
RDW-CV	%	15,88±0,10	17,37±3,76	20,53±4,18
RDW-SD	Fl	37,93±1,70	38,97±6,40	42,67±4,41
HCT	%	43,18±1,41	43,03±5,80	42,17±9,02
PLT	$\times 10^9/L$	1075,00±74,30	875,00±102,24	1209,33±151,57
MPV	Fl	5,25±0,40	5,03±0,15	5,20±0,10
PDW	Fl	6,20±0,59	5,70±0,61	5,67±0,68
PCT	%	0,56±0,03	0,44±0,06	0,63±0,09
P-LCR	%	3,60±4,16	2,23±0,31	2,13±0,49

При патоморфологическом исследовании внутренних органов мышей, получавших препарата «Гепасейф», не отмечали каких-либо изменений. Препарат «Гепасейф» при длительном введении не вызывает изменений

функциональной активности основных физиологических систем организма. Повышение привеса и усиление роста у опытной группы мышей в первую неделю эксперимента может быть связано с нормализацией метаболизма при благоприятном влиянии препарата на печень (улучшение усвояемости питательных веществ).

3.1.2 Изучение кумулятивных свойств и биологического действия препарата «Гепасейф» в хроническом эксперименте

Препарат вводился в желудок белых крыс в постоянной дозе, составляющей 1/10 от ЛД₅₀ (1,85 г/кг), с постоянной корректировкой дозы в зависимости от массы тела животных. Длительность эксперимента 14 дней. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Результаты определения гибели животных в подостром эксперименте

Ежедневно вводимая доза, г/кг	Суммарная доза препарата, г/кг	Гибель животных		Дни гибели
		количество было/стало	%	
1,85	7,4	0/10	0	1 - 11
2,77	11,08	1/10	10	12
4,15	16,6	2/10	30	13
6,23	24,92	4/10	40	14
9,34	37,36	5/10	50	14

На основании полученных результатов проведён расчёт средне- смертельной дозы в повторном эксперименте. Поскольку 100% гибель получить не удалось, использовать формулу Кёрбера для определения ЛД_{50-п} не представляется возможным. Поэтому этот параметр, а также ЛД₁₆, ЛД₈₄ и ЛД₁₀₀ были рассчитаны с помощью графического метода анализа «доза-эффект». Для этого результаты гибели животных от каждой из суммарных доз были нанесены на график в двойном логарифмическом масштабе, а затем аппроксимированы прямой. Из точек, соответствующих введённым дозам,

был опущен перпендикуляр до пересечения с осью абсцисс. С помощью полученного графика определены названные параметры токсичности, которые составили - $LD_{16} = 11,08$ г/кг; $LD_{50} = 37,36$ г/кг.

Коэффициент кумуляции, как правило, рассчитывается по отношению средне эффективных доз подострого и острого опытов. Однако, поскольку LD_{50} в остром опыте определить не удалось, $K_{кум}$ определялся по следующему соотношению:

$$K_{кум} = \frac{LD_{50 \text{ многокр}}}{LD_{50 \text{ однокр}}} = \frac{37,36}{18,5} = 2,01$$

В результате данный коэффициент составил 2,01, что согласно классификации Ю.С.Кагана, относит препарат «Гепасейф» к умеренно кумулятивным соединениям (3 класс опасности).

Для выявления функциональной кумуляции животные обследовались на 5, 10 и 15 дни опыта. Результаты представлены в таблицах 8 и 9.

В таблице 8 представлены результаты измерения массы тела животных и суммационно-пороговый показатель (СПП).

Таблица 8 - Масса тела и суммационно-пороговый показатель (СПП) у крыс в условиях подострого воздействия препарата «Гепасейф»

Показатели	Группы	5 день (n=10)	10 день (n=10)	15 день (n=9)
Масса тела (в г)	Контроль	192,5±1,5	208,8±2,1	220,4±8,1
	Опыт	187,8±2,8	199,5±1,8	219,3±8,2
СПП, (усл.ед.)	Контроль	3,4±0,2	3,5±0,2	3,4±0,2
	Опыт	3,3±0,4	3,6±0,4	5,5±0,5
	P<0,05			
	Восстановительный период	-	-	Контроль 3,5±0,9 Опыт 3,8±1,2

Как следует из таблицы 8, у опытных животных, на 15 день после получения суммарной дозы отмечалось повышение суммационно-порогового показателя (СПП) (при $P < 0,05$), и, как следствие, заторможенность животных. Восстановление СПП наступало уже через три дня после прекращения дачи препарата.

Результаты измерения ректальной температуры, анализа гематологических показателей и некоторых поведенческих реакций животных представлены на таблице 9.

Таблица 9 - Состояние некоторых функциональных показателей крыс в подостром эксперименте

Показатели	Группы	5 день	10 день	15 день
Гемоглобин, г/л	Контроль	110,2±1,7	112,7±1,8	113,6±2,1
	Опыт	111,9±2,1	111,4±1,2	113,0±1,9
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	Контроль	12,3±1,1	12,6±1,8	12,7±1,5
	Опыт	11,9±1,4	12,9±1,4	13,2±1,1
Эритроциты, $\times 10^{12}$ /л	Контроль	5,2±0,15	5,4±0,11	6,1±0,22
	Опыт	6,0±0,41	6,2±0,2	5,8±0,45
Ректальная температура, °С	Контроль	37,1±0,15	37,2±0,11	37,1±0,6
	Опыт	37,0±0,2	37,3±0,15	37,0±0,2
«Тест вставания», (за 3 мин)	Контроль	6,0±0,45	5,9±0,25	6,2±0,19
	Опыт	5,7±0,35	6,0±0,30	5,8±0,52
«Горизонтальный стержень» (сек.)	Контроль	32,4±1,5	33,2±1,3	33,2±1,5
	Опыт	34,8±1,7	39,1±4,2	30,9±1,1

Как следует из представленных данных, все показатели, характеризующие функциональное состояние периферической крови, а также ректальная температура у опытных животных достоверно не отличались от контроля на всём протяжении опыта.

Что касается поведенческих показателей, наблюдалась некоторая тенденция к их снижению у опытных животных на 15 день воздействия, однако разница по сравнению с контролем была статистически не достоверной.

Таким образом, «Гепасейф» обладает слабовыраженной как материальной, так и функциональной кумуляцией, проявляющейся только в результате получения в конце эксперимента больших суммарных доз, в несколько раз превышающих рекомендуемую для практического применения.

Изучение биологического действия препарата «Гепасейф» в хроническом эксперименте. Согласно «Инструкции по применению лекарственного препарата Гепасейф при заболевании печени различной этиологии у собак и кошек» препарат рекомендуется вводить внутримышечно животным ежедневно 1 раз в день, в течение 7-14 дней в дозах, которые зависят от массы животного и составляют 0,1 мл на кг массы тела. При расчёте на массу крысы в качестве терапевтической принята доза 0,1 мл на кг массы тела (1-ая группа). 2-ой группе крыс вводили «Гепасейф» в дозе 0,3 мл/кг массы тела (три терапевтических дозы); 3-я группа крыс была контролем – ей вводили дистиллированную воду. Каждая группа состояла из 10 крыс-самцов. Длительность эксперимента 2 месяца.

Результаты оценки биологического действия препарата представлены в таблицах 10,11,12,13,14,15.

В таблице 10 представлены данные определения массы тела животных, ректальной температуры и иммуноглобулина.

Таблица 10 - Масса тела, ректальная температура и количество иммуноглобулина в сыворотке крови крыс, подвергавшихся хроническому воздействию препарата «Гепасейф»

Показатели	Сроки (месяц)	Контроль	0,1 мл/кг массы тела в/м	0,3 мл/кг массы тела в/м
Масса тела (в г)	Фон	199,6±7,1	196,5±3,2	201,6±2,7
	1	238,2±2,3	234,5±2,6	231,6±2,5
	2	243,8±1,9	243,6±2,8	245,7±7,4
Ректальная температура (град)	1	38,0±0,1	37,8±0,1	38,0±0,1
	2	38,1±0,5	37,9±0,2	38,1±0,2
Имуноглобулин (мг/кг)	1	25,1±0,6	24,8±1,8	25,5±0,3
	2	24,3±0,6	25,3±1,2	25,4±0,9

Как следует из таблицы 10, масса тела животных, ректальная температура и количество иммуноглобулинов на всём протяжении опыта во всех группах опытных животных находились на одном уровне с контролем и достоверно от него не отличались.

Анализ периферической крови животных проводился с помощью определения гемоглобина и подсчета лейкоцитов и эритроцитов. Результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Состояние периферической крови крыс в хроническом эксперименте

Показатели	Сроки (месяц)	Контроль	0,1 мл/кг массы тела в/м	0,3 мл/кг массы тела в/м
Гемоглобин (г/л)	1	110,5±2,8	110,4±2,9	109,3±4,6
	2	110,3±1,3	111,6±2,8	109,8±4,2
Лейкоциты (10 ¹² /л)	1	8,0±0,2	7,9±0,2	7,2±0,2
	2	8,1±0,5	8,0±0,4	7,8±0,5
Эритроциты (10 ⁹ /л)	1	5,7±0,8	5,4±0,2	5,1±0,5
	2	5,7±0,3	5,6±0,8	6,0±0,2

Как следует из таблицы 11, все показатели, характеризующие функциональное состояние периферической крови у животных опытных групп достоверно не отличаются от тех же показателей контрольных животных на всём протяжении опыта. Функция центральной нервной системы исследовалась у животных с помощью измерения суммационно-порогового показателя (СПП) и оценки работоспособности животных с помощью метода плавания и двигательной активности (вертикальной и горизонтальной). Данные представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Некоторые показатели состояния центральной нервной системы животных, подвергавшихся воздействию препарата «Гепасейф» в хроническом эксперименте

Показатели	Сроки	Контроль	0,1 мл/кг массы тела в/м	0,3 мл/кг массы тела в/м
СПП (усл.ед.)	1	3,0±0,2 3,0±0,4	3,3±0,7	4,1±0,9
	2		3,4±0,2	4,0±1,2
ВДА (число вертикальных стоек в 3 мин)	1	6,0±0,2	5,8±0,4	5,9±0,4
	2	7,8±0,9	7,3±0,2	5,5±0,7
ГДА (сек)	1	22,0±1,2	24,8±1,2	25,6±1,2
	2	21,9±1,4	23,1±1,4	21,4±1,3
Длительность плавания (мин)	Через 2 месяца	6,4±0,3	7,2±1,2	8,4±1,1

Как следует из таблицы, все показатели, характеризующие состояние ЦНС и работоспособности животных опытных групп достоверно не отличаются от таковых контрольных животных.

При изучении функционального состояния почек определяли диурез, удельный вес мочи, общий белок в моче и хлориды. Результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Функциональное состояние почек у животных в условиях повторного воздействия препарата «Гепасейф»

Показатели	Сроки (месяц)	Контроль	0,1 мл/кг массы тела в/м	0,3 мл/кг массы тела в/м
Суточный диурез (в мл)	1 2	4,1±1,1 4,0±0,2	4,1±0,9 3,9±0,7	3,4±1,2 3,9±0,4
Удельный вес (в г)	1 2	1,011±0,01 1,012±0,02	1,011±0,01 1,013±0,01	1,012±0,02 1,013±0,02
Белок в моче (в мг/мл)	1 2	6,8±0,2 7,1±0,3	6,8±0,2 7,1±0,3	7,8±0,5 8,2±0,1
Хлориды (в мг/мл)	1 2	6,8±0,20 6,7±0,22	6,9±0,20 6,7±0,24	6,8±0,30 7,6±0,30

Как следует из представленной таблицы, все показатели, характеризующие функциональное состояние почек, у животных, получавших «Гепасейф» в дозах 0,1 и 0,3 мл/кг массы тела, достоверно не отличались от контроля и не выходили за границу физиологических колебаний для данного вида животных.

Ведущими показателями функционального состояния печени являются, как правило, обезвреживающая и белковообразовательная функции, которые в нашем эксперименте оценивались с помощью определения в моче гиппуровой кислоты и общего белка в сыворотке крови.

Не менее важными для жизнедеятельности организма животных в целом, а также для оценки печени является определение количества в сыворотке крови общих SH-групп.

Сульфгидрильные группы (SH-группы) – это функциональные группы в молекулах органических соединений, в т.ч. белков, определяющих их

функциональные специфические свойства. SH-группы играют важную роль в образовании внутримолекулярных связей; в том числе S-s-связь, которая в свою очередь обеспечивает жесткое скрепление отдельных полипептидных цепей, например, в иммуноглобулинах.

Результаты определения названных показателей представлены в таблице 14.

Таблица 14 - Некоторые показатели функционального состояния печени животных, подвергавшихся воздействию препарата «Гепасейф» в хроническом эксперименте

Показатели	Сроки обследования (месяц)	Контроль	Дозы	
			0,1 мл/кг массы тела	0,3 мл/кг массы тела
Гиппуровая кислота (мг/сутки)	1	102,5±6,3	99,7±2,4	89,8±1,2
	2	98,3±4,8	90,8±1,2	80,9±1,3
Общий белок в сыворотке крови (г/л)	1	7,8±0,5	8,2±0,24	8,0±0,30
	2	8,2±0,2	8,2±0,2	8,7±0,20
Общие SH-группы в сыворотке крови, (мкмоль/100 мл)	1	30,2±1,5	32,3±1,6	27,8±1,5
	2	28,9±1,8	28,9±0,9	29,9±0,9

Как следует из таблицы 14, содержание гиппуровой кислоты в моче, общего белка и SH-групп в сыворотке крови у животных опытных групп, подвергавшихся воздействию «Гепасейфа», находились в пределах контрольных значений и достоверно от них не отличались.

В конце опыта, животных убивали и определяли массовые коэффициенты внутренних органов. Результаты представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Массовые коэффициенты внутренних органов животных, подвергавшихся воздействию препарата «Гепасейф»

Показатели	Печень	Почки	Сердце	Селезёнка
Контроль	4,10±0,4	0,78±0,02	0,4±0,02	0,30±0,02
0,1 мл/кг массы тела	4,05±0,3	0,75±0,02	0,39±0,04	0,29±0,02
0,3 мл/кг массы тела	4,00±0,2	0,73±0,08	0,38±0,05	0,26±0,12

Как следует из таблицы 15, массовые коэффициенты органов у животных опытной группы находятся на одном уровне с контролем и

достоверно от него не отличаются, что свидетельствует о том, что этот показатель не является определяющим при воздействии данного препарата.

3.1.3 Изучение аллергизирующего действия препарата «Гепасейф»

На сегодняшний день известно, что многие препараты не только в обычных (терапевтических) дозировках, но и в минимальных дозах вызывают различные аллергические реакции организма.

Определение сенсibiliзирующих (аллергизирующих) свойств Гепасейфа проводили на морских свинках по целому ряду методик.

Вначале на 6 морских свинках в реакции непрямо́й дегрануляции тучных клеток по методу Фрадкина (1978) препарат вводили внутримышечно однократно в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела. Для получения тучных клеток использовали белых крыс массой 140-200 г. Судя по результатам реакции, препарат сенсibiliзацию организма не вызывал (таблица 16).

Внутрикожная проба, проведенная на 6 морских свинках, также была отрицательной – наблюдалась лишь незначительная гиперемия на месте введения у 2 свинок.

Таблица 16 - Результаты реакции непрямо́й дегрануляции тучных клеток

№№ животных	Доза препарата	Кратность введения	Результат, % дегр. клеток
1	0,1 мл/1 кг	Однократно	6,9
2	0,1 мл/1 кг	—""—	7,8
3	0,1 мл/1 кг	—""—	7,4
4	0,1 мл/1 кг	—""—	7,0
5	0,1 мл/1 кг	—""—	7,8
6	Контроль	Не вводили	7,4

Примечание: до 10% — реакция отрицательная.

Для дальнейшей оценки сенсibiliзирующего действия препарата использовали методику, разработанную в НИИ медицины Труда АМН РФ. Для этой цели подбор рабочего раствора «Гепасейфа» проводили путем закапывания препарата в разном разведении в глаз интактной морской свинки. Реакцию учитывали через 15 минут после закапывания (реакция

немедленного типа) и 24 часа (реакция замедленного типа). Под опыт взяли 3 морские свинки, которым закапали по 0,02 мл испытуемого раствора. Покраснения конъюнктив и слезного протока мы не наблюдали.

Определение сенсibiliзирующих свойств препарата «Гепасейф» проводили на 3 кроликах массой тела 5 кг. В конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали по 0,05 мл препарата «Гепасейф», в конъюнктивальный мешок правого глаза закапывали физиологический раствор в той же дозе. При закапывании препарата в конъюнктивальный мешок кроликам через 15 мин, через 24 и 48 часов покраснение конъюнктивы и истечение экссудата у всех кроликов не наблюдалось. Роговица глаза прозрачная, гладкая, без изъязвлений и помутнения. Контроль был отрицательный (2 капли физиологического раствора натрия хлорида в конъюнктивальный мешок правого глаза). Исходя из чего можно предположить, что препарат не обладает местным раздражающим и алергизирующим свойствами.

При внутрикожном введении в ухо препарата в дозе 0,02 мл 3-м подопытным свинкам (3-м контрольным вводили физиологический раствор в той же дозе) видимых изменений со стороны ушных раковин у двух морских свинок не отмечали, лишь у одной обнаружено незначительное покраснение.

Через 12 дней у всех животных были выстрижены участки кожи на одном из боков. При нанесении на эти участки испытуемого препарата в разрешающей дозе мы отмечали лишь слабую гиперемию. Далее, в течение 7 дней ежедневно на открытые (выстриженные) участки кожи наносили препарат. Раздражающее действие препарата, проявляющееся в виде незначительного покраснения (без отека) отмечали на 6-й день после начала втирания препарата в кожу.

Через 24 часа после учета эпикутанных аппликаций были поставлены иммунологические тесты для выявления реакции клеток крови на алерген *in vitro*: реакция специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ) и реакция специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ). Эти реакции позволили

определить возможность развития аллергических реакций замедленного типа и иммунный ответ на введение химического соединения – новой лекарственной формы флавоноидов расторопши пятнистой.

Реакция специфической агломерации основана на склеивании лейкоцитами аллергена и *in vitro* она учитывается по величине процента агломерации лейкоцитов в опытном мазке (АО) к проценту агломерации в контрольном мазке (АК). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии сенсibilизации (Таблица 17).

Таблица 17 - Результаты РСАЛ у морских свинок, сенсibilизированных препаратом «Гепасейф»

Показатель агломерации АО%; АК%	
Подопытные животные (Гепасейф)	Контрольные животные (препарат не вводили)
2,0	0,90
2,0	1,12
1,9	1,26
2,4	1,40
1,5	1,17
1,6	1,08
Среднее	1,16

Таблица 18 - Показатели специфического лизиса лейкоцитов

Показатели РСЛЛ, %	
Опыт	Контроль
2,4	1,2
1,4	1
4,9	5
1,6	1
1	1
Среднее	1,44

Реакция специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ) расценивается как положительная при показателе выше 10%. По данным, проведенным нами исследований результаты РСЛЛ в опытной группе можно отнести к положительным лишь условно. Показатели агломерации и специфического лизиса лейкоцитов в крови морских свинок у подопытных животных

несколько выше, чем у контрольных, что указывает на слабую сенсibilизацию (таблица 18).

Таким образом, из результатов проведенных исследований можно сделать вывод, что инъекционная лекарственная форма на основе флавоноидов расторопши пятнистой «Гепасейф» практически не обладает сенсibilизирующим действием.

3.1.4 Изучение иммунотоксичности и эмбриотоксического действия препарата «Гепасейф»

Введение любого вещества в организм животного вызывает определенные сдвиги в иммунной системе, обуславливая активизацию хелперной или супрессорной активности иммунокомпетентных клеток.

Иммунотоксичность препарата «Гепасейф» определяли по характеру влияния препарата на Т- и В-клеточные звенья иммунной системы организма животных.

Оценку Т-клеточного звена иммунитета проводили по выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и аутологичным розеткообразующим клеткам (ауто-РОК).

Для определения выраженности реакции ГЗТ было взято 20 мышей весом 18-20 г линии С57В1/6, которых разделили на 2 группы: мышам 1-й группы (10 гол.) вводили препарат в дозе 0,1 мл/кг живого веса по ДВ и параллельно с введением препарата вводили 10%-ную суспензию эритроцитов барана (ЭБ) внутрибрюшинно в дозе 0,3 мл. Животные 2-й группы (10 гол) служили контролем, им вводили только 10%-ную суспензию ЭБ. Через 5 дней после сенсibilизации всем животным вводили разрешающую дозу 2%-ной суспензии ЭБ в количестве 0,02 мл в правую лапку, а в левую физиологический раствор в дозе 0,02 мл. Через 24 часа животных убивали, отрезали лапки на уровне голеностопного сустава и

взвешивали на торсионных весах для учета индекса стимуляции по формуле:

$$ИС = \frac{\text{результаты опыта} - \text{результаты контроля}}{\text{результаты контроля}} \times 100\%$$

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 19.

Таблица 19 - Результаты постановки реакции ГЗТ

№ группы	Доза препарата	ЭБ разрешающая доза	ИС
1	10 мг/кг	20 мкл	3,9±0,2
2	Контроль	20 мкл	4,0±0,3

Изменения в динамике аутологичных розеткообразующих клеток у мышей дает представление о влиянии препарата на клеточный иммунитет, выражающееся снижением или повышением функциональной активности Т-лимфоцитов.

Для определения выраженности к аутологичным розеткообразующим клеткам (ауто-РОК) было взято 20 мышей линии С57В1/6 весом 18-20 г, которых разделили на две группы. Животным первой группы вводили препарат в дозе 0,1 мл/кг веса внутримышечно; 2-я группа служила контролем и препарата не получала. Исследования проводили на 5, 10, 15 и 20 дни после дачи гепатопротектора.

При даче препарата «Гепасейф» интактным мышам кинетика ауто-РОК характеризовалась стабильными показателями в крови в течение 10 дней как абсолютного, так и относительного количества розеткообразующих клеток, к 20 дню количество розеткообразующих клеток так же оставалось без изменений (3 против 3,2).

Оценку В-клеточного звена иммунной системы проводили путем определения антителообразующих клеток (АОК), кинетики В-лимфоцитов и титров гемагглютининов в сыворотке крови мышей.

При определении антителообразующих клеток (АОК) в опытах было использовано 40 мышей линии С57В1/6. Животных делили на две группы. Мышам первой группы вводили препарат «Гепасейф» в дозе 0,1 мл/кг веса, мыши второй группы служили контролем и препарата не получали. При

определении антителообразующих клеток (АОК) контрольным животным вводили внутривенно ЭБ.

Индекс стимуляции вычисляли по формуле:

$$ИС = \frac{АОК \text{ в опыте}}{АОК \text{ в контроле}}$$

Число АОК считали в каждой пробе среди 200 лимфоцитов.

Результаты определения АОК в 1 пробе в опыте составили в среднем 12,2, в контроле — 12,4; индекс стимуляции — 0,98, что говорит об отсутствии угнетения трансформации В-лимфоцитов АОК в селезенке.

Результаты исследований кинетики В-лимфоцитов представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Результаты исследования кинетики В-лимфоцитов

№ группы	Доза препарата	Дни исследования				
		1-й	5-й	10-й	15-й	20-й
1	0,1мл/кг	18,4±1,9	17,0±2,0	17,4±2,8	17,8±1,2	18,0±4,8
2	контроль	18,2±0,6	17,6±1,2	18,8±1,9	18,0±3,8	18,4±1,8

Как видно из таблицы 20, содержание ЕАС-розеткообразующих клеток (ЕАС–РОК) в крови мышей опытной и контрольной группы существенно не отличалось в течение всего периода испытаний.

Изучение кинетики В-лимфоцитов. В динамике относительного количества В-лимфоцитов после введения препарата мы не наблюдали достоверное снижение ЕАС–РОК с 1-го по 10-й дни исследования, их количество в конце эксперимента на 20-й день достигало 18,0±4,8%. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что препарат «Гепасейф», введенный интрамускулярно однократно, не вызывает снижения иммунного ответа.

Для определения титров гемагглютининов животных обеих групп внутривенно иммунизировали 10%-ной суспензией ЭБ. На 7-й день все

мышцы были убиты и у них были определены титры общих антител и антител классов М и G. (таблица 21).

Таблица 21 - Результаты исследования титров антител

№ гр.	Препарат	Доза	Титры антител			Индекс иммуно- супрессии
			IgM	IgG	общие АТ	
1	Гепасейф	1 мл/ 1кг	0,92±0,36	2,44±0,45	3,36±0,32	0,9
2	Контроль	—	1,22±0,1	2,90±0,52	4,12±0,31	—

Примечание: разница показателей относительно контроля статистически недостоверна ($P > 0,05$).

Из данных таблицы 21 следует, что титры общих антител (АТ) у подопытных животных несколько ниже, чем таковые у контрольных, а разница в их содержании статистически недостоверна.

Препарат «Гепасейф» не вызывает угнетения Т- и В- клеточного звена иммунитета и может быть использован как лечебный препарат.

Изучение эмбриотоксического действия препарата «Гепасейф».
Исследования проводились на белых беспородных крысах-самках в количестве 30 голов. 15 животных взяли в опытную группу и 15 в контрольную. Перед постановкой эксперимента к каждой самке подсаживался самец, после чего у самки проводили забор вагинальных смывов и животное считалось беременным, если в смывах при микроскопических исследованиях обнаруживались сперматозоиды (этот день считают первым днём беременности).

Препарат «Гепасейф» в дозе 10 мг/кг вводили самкам внутримышечно один раз в сутки в одно и то же время с 1 по 19 день беременности. Контрольной группе вводился растворитель в том же объёме (таблица 22).

Результаты оценивались после эвтаназии и вскрытия самок. Вскрытие проводили на 20-й день беременности (таблица 23).

Таблица 22 – Результаты вскрытия

№	Опытная группа			Контрольная группа		
	Число живых плодов	Число мёртвых плодов	Число имплантов	Число живых плодов	Число мёртвых плодов	Число имплантов
1	8	0	8	9	0	9
2	9	0	9	10	2	10
3	10	1	11	8	0	8
4	11	0	11	9	0	9
5	8	0	8	10	1	11
6	9	0	9	9	0	9
7	12	2	14	11	1	12
8	8	0	8	10	0	10
9	9	0	9	7	0	7
№	Опытная группа			Контрольная группа		
	Число живых плодов	Число мёртвых плодов	Число имплантов	Число живых плодов	Число мёртвых плодов	Число имплантов
10	10	0	10	8	0	8
11	8	0	8	9	1	10
12	12	2	14	11	1	12
13	9	0	9	7	0	7
14	10	0	10	9	0	9
15	8	0	8	10	1	11
Среднее на одно животное	9,4	0,3	9,7	9,1	0,5	9,5

Таблица 23 - Исследование эмбриотоксического действия препарата «Гепасейф» на крысах

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Количество беременных самок	15	15
Количество желтых тел	0 / 0	0 / 0
Количество мест имплантации	142 / 9,5	146 / 9,7
Количество живых плодов	137 / 9,1	141 / 9,4
Количество резорбций	0 / 0	0 / 0
Количество мертвых плодов	7 / 0,5	5 / 0,3
Предимплантационная гибель	0 (в %)	0 (в %)
Постимплантационная гибель	4,9 % (в %)	3,4 % (в %)
Масса плода	7 гол (в г)	5 гол (в г)
Внешний осмотр плодов: количество обследованных плодов из них с аномалиями развития	Всего осмотрено 137 плодов с внешними аномалиями развития плодов не обнаружено.	всего осмотрено 141 плод с внешними аномалиями развития плодов не обнаружено

Примечание: в числителе – общее количество, в знаменателе – на одну самку

На основании полученных данных можно сделать выводы о том, что препарат «Гепасейф» не обладает эмбриотоксическим действием.

3.1.5 Изучение переносимости препарата «Гепасейф» собаками и кошками при однократном и повторном введении в терапевтических и повышенных дозах

Переносимость препарата «Гепасейф» изучали на базе приюта для животных. Исследование проводили на 12 собаках, разных пород и пола, в возрасте от 4 до 6 месяцев и массой от 5 до 10 кг, находившихся в одинаковых условиях содержания и получавших промышленный рацион. Животные содержались в вольерах по 2 или 3 головы в каждом и ежедневно получали сухой корм для щенков в количестве: собаки 2-4 кг – 80 г; собаки 4-8 кг – 120 г, кратность кормления зависела от возраста щенков. Доступ к воде у животных был свободный. При изучении переносимости продолжительность курса лечения составляла 15 дней. Подопытных животных разделили на 4 группы по принципу аналогов, по 3 собаки в каждой. Препарат вводили собакам внутримышечно в область бедра в следующих дозах: 1 группа – в пятикратной терапевтической дозе 0,5 мл/кг 1 раз в день в течение 14 дней; 2 группа – в трехкратной терапевтической дозе 0,3 мл/кг один раз в день в течение 14 дней; 3 группа – терапевтическая доза 0,1 мл/кг один раз в день в течение 14 дней; 4 группа – контрольная, препарат не получала. Вводили 1 раз в день физиологический раствор дозе 0,1 мл/кг в течение 14 дней. Наблюдение за клиническим состоянием животных вели ежедневно на протяжении 14 суток. Интегральные параметры общего состояния (вес, ректальная температура) исследовали до опыта и через 14 дней после начала введения препарата. Общее состояние организма также оценивали по показателям общего клинического анализа крови (таблица 24, 25). Функциональное состояние почек животных оценивали по анализам

биохимии крови и анализу мочи. Биохимические и гематологические исследования проводили до опыта, на 7 и 14 сутки после начала введения препарата. Кровь для исследования получали пункцией вены предплечья.

Таблица 24 - Влияния препарата «Гепасейф» на клинические показатели крови собак до опыта

Исследуемые показатели	Группы животных			
	I	II	III	IV
Гемоглобин, г/л	140±13	139±11	146±14	141±11
Гематокрит, %	39,6±1,7	39,2±1,2	40,3±1,4	39,9±1,8
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,4±0,2	6,9±0,3	6,7±0,4	6,2±0,3
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	373,7±15,5	307,2±21,5	285,7±12,2*	409,4±13,4
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	10,2±0,2	10,4±0,8	10,2±0,3	9,8±0,6
Юные нейтрофилы, %	0	0	0	0
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,5±0,1	1,6±0,2*	1,7±0,3	1,6±0,2
Сегментоядерные нейтрофилы, %	15,0±0,3	16,8±1,6	17,5±0,1	15,2±1,2
Базофилы, %	0	1	0	0
Эозинофилы, %	1,4±0,1	2,0±0,2	2,4±0,1	1,4±0,1
Моноциты, %	7,5±0,8	8,5±2,6	7,0±1,7	7,6±1,3
Лимфоциты, %	74,5±2,3	71,4±2,8	71,2±1,9	73,9±2,5

*P≤0,05 относительно контроля

Таблица 25 - Влияние препарата «Гепасейф» на клинические показатели крови собак на 14 сутки опыта

Гемоглобин, г/л	137±12*	139±9	138±9*	146±14
Гематокрит, %	39,8±1,7	40,6±1,2	40,3±1,2	37,9±3,1
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,1±0,2	6,2±0,2	6,0±0,2	5,8±0,3
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	298,3±12,4	302,7±17,1	300,1±15,8	308,6±21,9
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	10,6±0,7	10,8±0,9	10,4±1,1*	10,5±0,9
Юные нейтрофилы, %	0	0	0	0
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,4±0,1	1,6±0,2	1,7±0,2	1,6±0,1
Сегментоядерные нейтрофилы, %	15,9±1,1	18,0±1,1*	16,3±3,3	15,0±2,0
Базофилы, %	0	0	0	0
Эозинофилы, %	2,5±0,2	2,8±0,3	2,4±0,2	2,3±0,4
Моноциты, %	8,6±0,7	7,5±0,6	7,7±0,8	8,3±0,5
Лимфоциты, %	71,3±3,4	69,9±3,0	71,4±2,7	72,4±3,6

*P≤0,05 относительно контроля

Результаты исследований. На протяжении 14 дней при ежедневном осмотре животных всех групп никаких клинических изменений в поведении и после введения препарата не наблюдалось, также не было замечено изменений общего состояния, двигательной активности и изменения аппетита. Состояние верхних дыхательных путей и органов грудной клетки удовлетворительно. Количество дыхательных движений 25-41 в минуту. Слизистая ротовой полости бледно-розовой окраски, у некоторых собак пигментирована, влажная. При осмотре конечностей ушибов, ран, отека не обнаружено.

Таблица 26 - Биохимические показатели крови собак в субхроническом эксперименте с препаратом «Гепасейф»

Исследуемые показатели	Группы животных			
	I	II	III	IV
До опыта				
Билирубин общий, мкмоль/л	9,2±0,6	9,3±0,3	9,1±0,1	8,8±0,2
АСТ, Е/л	37±0,2*	34±0,4	34±0,3	33±0,2
АЛТ, Е/л	31±0,3	29±0,3	31±0,5*	32±0,4
Щелочная фосфатаза, Е/л	156±2,50	158±2,10	169±1,99	164±1,52
Мочевина, ммоль/л	6,3±0,3	6,3±0,4	6,4±0,3	6,7±0,2
Креатинин, мкмоль/л	88±0,6	86±0,2	88±0,4	82±0,6
Общий белок, г/л	61,2±1,8	60,4±1,9	60,3±1,4	62,4±1,2
Глюкоза, ммоль/л	6,2±0,1	5,7±0,1	6,0±0,2	5,8±0,4
14 сутки				
Билирубин общий, мкмоль/л	8,90±0,7	8,2±0,8*	8,7±0,4	8,3±0,7
АСТ, Е/л	31±1,2	32±0,4	31±0,7	34±0,2
АЛТ, Е/л	30±0,2*	31±0,3	31±0,2	30±0,4
Щелочная фосфатаза, Е/л	152±1,50	150±1,20	145±1,04	148±1,92
Мочевина, ммоль/л	6,51±0,2	6,5±0,4*	6,6±0,7*	6,7±0,5
Креатинин, мкмоль/л	94±0,3	95±0,2	90±0,3	89±0,4
Общий белок, г/л	63,03±1,62	62,6±0,3	63,75±2,55	66,5±1,4
Глюкоза, ммоль/л	5,4±0,13	5,3±0,19	5,4±0,3	5,3±0,18

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

Изучение влияния лекарственного препарата «Гепасейф» на клинические показатели крови собак показало, что морфологические

показатели периферической крови в целом соответствовал физиологической видовой норме. Патологических сдвигов показателей не наблюдалось (таблица 26).

Как видно из таблиц 24,25,26 колебания значений всех исследуемых показателей крови у животных как контрольной, так и опытных групп соответствовали физиологической норме и практически не отличались от фоновых.

Таблица 27 - Показатели функционального состояния почек собак в эксперименте с препаратом «Гепасейф»

Показатели	Номера животного				
	1	2	3	4	5
До опыта					
Цвет	желтый	желтый	желтый	светло-желтый	светло-желтый
Прозрачность	прозрачная	прозрачная	прозрачная	прозрачная	прозрачная
Плотность, (г/мл)	1,010	1,011	1,012	1,012	1,014
Белок (мг/мл)	0,20	0,24	0,23	0,25	0,20
pH	6,0	6,2	6,2	6,4	6,2
Билирубин	нет	нет	нет	нет	нет
Кетоновые тела	нет	нет	нет	нет	нет
Сахар	нет	нет	нет	нет	нет
Лейкоциты (в п/з)	0	1	0	1	0
Эритроциты (в п/з)	0	0	0	0	0
14 сутки					
Цвет	желтый	светло-желтый	желтый	желтый	желтый
Прозрачность	прозрачная	прозрачная	прозрачная	прозрачная	прозрачная
Плотность, (г/мл)	1,014	1,013	1,010	1,012	1,013
Белок (мг/мл)	0,22	0,23	0,20	0,18	0,14
pH	6,0	6,2	6,1	6,2	6,0
Билирубин	нет	нет	нет	нет	нет
Кетоновые тела	нет	нет	нет	нет	нет
Сахар	нет	нет	нет	нет	нет
Лейкоциты (в п/з)	0	0	1	0	0
Эритроциты (в п/з)	0	1	0	0	0

Результаты исследования мочи, не выявили существенных различий от физиологических показателей данного вида животных. Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что функциональное состояние почек не было нарушено (таблица 27).

Результаты исследований показали, что применение препарата «Гепасейф» в течение 14 суток в пятикратной терапевтической дозе не оказывает влияния на физиологические показатели жизнедеятельности собак, показатели опытных групп животных статистически достоверно не отличались от контрольной.

По результатам общеклинических и лабораторных исследований можно судить о том, что введение препарата опытным животным на протяжении 14 дней в 5 раз превосходящей терапевтическую дозу при изучении переносимости препарата достоверно не повлияло на функциональное состояние органов и систем организма собак.

Опыт по изучению переносимости препарата «Гепасейф» на кошках проводили на 12 кошках разного пола, возраста и породной принадлежности. Животных по принципу аналогов разделили на 4 группы по 3 кошки в каждой. Препарат вводили внутримышечно в область бедра 1 раз в день в течение 14 дней в следующих дозах: 1 группа – в пятикратной терапевтической дозе 0,5 мл/кг; 2 группа – в трехкратной терапевтической дозе 0,3 мл/кг; 3 группа – терапевтическая доза 0,1 мл/кг; 4 группа – контрольная – вводили дистиллированную воду дозе 0,1 мл/кг. В течение опыта всех кошек содержали в одинаковых условиях. Все исследования проводили за сутки до и через 14 суток после начала введения препарата. По общепринятым методикам проводили изучение общего клинического состояния животных. Проводили гематологические исследования.

Из гематологических исследований определяли количество эритроцитов и лейкоцитов в камере Горяева, подсчет гемоглобина (по Сали) и выведение лейкоцитарной формулы проводили по Неводову. Кровь для исследований брали из вены предплечья.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что колебания показателей клинического состояния подопытных животных, получавших препарат в дозах 0,1 и 0,5 мл/кг, были в пределах физиологической нормы и существенно не отличались от клинического состояния этих животных до введения препарата, а также от контрольных животных.

У кошек третьей группы после введения препарата в дозе 0,1 мл/кг массы тела в течение 14 дней также не находили отклонений в общем клиническом статусе животных. В гематологической картине изменений не наблюдали. Количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобин были в пределах физиологической нормы у животных всех групп (таблица 28, 29, 30, 31).

Таблица 28 - Гематологические показатели кошек контрольной группы (n = 5)

Сроки исследования, дни	Эритроциты ($\times 10^{12}$)	Лейкоциты ($\times 10^9$)	Гемоглобин, г%	Лейкоцитарная формула, %						
				Б	Э	нейтрофилы			Л	Мн
						Ю	П	С		
До введения (M \pm m)	7,5 \pm 0,2	11,2 \pm 0,8	14,2 \pm 0,3*	0	7,8 \pm 0,07	-	0,5 \pm 0,2	58,05 \pm 2,2	30,4 \pm 3,8	4,0 \pm 0,02
14 (M \pm m)	7,4 \pm 0,4	10,8 \pm 0,4*	13,4 \pm 0,4	0	8,0 \pm 0,02	-	0,2 \pm 0,2	55,4 \pm 3,1	32,8 \pm 2,4	2,8 \pm 0,04

*P \leq 0,05 относительно контроля

Таблица 29 - Результаты изучения влияния препарата «Гепасейф» в дозе 0,1 мл/кг на гематологические показатели кошек (n = 5)

Сроки исследования, дни	Эритроциты ($\times 10^{12}$)	Лейкоциты ($\times 10^9$)	Гемоглобин, г%	Лейкоцитарная формула, %						
				Б	Э	нейтрофилы			Л	Мн
						Ю	П	С		
До введения (M \pm m)	6,2 \pm 0,3	13,1 \pm 0,7*	13,0 \pm 0,2	0	7,2 \pm 0,2	-	0,8 \pm 0,02	56,0 \pm 2,8	32,9 \pm 4,8	3,0 \pm 0,02
1 (M \pm m)	6,4 \pm 0,2	12,8 \pm 0,5	12,9 \pm 0,1	0	7,14 \pm 0,4	-	0,2 \pm 0,07	50,1 \pm 4,12	30,8 \pm 2,9	3,8 \pm 0,2
14 (M \pm m)	6,4 \pm 0,3*	13,1 \pm 0,7	13,0 \pm 0,2	0	7,2 \pm 0,1	-	0,4 \pm 0,06	48,8 \pm 2,2	39,6 \pm 2,6	3,6 \pm 0,03

*P \leq 0,05 относительно контроля

Таблица 30 - Результаты изучения влияния препарата «Гепасейф» в дозе 0,5 мл/кг на гематологические показатели кошек (n = 5)

Сроки исследования, дни	Эритроциты ($\times 10^{12}$)	Лейкоциты ($\times 10^9$)	Гемоглобин г%	Лейкоцитарная формула, %						
				Б	Э	нейтрофилы			Л	Мн
						Ю	П	С		
До введения (M \pm m)	7,0 \pm 0,1*	12,5 \pm 0,1	13,8 \pm 0,2	0	7,9 \pm 0,4	-	0,4 \pm 0,04	57,8 \pm 2,09	30,3 \pm 2,8	3,6 \pm 0,03
14 (M \pm m)	7,2 \pm 0,2	12,8 \pm 0,2*	12,9 \pm 0,2	0	7,7 \pm 0,2	-	0,6 \pm 0,09	57,1 \pm 2,2	31,3 \pm 2,3	3,3 \pm 0,34

*P \leq 0,05 относительно контроля

Таблица 31 - Результаты гематологического изучения влияния препарата «Гепасейф» в дозе 0,3 мл/кг массы на гематологические показатели организма кошек (n = 5)

Сроки исследования, дни	Эритроциты ($\times 10^{12}$)	Лейкоциты ($\times 10^9$)	Гемоглобин, г%	Лейкоцитарная формула, %						
				Б	Э	нейтрофилы			Л	Мн
						Ю	П	С		
До введения (M \pm m)	7,4 \pm 0,3*	12,2 \pm 0,4	12,8 \pm 0,4	0	7,3 \pm 0,5	-	0,3 \pm 0,04	59,3 \pm 4,15	29,4 \pm 3,1	3,8 \pm 0,02
14 (M \pm m)	7,0 \pm 0,1*	12,6 \pm 0,21	13,1 \pm 0,3	0	7,2 \pm 0,4	-	0,8 \pm 0,01	50,0 \pm 2,9	30,6 \pm 2,05	3,0 \pm 0,04

*P \leq 0,05 относительно контроля

Таким образом, «Гепасейф» в терапевтической дозе, а также в 3 и 5 раз увеличенной терапевтической дозе, введенной в течение 14 дней не оказывают отрицательного влияния на клиническое состояние кошек, гематологические и биохимические показатели их крови.

3.1.6 Изучение фармакокинетических параметров препарата «Гепасейф»

Изучение фармакокинетики на кошках. Перед исследованием кошек делили на две группы – первой группе (6 голов) внутримышечно вводили разработанный инъекционный препарат силимарина («Гепасейф») в дозе 20 мг/кг массы, второй группе (6 голов) орально давался препарат «Карсил» в дозе 20 мг/кг массы. Кровь для исследования бралась через 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 24, 48 часов после введения препаратов.

Для исследования кинетики силимарина применялась дозировка 20 мг/кг, так как при использовании рекомендуемой терапевтической дозы, чувствительности прибора ВЭЖХ с УФ детектором (Стайер Аквилон) недостаточно. (Приложение 1,2,3)

В результате проведенных исследований нами были получены следующие результаты.

При проведении фармакокинетических исследований на кошках было установлено, что разработанный инъекционный препарат силимарина (препарат «Гепасейф») по сравнению с оральной формой силимарина (препарат «Карсил») при однократном применении более интенсивно всасывается в кровь ($C_{max} = 0,126$ мг/мл). Так же установлено, что разработанный инъекционный препарат более длительное время находится в крови ($T_{1/2} = 2$ ч.), а максимальное время нахождения в крови при дозе 20 мг/кг составило в течение 48 часов (рисунок 1; таблица 32).

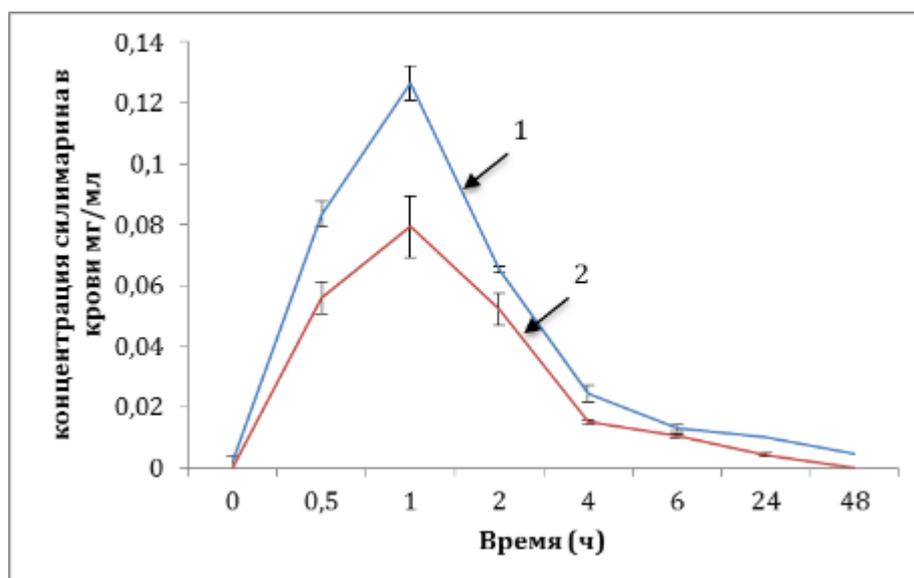


Рисунок 1. Динамика изменения силимарина в сыворотке крови кошек при внутримышечном (1) и оральном (2) введении.

Таблица 32 - Фармакокинетические параметры силимарина в сыворотке крови кошек опытной и контрольной группы

Фармакокинетические параметры	Опытная группа	Контрольная группа
Доза (D) (мг)	72	72
Максимальная концентрация в плазме (C _{max}) (мг/мл)	0,126	0,08
T _{1/2} (ч.)	2	1,5
Объем распределения V _d (л, л/кг)	571	900
Клиренс Cl (мл/мин; л/ч)	199,8	420

Изучение фармакокинетики на собаках. Фармакокинетические исследования проводили на собаках по той же схеме, что и исследование кошек.

В результате проведенных исследований нами были получены следующие результаты.

При проведении фармакокинетических исследований оральной и инъекционной формы силимарина (препарат «Гепасейф») на собаках было установлено, что разработанный инъекционный препарат по сравнению с

оральной формой силимарина (препарат «Карсил») при однократном применении более интенсивно всасывается в кровь ($C_{max} = 0,7$ мг/мл). Более длительное время находится в крови ($T_{1/2} = 2$ ч.) Максимальное время нахождения в крови при дозе 200 мг/кг - в течение 48 часов (рисунок 2; таблица 33).

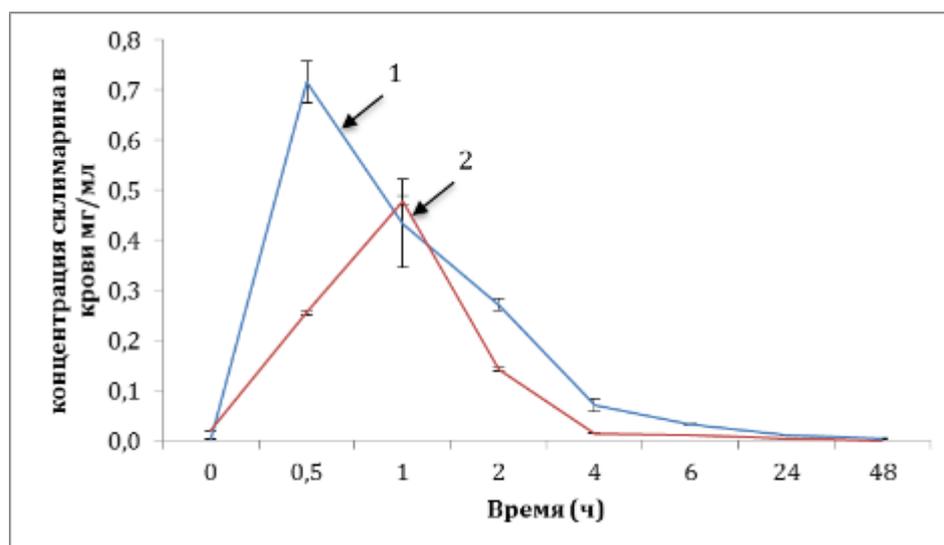


Рисунок 2. Динамика изменения силимарина в сыворотке крови собак при внутримышечном (1) и оральном (2) введении.

Таблица 33 - Фармакокинетические параметры силимарина в сыворотке крови собак опытной и контрольной группы.

Фармакокинетические параметры	Опытная группа	Контрольная группа
Доза (D) (мг)	200	200
Максимальная концентрация в плазме (C_{max}) (мг/мл)	0,71	0,48
$T_{1/2}$ (ч.)	2	1
Объем распределения V_d (л, л/кг)	285,7	416,7
Клиренс Cl (мл/мин; л/ч)	428,5	833,4

Сравнивая полученные данные по фармакокинетике препаратов на основе силимарина при оральном и внутримышечном применении на исследованных видах животных, следует отметить, что при введении разработанного инъекционного препарата «Гепасейф» по сравнению с оральной формой силимарина (препарат «Карсил») наблюдалась более

высокая концентрация активного вещества в сыворотке (до 1,4 раза), а также увеличение периода полувыведения в два раза, что является результатом высокой биологической доступности исследуемой лекарственной формы. Кроме того данные результаты свидетельствуют о возможности снижения дозировки и кратности введения лекарственного вещества. Данные фармакокинетические параметры силимарина в сыворотке крови собак разработанного инъекционного препарата обусловлены также и специфическим распределением коллоидных растворов лекарственных веществ во внутренних органах.

3.2 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ГЕПАСЕЙФ»

Целью данного исследования являлось сравнительное доклиническое изучение активности нового препарата «Гепасейф» и препарата «Карсил» при экспериментальном поражении печени, вызванном введением токсических доз парацетамола.

Определение гепатопротекторного действия препарата «Гепасейф» проводили в сравнении с лекарственным средством «Карсил», выпускаемым фармацевтической промышленностью, содержащим силимарин в оральной форме. Для этого по методу аналогов было сформировано 3 группы животных (самцы белых мышей) по 10 голов в каждой.

Животные всех групп получали препарат парацетамол, обладающий гепатотоксическим действием. Гепатотоксин вводили мышам самцам 1 раз в день в дозе 500 мг/кг массы тела в течение 5 дней, до наступления клинических симптомов интоксикации. С 6 дня эксперимента животным опытных групп в течение 14 дней вводили гепатопротекторные препараты. Животные 1 группы (контроль) гепатопротекторных препаратов не получали. Животным 2 группы внутримышечно вводили препарат «Гепасейф» из расчета 5 мг/кг массы тела (по действующему веществу). Животным 3

группы вводили гепатопротекторный препарат «Карсил» per os из расчета 5 мг/кг массы тела (по действующему веществу). На всем протяжении опыта за животными вели клинические наблюдения, регистрировали гибель мышей.

Мышей выводили из опыта на 19-й день путем декапитации, осуществляли забор крови, при вскрытии извлекали внутренние органы для взвешивания и последующего патоморфологического исследования. Подробная схема опыта приведена в приложении 4.

В период всего опыта вели наблюдение за состоянием и поведением животных, динамикой роста массы тела. По завершению эксперимента проводили исследования по оценке функционального состояния печени, почек и изучали влияние препарата на гематологические показатели.

В ходе исследований установлено, что у животных на 5 сутки после применения парацетамола развивались клинические симптомы интоксикации, которые выражались в гиподинамии и угнетении животных. Волосяной покров матовый, взъерошен, животные лежат, слизистые оболочки и кожные покровы бледные с желтоватым оттенком, аппетит снижен.

На 4е сутки после начала терапевтических мероприятий во второй опытной группе животных, которым назначали препарат «Гепасейф», отмечали улучшение общего состояния. Мыши принимали корм, совершали активные движения, активно реагировали на внешние раздражители.

В третьей опытной группе улучшение общего состояния животных отмечали только на 8 сутки. У животных контрольной группы положительной динамики не наблюдали.

На 10 сутки после назначения препарата «Гепасейф» у животных 2 опытной группы клинических симптомов интоксикации не отмечалось, вместе с этим у большинства животных третьей опытной группы отмечалась незначительная гиподинамия, взъерошенность волосяного покрова. Симптомы интоксикации у мышей данной группы исчезали только на 14 сутки после начала терапии.

В контрольной группе животных отмечалась гибель мышей. Два животных пали через 8 суток после начала эксперимента, три через 10 суток и два животных через 14 дней.

В результате проведения общего анализа крови установлено, что препараты «Гепасейф» и «Карсил» препятствуют развитию патологического процесса, вызванного введением гепатотоксина, об этом свидетельствуют нормальные величины общего количества лейкоцитов в периферической крови, в отличие от контрольных животных, у которых отмечается ярко выраженный лейкоцитоз. Как показали наши результаты, увеличение лейкоцитов происходит в основном из-за гранулоцитов, отвечающих за неспецифический иммунитет (таблица 34).

Таблица 34 – Результаты общего анализа крови мышей

Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3
WBC	x10 ⁹ /L	9,70±3,26	5,48±1,68*	6,75±2,05*
LYM	x10 ⁹ /L	5,18±1,86	3,83±1,19	4,48±2,16
MID	x10 ⁹ /L	2,38±0,91	1,03±0,29	1,55±0,52
GRA	x10 ⁹ /L	2,15±1,63	0,63±0,25*	0,73±0,33*
LYM	%	54,55±13,44	69,80±2,06	63,90±14,09
MID	%	24,25±1,62	18,78±1,13	24,15±9,32
GRA	%	21,20±13,06	11,43±1,59*	11,95±5,21*
RBC	x10 ¹² /L	4,5±1,14	9,12±0,52*	8,89±0,51*
HGB	g/L	77±4,01	138,5±3,87	118,0±5,60
MCHC	g/L	427,8±22,38	304,25±3,77	315,75±12,97
MCH	Pg	17,1±1,57	15,23±0,49	13,30±0,36
MCV	fl	39,9±6,76	49,98±1,90	42,13±1,65
RDW-CV	%	18,3±4,50	17,35±1,34	16,60±3,01
RDW-SD	fl	36,5±6,61	43,33±3,75	34,78±4,86
HCT	%	18±4,50	45,53±1,58*	37,43±2,77*
PLT	x10 ⁹ /L	1278,25±342,51	988,75±152,77	1076,75±329,49
MPV	fl	5,25±0,06	5,55±0,25	5,20±0,34
PDW	fl	6,33±0,50	5,80±0,63	6,75±1,17
PCT	%	0,67±0,18	0,55±0,09	0,55±0,15
P-LCR	%	3,33±1,16	8,05±3,31*	2,18±0,38

*P≤0,05 относительно контроля

Кроме того, как видно из таблицы 35, токсин оказывает отрицательное влияние на систему эритропоэза, о чем свидетельствуют, достоверно низкие

показатели количества эритроцитов, гемоглобина и как следствие гематокритной величины по сравнению с опытной группой и положительным контролем. Однако данный показатель не выходит за пределы физиологических значений.

В ходе биохимического исследования крови установлено достоверное увеличение индикаторных ферментов печени, таких как аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза в контрольной группе мышей, что свидетельствует о цитолитическом влиянии токсиканта на гепатоциты. Вместе с этим у животных второй и третьей опытных групп которым вводили препараты «Гепасейф» и «Карсил» в терапевтической дозе, данные показатели были значительно ниже.

Наряду с этим отмечается достоверное увеличение активности щелочной фосфатазы у мышей контрольной группы, тогда как у опытных животных данный показатель находится в пределах физиологической нормы. В частности, у животных, которые получали препарат «Гепасейф», показатели щелочной фосфатазы почти в 2 раза ниже, чем в контроле. Учитывая тот факт, что повышение данного показателя свидетельствует о холестазае, вследствие чего он поступает в кровь в больших количествах, то можно утверждать, что препарат «Гепасейф» стимулирует желчевыделение и препятствует холестазу.

Наряду с этим, как видно из таблицы 35, у животных контрольной группы отмечается снижение количества общего белка более чем в 1,5 раза по сравнению с животными опытных групп. Исходя из этого, можно предположить о нарушении белковообразовательной функции печени и снижении конверсии питательных веществ корма у животных контрольной группы. Вместе с этим у мышей второй опытной группы данный показатель находится в пределах физиологических значений, что указывает на положительное влияние препарата «Гепасейф» на белковый метаболизм в организме животных. Данный факт свидетельствует о высокой гепатопротекторной активности препарата «Гепасейф».

Таблица 35 – Биохимические показатели крови мышей

Показатели	Ед. изм.	1 группа	2 группа	3 группа
АлАТ	Е\л	108,0±3,5	69,7±3,06*	71,4±2,21*
АсАТ	Е\л	99,0±2,0	71,7±1,15	76,02±2,01*
АсАТ/АлАТ		0,9±0,01	1,0±0,05	1,06±0,02
Щелочная фосфатаза	Е\л	502,0±6,1	290,7±62,50	287,6±12,4
Глюкоза	ммоль/л	10,1±0,6	8,1±1,59	7,9±0,98
Белок общий	г/л	44,6±4,7	71,8±3,14*	69,4±2,87*
Альбумин	г/л	21,6±3,1	24,6±0,49	24,3±1,12
Глобулин	г/л	23,0±2,0	47,2±3,05*	45,1±1,34*
А/Г		0,9±0,1	0,5±0,03	0,5±0,01
Мочевина	ммоль/л	6,4±1,9	6,9±0,31	6,7±0,87
Креатинин	мкмоль/л	219,0±10,4	195,0±51,92	201,2±34,5
Холестерин	ммоль/л	2,0±1,0	2,0±0,002	2,0±0,003

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

Определение массы внутренних органов животных показало отсутствие каких-либо отклонений от физиологической нормы у всех групп животных (Таблица 36).

Таблица 36 – Живая масса и масса органов животных

Показатель	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Живая масса	г	27,72±5,30	16,76±1,36	27,22±3,24
Печень	г	1,56±0,245	0,99±0,16	1,42±0,20
	%, от живой массы	5,71±1,07	5,92±0,99	5,26±1,06
Почки	г	0,425±0,05	0,225±0,04	0,39±0,06
	%, от живой массы	1,54±0,07	1,34±0,19	1,46±0,31
Сердце	г	0,12±0,015	0,095±0,02	0,13±0,01
	%, от живой массы	0,43±0,03	0,58±0,16	0,47±0,07
Селезенка	г	0,28±0,09	0,087±0,03	0,29±0,15
	%, от живой массы	1,07±0,44	0,53±0,19	1,11±0,64

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

В результате проведенных исследований установлена 100% эффективность препарата «Гепасейф» в суточной дозе 5 мг/кг при лечении парацетамольного токсического гепатита. У животных второй опытной группы на 4 день после введения препарата наблюдалось улучшение общего состояния, повышение аппетита. На 7 день общие физиологические показатели приближались до уровня нормы. Выздоровление наступало через

10±0,2 дней. Побочные действия препарата на организм животных не отмечались.

У животных 3 опытной группы, получающих препарат «Карсил» выздоровление наступало только на 14 день после начала лечения, 2 животных пало. В контрольной группе к концу эксперимента была зарегистрирована гибель 7 животных (Таблица 37).

Таблица 37 - Терапевтическая эффективность применения препаратов «Гепасейф» и «Карсил» при лечении парацетамольного гепатита.

Группа животных	Препарат	Дозировка, кратность применения	Терапевтический эффект		Сроки выздоровления (сутки)
			n	%	
Группа 1 (контроль) n = 10	-	-	3	30,0	24 ±0,03
Группа 2 (опытная) n = 10	«Гепасейф»	5 мг/кг 1 р/д	10	100,0	10±0,02
Группа 3 (опытная) n = 10	«Карсил»	5 мг/кг 1 р/д	8	80,0	14±0,03

На основании проведённых гистологических исследований было установлено, что изменения в печени животных из 2 опытной группы, получавших в течение 14 дней препарат «Гепасейф», сопровождались незначительным количественным превышением содержания эритроцитов в крупных и мелких кровеносных сосудах, при этом структура ткани хорошо выражена, балочная структура и тинкториальные свойства сохранены (рисунок 3).

Патоморфологические изменения в печени животных из 3 опытной группы, получавших в течение 14 дней препарат «Карсил», характеризуются умеренно выраженной гиперемией кровеносных сосудов, незначительным нарушением балочной структуры ткани, ослаблением тинкториальных свойств и наличием очагов зернистой дистрофии периваскулярной локализации (рисунок 4).

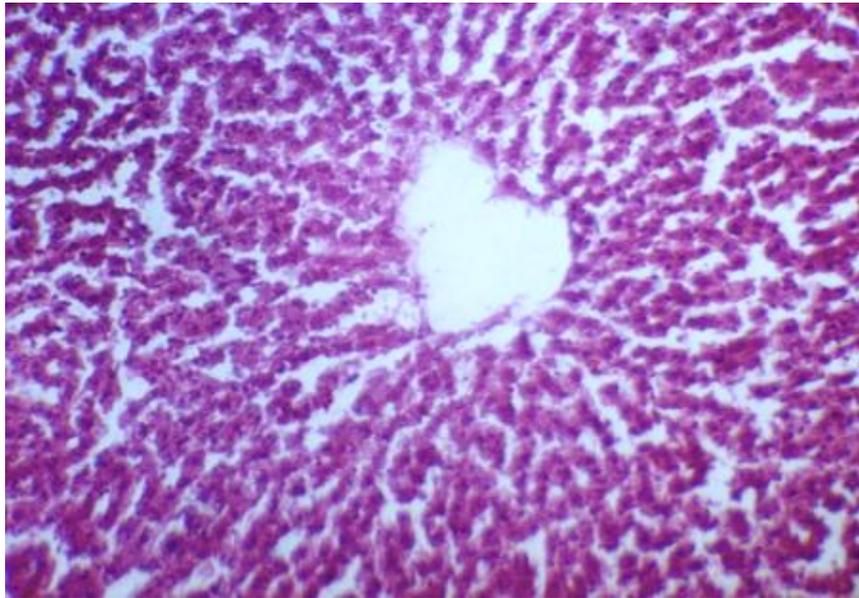


Рисунок 3. Печень животного 2 группы, которому вводили препарат «Гепасейф». ГЭ x 150.

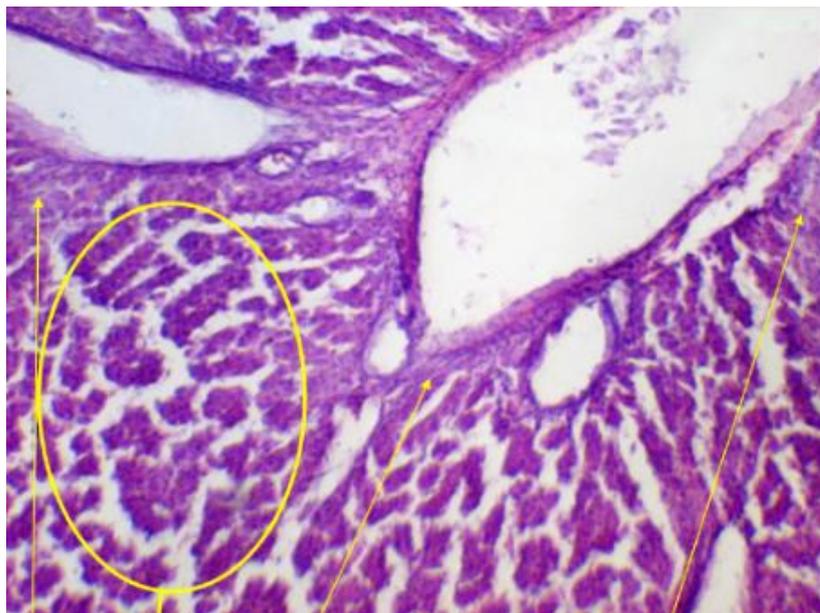


Рисунок 4. Печень животного 3 группы, которому вводили препарат «Карсил». ГЭ x 150

Патоморфологические изменения в печени животных из контрольной группы, не получавших гепатопротекторных препаратов, характеризуются диффузной зернистой дистрофией, нарушением балочной структуры и тинкториальных свойств (рисунок 5).

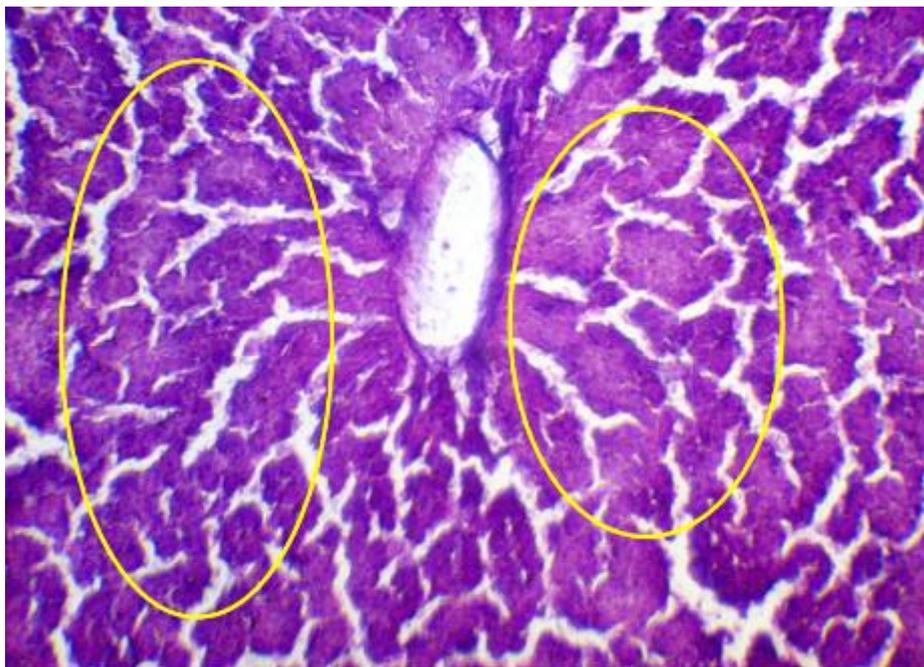


Рисунок 5. Печень животного 1 группы, не получавшего гепатопротекторных препаратов. ГЭ x 150

Таким образом, в результате введения парацетамола 1 раз в день в дозе 500 мг/кг массы тела в течение 5 дней у мышей развивается повреждение печени, сопровождающееся повышением активности индикаторных ферментов и дистрофическими изменениями печеночной ткани с нарушением балочной структуры и тинкториальных свойств.

По данным морфологического анализа срезов ткани печени, только один из изученных препаратов, а именно «Гепасейф», оказал чётко выраженный эффект снижения структурных нарушений печени, вызванных гепатотоксином. Максимальный гепатопротекторный эффект, оказывающий четко выраженный эффект снижения структурных нарушений печени, отмечен при использовании в течение 14 дней препарата «Гепасейф» из расчета 5 мг/кг массы тела.

Существенно менее значимые результаты гепато-протекторного действия получены на фоне введения препарата «Карсил», слабо влияющего на процессы поражения печени, вызванные развитием токсического гепатита.

3.3 КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТА «ГЕПАСЕЙФ»

3.3.1 Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении кошек с хроническим гепатитом

Исследование препарата «Гепасейф» проводили на кошках, поступающих в клинику с признаками поражения печени.

В основном, это были животные в возрасте от 8 до 15 лет, домашнего содержания, рацион которых состоял преимущественно из пищи со стола 80% и готовых рационов для животных (влажных и сухих кормов) – 20%. У животных в большинстве случаев наблюдали анорексию, частые или периодические позывы к рвоте, в ряде случаев сильное выпадение волос, расчесы в области корня хвоста и холки, дегидратацию, иктеричность слизистых оболочек.

При проведении биохимических исследований и УЗИ диагностики у животных были выявлены явные нарушения в структуре и работе клеток печени.

Окончательный диагноз на основании проведённых исследований: хронический гепатит, в стадии обострения.

Затем животные делились на две группы, опытную и контрольную, по 10 кошек в каждой.

Лечение контрольной группы кошек проводили по следующей схеме:

1. Глюкоза 5 % по 50,0 мл в/в капельно 1 раз в день 5 дней.
2. Цианокобаламин по 500 мкг в/м 1 раз в 2 дня 6 инъекций.
3. Преднизолон по 0,3 мл в/м 2 раза в день 3 дня, по 0,1 мл в/м 2 раза в день 3 дня.
4. Эссенциале Форте Н по 1,5 мл в/в 1 раз в день 5 дней, по ½ капсулы 2 раза в день 10 дней.
5. «Гепатовет» по 2 мл, орально, 2 раза в день - 15 дней.
6. Дротаверин 0,5 мл в/м 2 раза в день – 5 дней.

7. Низкобелковая диета.

Лечение опытной группы кошек проводили по аналогичной схеме, но препарат «Гепатовет» заменили на исследуемый препарат «Гепасейф» по 0,5 мл в/м 1 раз в день 10 дней. Подробные данные приведены в приложении 5,6.

При проведении лечения в контрольной группе выраженное улучшение состояния у 8 животных наступало через 7 - 9 дней, у 2 животных через 11 дней. При проведении лечения препаратом «Гепасейф» видимое улучшение клинического состояния у 9 животных наблюдалось уже через 5 дней.

Эффективность препарата «Гепасейф» также была подтверждена ультразвуковым исследованием. При обследовании животных с хроническим гепатитом, ультразвуковое исследование показало, что печень незначительно выступает из-за края рёберной дуги. Капсула утолщена, край печени закруглён. Паренхима значительно повышенной эхогенности. Структура мелкозернистая, неоднородная. Сосудистый рисунок выражен слабо. Печёночные вены не расширены (рисунок 6).



Рисунок 6. Эхограмма хронического гепатита у кота (до лечения)



Рисунок 7. Эхограмма хронического гепатита у кота (после лечения)

При повторном исследовании, через 15 дней, с начала терапии было выявлено, что печень несколько выступает из-за края рёберной дуги. Капсула незначительно утолщена. Паренхима повышенной эхогенности. Структура мелкозернистая. Сосудистый рисунок выражен умеренно. Печёночные вены не расширены (рисунок 7).

В таблицах 38, 39, 40, 41 приведены данные по гематологическим показателям крови кошек контрольной и опытной групп.

Таблица 38 - Общий анализ крови кошек контрольной группы (препарат «Гепатовет»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
WBC	$\times 10^9/L$	21,23 \pm 1,36	20,53 \pm 2,58	17,73 \pm 1,38	17,67 \pm 3,02*
LYM	$\times 10^9/L$	0,93 \pm 0,25	0,73 \pm 0,15	0,80 \pm 0,36	1,15 \pm 0,88
MID	$\times 10^9/L$	1,23 \pm 0,15	1,17 \pm 0,06	1,67 \pm 0,57	2,13 \pm 0,83
GRA	$\times 10^9/L$	19,07 \pm 1,45	18,63 \pm 2,64	15,27 \pm 2,05	14,39 \pm 1,65*
LYM	%	4,41 \pm 1,20	3,64 \pm 1,09	4,62 \pm 2,35	6,21 \pm 4,09
MID	%	5,83 \pm 0,79	5,74 \pm 0,71	9,51 \pm 3,72	11,72 \pm 3,12*
GRA	%	89,76 \pm 1,99	90,63 \pm 1,78	85,88 \pm 5,93	82,07 \pm 5,56
RBC	$\times 10^{12}/L$	3,00 \pm 0,53	3,42 \pm 0,67	4,71 \pm 0,88	4,78 \pm 0,30

Продолжение таблицы 38					
HGB	g/L	145,67±3,51	148,00±1,00	145,00±6,56	119,00±8,19
MCHC	g/L	622,95±114,61	598,06±44,18	490,95±18,80	402,21±19,16*
MCH	Pg	49,64±8,66	44,47±9,18	31,29±4,08	24,99±2,44
MCV	Fl	43,07±3,18	40,50±0,78	40,50±0,78	40,50±0,78
RDW-CV	%	10,43±6,92	16,30±0,62	16,30±0,62	16,30±0,62
RDW-SD	Fl	21,80±7,45	33,03±1,64	33,03±1,64	33,03±1,64
HCT	%	23,93±4,48	24,83±1,76	29,53±0,60	29,57±0,65
PLT	x10 ⁹ /L	454,67±15,04	435,33±19,35	435,33±19,35	435,33±19,35
MPV	Fl	5,27±0,23	5,40±0,35	5,40±0,35	5,40±0,35
PDW	Fl	8,43±1,72	6,37±0,38	6,37±0,38	6,37±0,38
PCT	%	4,02±3,28	0,34±0,03	0,34±0,03	0,34±0,03
P-LCR	%	4,00±3,48	4,20±3,72	4,20±3,72	4,20±3,72

*P≤0,05 относительно контроля

Можно отметить, что у всех животных нами наблюдалась сходная картина изменений в процессе проведенного лечения повышенное количество лейкоцитов с показателями 23,6±2,98 x10⁹/L вошло в пределы нормы – 13,33±2,98 x10⁹/L, количество эритроцитов возросло с 3,22±0,46 x10¹²/L до 6,56±0,43 x10¹²/L, что также является нормой.

Таблица 39 - Общий анализ крови кошек опытной группы (препарат «Гепасейф»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
WBC	x10 ⁹ /L	23,60±2,98	21,57±2,44	17,33±0,81	13,33±3,78*
LYM	x10 ⁹ /L	0,70±0,17	1,26±1,52	0,73±0,12	0,80±0,36
MID	x10 ⁹ /L	1,60±0,46	1,53±1,19	1,17±0,32	1,57±0,64
GRA	x10 ⁹ /L	21,30±3,44	18,77±5,08	15,43±0,96*	10,97±3,19*
LYM	%	3,02±0,95	6,46±8,27	4,22±0,48	6,12±2,26
MID	%	7,01±2,82	7,60±6,80	6,78±2,09	11,78±2,91*
GRA	%	89,97±3,37	85,94±15,07	89,00±1,79	82,10±5,14

Продолжение таблицы 39					
RBC	x10 ^{12/L}	3,22±0,43	3,27±0,42	8,13±1,36	6,56±0,46
HGB	g/L	124,67±5,13	122,67±2,89	118,67±12,22	137,33±3,79
MCHC	g/L	460,90±47,68	492,85±28,54	341,40±19,89	396,25±19,43
MCH	Pg	39,12±4,14	37,93±4,58	14,75±1,62	21,00±1,70
MCV	Fl	43,07±3,18	40,50±0,78	40,50±0,78	40,50±0,78
RDW-CV	%	10,43±6,92	16,30±0,62	16,30±0,62	16,30±0,62
RDW-SD	Fl	21,67±12,64	33,03±1,64	33,03±1,64	33,03±1,64
HCT	%	27,17±1,72	24,93±1,23	34,70±1,55	34,70±1,55
PLT	x10 ^{9/L}	454,67±15,04	435,33±19,35	435,33±19,35	435,33±19,35
MPV	Fl	5,27±0,23	5,40±0,35	5,40±0,35	5,40±0,35
PDW	Fl	8,43±1,72	6,37±0,38	6,37±0,38	6,37±0,38
PCT	%	4,02±3,28	0,34±0,03	0,34±0,03	0,34±0,03
P-LCR	%	4,00±3,48	4,20±3,72	4,20±3,72	4,20±3,72

*P≤0,05 относительно контроля

Таблица 40 - Биохимические показатели крови кошек контрольной группы (препарат «Гепатовет»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
АлАТ	Е/л	430,3±16,3	317,3±85,69	380,7±140,8*	396,0±79,00*
АсАТ	Е/л	89,7±6,4	143,3±16,29	109,3±11,50*	83,3±5,13
АсАТ/АлАТ		0,21±0,02	0,47±0,12	0,33±0,17	0,2±0,04
Биллирубин общ.	Мкмоль/л	38,0±6,0	45,7±4,73	34,3±2,52	19,3±2,08*
Биллирубин прям.	Мкмоль/л	22,7±6,0	12,0±2,65	5,7±1,53*	2,7±0,58*
Глюкоза	Ммоль/л	5,8±1,2	4,6±1,29	4,8±1,32	5,3±1,25
Щелочная фосфатаза	Е/л	78,7±1,5	80,7±1,53	79,7±5,03	86,3±2,52
Триглицериды	Ммоль/л	1,0±0,1	1,2±0,08	1,3±0,08	0,9±0,06
Белок общ.	г/л	53,0±1,2	55,6±4,80	54,0±5,82	62,5±7,20
Альбумин	г/л	24,7±1,1	24,9±3,52	24,6±1,06	25,4±1,31
Глобулин	г/л	28,3±2,2	30,7±1,31	29,4±4,90	37,1±7,48

*P≤0,05 относительно контроля

Таблица 41 - Биохимические показатели крови опытной группы кошек (препарат «Гепасейф»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
АлАТ	Е/л	408,2±17,2	401,2±17,60	228,8±14,31*	214,0±15,87
АсАТ	Е/л	93,2±8,7	152,8±22,38	107,4±9,71*	105,2±9,93
АсАТ/АлАТ		0,23±0,02	0,38±0,07	0,47±0,06	0,49±0,03
Биллирубин общ.	Мкмоль/л	43,2±8,6	43,8±4,44	34,4±1,82*	33,8±2,05
Биллирубин прям.	Мкмоль/л	21,8±4,8	13,2±2,59	6,2±1,92	6,8±1,92
Глюкоза	Ммоль/л	5,9±0,9	4,5±0,98	17,5±28,27	5,0±1,00*
Щелочная фосфатаза	Е/л	77,0±2,7	84,2±5,26	84,2±8,70	81,0±4,06
Триглицериды	Ммоль/л	0,9±0,1	1,2±0,08	1,2±0,09	1,2±0,07
Белок общ.	г/л	52,7±1,0	55,3±3,66	55,2±4,65	56,0±5,77
Альбумин	г/л	23,9±1,3	25,0±3,04	24,9±0,92	24,9±0,92
Глобулин	г/л	28,8±1,8	30,2±3,21	30,3±4,05	31,1±5,30

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

Анализируя результаты проведённых исследований, можно констатировать следующее: препарат «Гепасейф» показал большую терапевтическую эффективность. В частности - видимое улучшение клинического состояния у большинства животных наблюдалось уже через 4-5 дней (при сравнении с препаратом «Гепатовет» - улучшение состояния у большинства животных наступало через 7 - 10 дней).

Таблица 42 - Эффективность проводимых терапевтических мероприятий

Группа	Количество животных	Количество выживших животных	% Выживших	% Летальности
Контроль	10	9	90	10
Опыт	10	10	100	0

Как видно из данных приведённых в таблице 42, эффективность проводимых терапевтических мероприятий в опытной группе составила 100%, а в контрольной 90%.

Необходимо отметить не только отсутствие летальных исходов, но и сокращение длительности проводимой терапии в опытной группе по сравнению с контрольной, более надежный и удобный способ введения препарата «Гепасейф», вводимого внутримышечно в отличие от препарата «Гепатовет», который в виде суспензии задавали животным внутрь.

Кроме того, достаточно высокая терапевтическая эффективность препарата «Гепасейф», хорошо проиллюстрирована в динамике биохимических показателей и результатов УЗИ проведённых до и после лечения.

3.3.2 Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении собак с острым бабезиозным гепатитом

Исследование препарата «Гепасейф» проводили на собаках с диагнозом бабезиоз (возбудитель *Babesia canis*), у которых при дальнейшем исследовании были выявлены явные нарушения в структуре и работе клеток печени – острый бабезиозный (вторичный) гепатит.

В основном это были животные в возрасте от 1 до 6 лет. На момент обращения в клинику симптомы заболевания проявлялись от 3 до 5 дней. Заболевание проявлялось вялостью, отказом от корма, повышенной температурой тела, на 4-5 день моча темно-бурого цвета, у некоторых собак наблюдались шаткость таза, рвота, понос.

Постановка диагноза бабезиоз проводилась на основании лабораторного исследования мазка крови, на наличии *B. canis*. Кроме того, были проведены общий и биохимический анализ крови.

Окончательный диагноз на основании проведённых исследований – бабезиоз, гепатит.

Затем животные делились на 2 группы, опытную и контрольную по 10 собак в каждой, назначалось соответствующее лечение.

Лечение контрольной группы собак проводили по следующей схеме:

1. Пиро-стоп п/к однократно
2. Эссенциале Форте Н в/в 1 раз в день 5 дней
3. Рибоксин в/в 1 раз в день 5 дней
4. Глюкоза 40 % в/в 1 раз в день 5 дней
5. Аскорбиновая кислота в/в 1 раз в день 5 дней
6. Гепатовет орально, 2 раза в день - 15 дней
7. Метилурацил внутрь 2 раза в день 14 дней

Лечение опытной группы собак проводили по аналогичной схеме, но препарат «Гепатовет» заменили на исследуемый препарат «Гепасейф» из расчета 0,1 мл/кг массы тела, в/м 1 раз в день 7 дней. Подробные данные приведены в приложении 7, 8.

Дозировка препаратов рассчитывалась по весу собак индивидуально для каждой.

При проведении лечения контрольной группы выраженное улучшение состояния у трех животных наступало через 5 дней у одного животного через 7 дней. При проведении лечения опытной группы, исследуемый препарат назначался на 7 дней, хотя видимое улучшение клинического состояния у 4 животных наблюдалось уже через 2 дня.

Характеристика состояния печени в результате ультразвукового исследования при диагностике острого гепатита показало следующую картину. До лечения наблюдали увеличение печени, она выступает из-за края реберной дуги. Край заострен, капсула гиперэхогенная (рисунок 8). Паренхима пониженной эхогенности. Структура однородная, мелкозернистая. Сосудистый рисунок выражен. Печеночные вены расширены (9-13 мм).

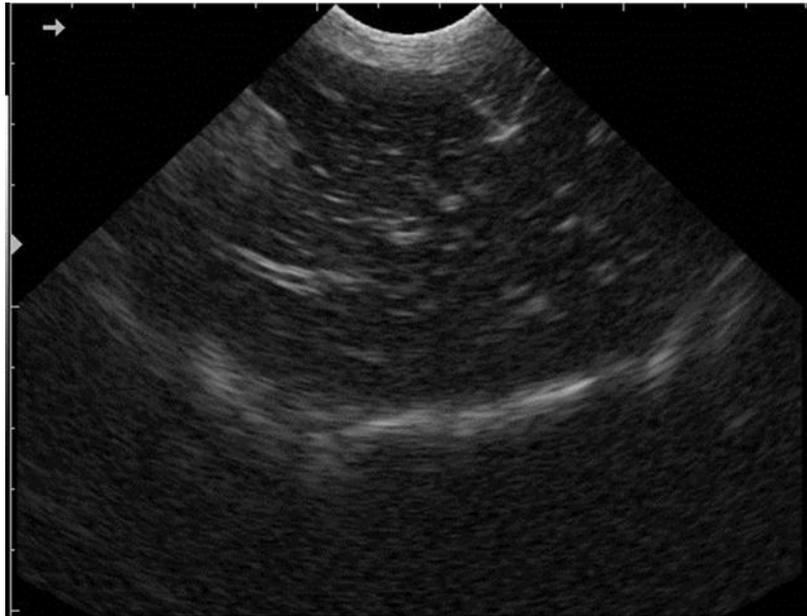


Рисунок 8. Эхограмма острого гепатита у собаки (до лечения).

При повторном исследовании, через 15 дней, после проведенного лечения, у животных отмечали положительную динамику – уменьшение размеров печени, паренхима умеренной эхогенности, структура мелкозернистая, сосудистый рисунок выражен умеренно, печёночные вены не расширены (рисунок 9).



Рисунок 9. Эхограмма острого гепатита у собаки (после лечения)

В таблицах 43, 44, 45, 46 приведены данные по гематологическим показателям крови собак контрольной и опытной групп.

Таблица 43 - Общий анализ крови собак контрольной группы (препарат «Гепатовет»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
WBC	$\times 10^9/L$	21,77 \pm 1,90	19,13 \pm 4,00	16,50 \pm 0,56	16,23 \pm 0,99*
LYM	$\times 10^9/L$	1,90 \pm 1,15	0,73 \pm 0,15	0,80 \pm 0,36	1,15 \pm 0,88
MID	$\times 10^9/L$	2,23 \pm 1,06	1,17 \pm 0,06	1,67 \pm 0,57	2,13 \pm 0,83
GRA	$\times 10^9/L$	17,63 \pm 3,42	17,23 \pm 3,86	14,03 \pm 0,95	12,96 \pm 1,97*
LYM	%	8,91 \pm 5,94	3,86 \pm 0,53	4,86 \pm 2,18	7,04 \pm 5,18
MID	%	10,43 \pm 5,51	6,26 \pm 1,24	10,08 \pm 3,34	13,29 \pm 5,78
GRA	%	80,66 \pm 11,45	89,88 \pm 1,62	85,07 \pm 5,33	79,67 \pm 9,04
RBC	$\times 10^{12}/L$	3,13 \pm 0,40	3,35 \pm 0,70	4,28 \pm 0,49	5,24 \pm 0,54
HGB	g/L	108,67 \pm 12,22	108,33 \pm 6,81	113,67 \pm 10,79	122,67 \pm 11,37
MCHC	g/L	507,54 \pm 45,39	316,05 \pm 15,26	316,75 \pm 40,20	351,07 \pm 17,40*
MCH	Pg	38,42 \pm 7,12	36,79 \pm 10,51	26,64 \pm 1,35	23,69 \pm 4,34
MCV	Fl	43,00 \pm 4,63	41,60 \pm 1,56	43,90 \pm 3,67	41,60 \pm 2,36
RDW-CV	%	19,67 \pm 4,12	17,10 \pm 3,48	11,67 \pm 5,86	12,83 \pm 5,40
RDW-SD	Fl	41,90 \pm 7,52	35,33 \pm 5,80	25,03 \pm 10,40	26,27 \pm 10,11
HCT	%	23,37 \pm 0,55	37,53 \pm 3,39	36,00 \pm 1,73	34,90 \pm 1,87
PLT	$\times 10^9/L$	106,00 \pm 200,63	272,67 \pm 196,09	390,33 \pm 61,44	438,33 \pm 22,50
MPV	Fl	5,27 \pm 0,06	5,27 \pm 0,38	5,43 \pm 0,42	5,37 \pm 0,32
PDW	Fl	6,50 \pm 0,44	6,90 \pm 1,39	9,17 \pm 1,81	8,03 \pm 2,67
PCT	%	0,63 \pm 0,20	0,54 \pm 0,18	4,16 \pm 3,70	2,72 \pm 4,12
P-LCR	%	2,80 \pm 0,61	2,13 \pm 0,45	5,53 \pm 4,00	4,40 \pm 3,84

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

При поступлении в клинику на лечение у собак отмечена сходная картина: снижено число эритроцитов – 2,95 \pm 0,29 $\times 10^{12}/L$, лейкоцитоз 22,20 \pm 3,24 $\times 10^9/L$ со сдвигом влево и моноцитозом. В процессе проведенной терапии было отмечена постепенная нормализация показателей крови у обеих групп к 14 дню. Но в опытной группе реакция на лечение наступает раньше, уже к 7 дню лечения.

Таблица 44 - Общий анализ крови собак опытной группы (препарат «Гепасейф»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
WBC	$\times 10^9/L$	22,20 \pm 3,24	18,63 \pm 4,31	17,87 \pm 1,86	14,00 \pm 2,81*
LYM	$\times 10^9/L$	1,90 \pm 1,15	0,73 \pm 0,15	0,80 \pm 0,36	1,15 \pm 0,88
MID	$\times 10^9/L$	2,23 \pm 1,06	1,17 \pm 0,06	1,67 \pm 0,57	2,13 \pm 0,83
GRA	$\times 10^9/L$	18,07 \pm 4,68	16,73 \pm 4,14	15,40 \pm 2,52	10,73 \pm 2,80
LYM	%	8,88 \pm 5,42	3,96 \pm 0,39	4,56 \pm 2,33	7,87 \pm 4,71
MID	%	10,42 \pm 5,26	6,45 \pm 1,25	9,56 \pm 3,98	15,97 \pm 8,52*
GRA	%	80,70 \pm 10,66	89,60 \pm 1,53	85,88 \pm 6,14	76,17 \pm 10,61
RBC	$\times 10^{12}/L$	2,95 \pm 0,29	4,84 \pm 0,26	5,03 \pm 0,70	6,07 \pm 0,75
HGB	g/L	102,67 \pm 8,50	104,33 \pm 7,02	130,33 \pm 3,51	134,00 \pm 11,14
MCHC	g/L	550,26 \pm 80,03	536,46 \pm 101,23	367,89 \pm 29,36	323,05 \pm 22,28
MCH	Pg	45,36 \pm 6,81	25,72 \pm 1,64	26,18 \pm 3,07	22,17 \pm 1,07*
MCV	Fl	40,73 \pm 2,35	44,10 \pm 0,26	47,87 \pm 8,58	49,80 \pm 2,72
RDW-CV	%	20,23 \pm 1,89	15,60 \pm 0,85	18,00 \pm 3,78	15,77 \pm 0,84
RDW-SD	Fl	41,13 \pm 3,32	34,37 \pm 1,66	42,20 \pm 6,88	39,17 \pm 1,44
HCT	%	24,50 \pm 4,43	23,80 \pm 5,15	35,53 \pm 2,10	41,53 \pm 3,16
PLT	$\times 10^9/L$	109,00 \pm 253,69	271,00 \pm 84,07	368,33 \pm 27,50	334,00 \pm 224,61
MPV	Fl	8,83 \pm 5,09	5,53 \pm 0,21	5,27 \pm 0,06	9,27 \pm 4,20
PDW	Fl	12,57 \pm 6,15	7,07 \pm 1,12	6,53 \pm 0,64	10,43 \pm 8,29
PCT	%	0,84 \pm 0,91	0,32 \pm 0,03	0,65 \pm 0,31	1,20 \pm 0,78
P-LCR	%	27,57 \pm 38,08	5,83 \pm 1,17	3,63 \pm 1,10	33,40 \pm 30,41

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

Таблица 45 - Биохимические показатели крови собак контрольной группы (препарат «Гепатовет»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
АлАТ	Е/л	479,7±76,7	317,3±85,69	271,3±90,64	240,3±34,27*
АсАТ	Е/л	86,7±9,6	143,3±16,29	114,3±19,55	120,7±11,50
АсАТ/АлАТ		0,19±0,05	0,47±0,12	0,4±0,07	0,5±0,03
Биллирубин общ.	Мкмоль/л	42,3±3,8	45,7±4,73	36,7±6,43	37,7±4,04
Биллирубин прям.	Мкмоль/л	23,3±5,1	12,0±2,65	7,7±4,73*	9,0±4,36*
Глюкоза	Ммоль/л	5,3±0,9	4,6±1,29	4,7±1,37	5,5±1,09
Щелочная фосфатаза	Е/л	65,0±25,1	80,7±1,53	80,7±5,13	77,7±2,31
Триглицериды	Ммоль/л	1,0±0,1	1,2±0,08	1,3±0,02	1,2±0,08
Белок общ.	г/л	51,3±3,1	55,6±4,80	56,1±5,37	50,5±0,52
Альбумин	г/л	24,1±2,0	24,9±3,52	25,5±1,06	23,0±1,83
Глобулин	г/л	27,1±2,1	30,7±1,31	30,6±4,61	27,5±1,75

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

Таблица 46 - Биохимические показатели крови собак опытной группы (препарат «Гепасейф»)

Показатель	Ед. изм.	До лечения	Через 3 дня	Через 7 дней	Через 14 дней
АлАТ	Е/л	438,7±13,8	303,7±63,52	220,7±10,60*	141,3±3,79*
АсАТ	Е/л	89,7±6,4	143,3±16,29	109,3±11,50	83,3±5,13
АсАТ/АлАТ		0,20±0,02	0,49±0,13	0,50±0,04	0,6±0,04
Биллирубин общ.	Мкмоль/л	38,0±6,0	45,7±4,73	34,3±2,52	19,3±2,08*
Биллирубин прям.	Мкмоль/л	22,7±6,0	12,0±2,65*	5,7±1,53*	2,7±0,58*
Глюкоза	Ммоль/л	5,8±1,2	4,6±1,29	4,8±1,32	5,3±1,25
Щелочная фосфатаза	Е/л	78,7±1,5	80,7±1,53	79,7±5,03	86,3±2,52
Триглицериды	Ммоль/л	1,0±0,1	1,2±0,08	1,3±0,08	0,9±0,06
Белок общ.	г/л	53,0±1,2	55,6±4,80	54,0±5,82	62,5±7,20
Альбумин	г/л	24,7±1,1	24,9±3,52	24,6±1,06	25,4±1,31
Глобулин	г/л	28,3±2,2	30,7±1,31	29,4±4,90	37,1±7,48

* $P \leq 0,05$ относительно контроля

Анализируя результаты проведённых исследований, можно констатировать следующее: препарат «Гепасейф» показал большую терапевтическую эффективность по сравнению с препаратом сравнения «Гепатовет». Динамика нормализации биохимических показателей по печеночному профилю в опытной группе проявлялась значительно раньше, чем в контрольной, что четко видно в таблицах 45, 46. Как видно из приведённых данных, эффективность терапевтических мероприятий в опытной группе составила 100%, в контрольной – 90% (таблица 47).

Таблица 47 - Эффективность проводимых терапевтических мероприятий

Группа	Количество животных	Количество выживших животных	Летальность, %	Терапевтический эффект %
Контроль	10	8	20	80
Опыт	10	10	0	100

Необходимо так же отметить, отсутствие летальных исходов, сокращение длительности проводимой терапии в опытной группе по сравнению с контрольной, а так же более надежный и удобный способ введения препарата «Гепасейф», вводимого внутримышечно, 1 раз в сутки, в отличие от препарата «Гепатовет», который в виде суспензии задаётся животным внутрь, перорально, 2 раза в сутки.

3.3.3 Терапевтическая эффективность гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении поросят с токсической дистрофией печени

Исследование терапевтической эффективности препарата «Гепасейф» проводили на поросятах, больных токсической дистрофией печени. Препарат исследовали на поросятах начального периода дорастивания в возрасте 35-40 дней (Приложение 9). В 2 группах находились животные, больные токсической дистрофией печени, в 3 группе – клинически здоровые поросята. Поросятам 1-й группы внутримышечно вводили «Гепасейф» в дозе 1,0 мл на животное ежедневно в течение 7-и суток. Животным 2-й группы применяли

«Катозал» в дозе 2,5 мл на животное внутримышечно 1 раз в сутки курсом также 7 дней. Выбор данного препарата сравнения был обусловлен его комплексным (в том числе гепатопротекторным) действием. «Катозал» содержит в 100 мл: бутрофосфан (10 г), цианокобаламин (0,005 г), метил-4-гидроксibenзоат (0,1 г), а также воду для инъекций.

В ходе исследования у всех животных ежедневно проводили определение клинического статуса. О полном выздоровлении животных в группах судили по исчезновению клинических признаков болезни, восстановлению аппетита, динамике лабораторных показателей. В начале и в конце эксперимента проводили контрольное взвешивание экспериментальных животных, а также у поросят из каждой группы брали пробы крови для исследований. При этом проводили общий клинический анализ крови и определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, общего билирубина, щелочной фосфатазы, активность АсАТ и АлАТ. В случаях падежа животных проводили патологоанатомическое вскрытие.

Патологический материал от павших животных для бактериологических, микологических и токсикологических исследований отбирали в соответствии с существующими инструкциями и рекомендациями, и направляли в областную ветеринарную лабораторию для исследований. Фекалии от больных животных исследовали для исключения инвазионных заболеваний. В ответах, полученных из лабораторий, было указано, что возбудителей острых бактериальных инфекций не выявлено. При копроскопическом исследовании были исключены инвазионные заболевания поросят.

Симптомами заболевания являлись: общие угнетение, периодическое кратковременное разжижение кала со светло-коричневой окраской, мышечная слабость, иногда судороги, рвота, анорексия, в некоторых случаях акроцианоз. Больные животные отставали в росте и развитии от здоровых поросят данного возраста. При проведении общего анализа крови у больных

поросят регистрировали высокий уровень концентрации гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов и замедление скорости оседания эритроцитов (СОЭ). Это свидетельствует о сгущении крови вследствие развития диарейного синдрома (таблица 48).

Таблица 48 – Динамика гематологических и биохимических показателей крови при токсической дистрофии печени у поросят

Показатель	Ед. изм.	1 группа		2 группа		Контроль
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	
Лейкоциты	х10 ⁹ /L	18,92±1,28	10,61±1,07*	18,98±1,26	14,52±1,06	15,4±1,28
Эритроциты	х10 ¹² /L	6,71±0,112	5,84±0,12	7,03±0,114	5,68±0,11	5,38±1,38
Гемоглобин	g/L	109,5±0,52	92,5±2,61	107,6±2,45	104,8±1,98	110±3,12
Гематокрит	%	48±1,1	37±0,9	47±0,8	42±1,2	38±0,9
СОЭ	мм/ч	1,7±0,24	3,4±0,12*	1,6±0,11	2,8±0,09*	0,3±0,12
Общий белок	г/л	78±1,67	76±1,45	81±1,81	77±1,34	76±1,89
Альбумин	г/л	24,76±1,23	35,56±1,09*	24,78±1,12	27,1±1,54	32±1,23
Глюкоза	Мм/л	6,02±0,36	3,5±0,21*	5,74±0,76	3,8±0,03*	4,7±0,98
Билирубин общий	Мкм/л	13,17±0,59	6,75±0,15*	12,94±0,45	11,76±0,38	8,2±0,67
АлАТ	Е/л	76±1,67	51±1,42*	78±1,45	69±1,37	34±1,29
АсАТ	Е/л	84±1,69	74±1,98	81±1,93	78±2,09	38±1,58
Щелочная фосфатаза	Е/л	128±2,44	112±2,12	132±2,98	118±2,67	112±2,87
Холестерин	Мм/л	4,61±0,16	2,09±0,023	4,23±0,32	3,59±0,54	2,8±0,1

*P≤0,05 относительно контроля.

Вышеуказанные данные подтверждала и лейкограмма крови экспериментальных животных. У больных животных наблюдалась нейтрофилия с простым регенеративным сдвигом ядра влево, моноцитоз и лимфоцитоз.

По результатам биохимического исследования крови опытных групп животных наблюдалась гипоальбуминемия, гиперхолестеринемия, гипербилирубинемия и гипергликемия, увеличение активности АсАТ, АлАТ и γ-ГТФ. Полученные данные указывают на повышенную реакцию паренхимы печени больных поросят на интоксикацию и поражение гепатоцитов.

В результате проведенных клинических испытаний, можно сделать вывод, что препарат «Гепасейф» показал более высокую терапевтическую

эффективность по сравнению с препаратом «Катозал». Индивидуальный учет продолжительности болезни у поросят показал, что при терапии препаратом «Гепасейф» клинические симптомы болезни у 30 % больных животных исчезали в течение пяти, а у 70% - шести суток с момента их появления. Вышеприведенные данные подтверждали и терапевтическая эффективность способов лечения. Так, в 1 группе она составила 100 %, а во 2 группе 80 %.

Патологоанатомическое вскрытие трупов павших в течение эксперимента поросят показало, что в группе животных с применением препарата «Катозал» наблюдалось поражение печени, желудка, кишечника.

Температура, частота сердечных сокращений и дыхания у экспериментальных животных до лечения, на протяжении и после лечения изменений находились в пределах референтных величин, без значительных изменений. Живая масса поросят 1 группы (препарат «Гепасейф») в течение 10 дней возросла с $9,5 \pm 1,5$ кг до $12,3 \pm 1,8$ кг ($P < 0,001$), среднесуточный прирост в этой группе составил 310 г. У животных 2 опытной группы (препарат «Катозал») живая масса возросла с $9,4 \pm 1,3$ кг до $10,9 \pm 1,5$ кг ($P < 0,05$), среднесуточный прирост в этой группе составил 170 г, у контрольной (не больной) группы животных среднесуточный прирост составил 391 г.

Результаты исследования крови показали сходные результаты. Концентрация гемоглобина, число эритроцитов, лейкоцитов снижались и к 10 суткам достигали значения референтных величин. Концентрация гемоглобина к 10 суткам лечения снижалась с $108,4 \pm 0,59$ г/л до $81,2 \pm 2,65$ г/л, число эритроцитов – с $6,95 \pm 0,114 \times 10^{12}$ /л до $3,92 \pm 0,14 \times 10^{12}$ /л, количество лейкоцитов – с $19,01 \pm 0,25 \times 10^9$ /л до $10,79 \pm 0,06 \times 10^9$ /л, также наблюдалось повышение СОЭ с $1,8 \pm 0,21$ мм/ч до $3,5 \pm 0,11$ мм/ч. Это говорит о восстановлении жидкостной части крови у исследуемых поросят. Аналогичные показатели крови поросят 2 группы выявили некоторую нормализацию процессов, но в меньшей степени, по отношению к 1 опытной

группе. В лейкограмме крови у поросят к 10 дню лечения наблюдалось снижение палочкоядерных нейтрофилов с $13,9 \pm 0,62\%$ до $7,3 \pm 0,30\%$ в 1 группе, а также с $15,8 \pm 0,68\%$ до $8,3 \pm 0,25$ во 2 группе. Наблюдалось также снижение моноцитов у поросят 1 группы в 4 раза, у 2 группы - в 2 раза. У всех подвергшихся лечению животных наблюдался умеренный лимфоцитоз, что является характерной особенностью для данного возраста поросят и технологии их выращивания. Значительные изменения были выявлены при биохимическом исследовании крови. Так, у поросят 1 группы на 10 сутки лечения концентрация альбуминов составила 46,5 %, а у поросят 2 группы – 33,5%. Также наблюдалось снижение концентрации холестерина у поросят 1 группы с $4,72 \pm 0,170$ ммоль/л до $2,03 \pm 0,0240$ ммоль/л. У поросят, которым в качестве лечения использовали «Катозал», концентрация холестерина не снижалась, а наоборот выросла, и к девятым суткам составила $4,48 \pm 0,53$ ммоль/л. В процессе лечения у всех животных опытных групп наблюдалась тенденция к снижению концентрации глюкозы в сыворотке крови: у поросят, которым применяли препарат «Гепасейф», с $5,99 \pm 0,330$ ммоль/л до $3,3 \pm 0,23$ ммоль/л, у животных, которым применяли «Катозал» с $5,68 \pm 0,77$ ммоль/л до $3,9 \pm 0,03$ ммоль/л. Высокие гепатопротекторные свойства препарата «Гепасейф», а также значительные компенсаторные свойства паренхимы печени приводили к нормализации пигментного обмена в печени. В результате концентрация общего билирубина в 1 группе снижалась с $13,09 \pm 0,610$ мкмоль/л до $6,57 \pm 0,170$ мкмоль/л. При этом указанный показатель животных 2 группы под воздействием лечения практически не изменялся, что говорит о недостаточной терапевтической эффективности препарата «Катозал» при данной патологии. Также в процессе лечения было установлено снижение интенсивности цитолиза и ускорение репаративных процессов у поросят 1 группы по сравнению с поросятами 2. Так, уровень АсАТ в 1 группе снижался на 32,3 %, АлАТ – на 11,5 %, ГГТФ – на 34 %, это говорит о снижении уровня интоксикации и восстановлении всех функций

печени. У животных 2 группы данные показатели на протяжении лечения практически не отличались от таковых до лечения.

В результате проведенных клинических испытаний, можно сделать вывод, что препарат «Гепасейф» показал более высокую терапевтическую эффективность по сравнению с препаратом «Катозал». Индивидуальный учет продолжительности болезни у поросят подтвердил, что при терапии препаратом «Гепасейф» общее клиническое состояние у 3 больных животных нормализовалось в течение 5, а у 7 поросят – в течение 6 суток с момента начала терапии. В группе животных, получавших препарат «Катозал», клинические симптомы болезни исчезали только к 8-9 суткам. Двое животных пали.

Вышеприведенные данные подтверждали и терапевтическая эффективность способов лечения (таблица 49).

Таблица 49 – Эффективность проводимых терапевтических мероприятий.

Группа	Количество животных	Количество выживших животных	Летальность %	Терапевтический эффект %
1	10	10	0	100
2	10	8	20	80

Основываясь на результатах проведенного исследования, можно прийти к заключению, что препарат «Гепасейф» обладает высокими детоксикационными, гепатопротекторными свойствами и является эффективным средством патогенетической терапии при лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией.

3.4 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ГЕПАСЕЙФ» В СВИНОВОДСТВЕ

Расчет экономической эффективности препарата «Гепасейф» для лечения токсической дистрофии поросят раннего периода доращивания (35-40 дней) проведен по следующему алгоритму:

Провели расчет фактического ущерба (Уф), причиненного заболеванием:

Среднесуточный прирост массы тела клинически здоровых поросят составил 391 г, животных опытной группы - 310 г, поросят, которым препарат не назначался - 170 г.

$$Уф=(Пз-Пб)*Мб*Д*Ц,$$

Где:

Пз и Пб – среднесуточная продуктивность здоровых и больных животных соответственно (кг);

Мб – количество больных животных (голов);

Д – продолжительность болезни (дни);

Ц – закупочная цена 1 кг продукции (руб.).

$$Уф = (0,391-0,17)*10*10*150=3315 \text{ руб.}$$

Провели расчет затрат на проведение ветеринарных мероприятий (Зв):

Препарат «Гепасейф» во флаконе по 10 мл стоит 134 руб, поросятам вводили 1,0 мл внутримышечно 1 раз в сутки, в течение 7 суток. Использовали шприц-дозатор.

Итого на проведение курса лечения затрачено 938 руб.

Оплата введения препарата ветеринарным специалистом составила 150 руб.

$$Зв= 938+150=1088 \text{ руб.}$$

Определили предотвращенный экономический ущерб, согласно следующей формуле. Потенциальный коэффициент заболеваемости

токсической дистрофией поросят начального периода доращивания составляет 0,087.

$$Пу = Мо * Кз * Ку - Уф,$$

Где:

Мо – общее поголовье восприимчивых животных, голов;

Кз – потенциальный коэффициент заболеваемости;

Мб – количество заболевших животных, голов;

Ку – потенциальный коэффициент ущерба, руб. ($Ку = Уф / Мб$);

Уф - фактический ущерб, руб.

$$Пу = 500 * 0,087 * 331,5 - 3315 = 11105,25 \text{ руб.}$$

Экономическую эффективность определяли по формуле:

$$Эв = Пу - Зв,$$

Где:

Эв – величина экономического эффекта от проведенных ветеринарных мероприятий, руб.;

Пу – предотвращенный экономический ущерб, руб.;

Зв – затраты на ветеринарные мероприятия, руб.

$$Эр = Эв / Зв,$$

Где:

Эр – эффективность ветеринарных мероприятий на рубль затрат, руб.;

Эв – величина экономического эффекта, руб.;

Зв - сумма ветеринарных затрат, руб.

Экономический эффект составил 10017,25 руб, а эффективность ветеринарных мероприятий из расчета на 1 рубль затрат – 9,2 руб.

В результате проведенных расчетов можно сделать вывод, что мероприятия по лечению токсической дистрофии поросят на начальном этапе доращивания новым гепатопротекторным препаратом «Гепасейф» являются экономически выгодными для применения на свиноводческих

комплексах. На каждый затраченный рубль на оказание лечебных мероприятий хозяйство получает 9,2 рубля прибыли.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ретроспективный анализ как отечественной, так и зарубежной литературы показал, что в последнее время отмечается значительный рост числа заболеваний гепатобилиарной системы животных. По последним статистическим данным, патологии печени занимают 5-25% от всех незаразных болезней. При правильном подходе комплексное лечение болезней гепатобилиарной системы у животных дает положительные результаты даже при поражении 70-75% клеток. В первую очередь лечение должно быть направлено на купирование этиологических факторов, уменьшение токсической нагрузки на орган, активизацию метаболизма и регенеративных процессов в гепатоцитах, восстановление всех функций печени, в том числе барьерной, мочевино - и желчеобразующей. Вещества, называемые в ветеринарной медицине гепатопротекторами, оказывают непосредственное воздействие на гепатоциты, стимулируя их восстановление. При значительных отличиях в схемах лечения патологий гепатобилиарной системы в зависимости от этиологических факторов, патогенетических процессов и форм проявлений заболеваний, гепатопротекторы занимают ведущее место в любой из них. Основной их функцией является предохранение клеток печени от повреждающего воздействия различных факторов. К наиболее перспективным препаратам, отвечающим требованиям современной ветеринарии, относятся флавоноиды, выделяемые из лекарственного растения расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaerth). Особое значение при этом придается снижению токсичности препаратов и увеличению их биодоступности. Однако флаволигнаны обладают низкой терапевтической активностью и биодоступностью, которая обусловлена их низкой растворимостью, как в гидрофильных, так и в липофильных растворителях. Поэтому все известные препараты на их основе выпускаются в форме суспензий и таблеток, для орального введения. Это значительно снижает биодоступность

лекарственных веществ и осложняет дачу препарата больным животным, а соответственно снижается эффективность назначенного лечения. В связи с этим новый оригинальный инъекционный гепатопротекторный препарат – «Гепасейф» на основе изомерных биофлавоноидных соединений расторопши пятнистой позволил повысить биодоступность силимарина и снизить побочные явления. В процессе нашей работы мы изучили фармако-токсикологические свойства и терапевтическую эффективность препарата «Гепасейф».

В ходе исследования определяли параметры острой и хронической токсичности препарата «Гепасейф» в опытах на лабораторных животных. Определение острой токсичности проводилось при внутрибрюшинном введении препарата и при введении в желудок. По результатам исследования препарат «Гепасейф» в условиях однократного введения в желудок относится к 4-ому классу слабо токсичных соединений ($LD_{50} = 15,8 + 1,7$ г/кг (190,0 мг/кг по д.в.) массы тела. Препарат «Гепасейф» при внутрибрюшинном введении, можно отнести к относительно безвредным соединениям (6 класс токсичности по классификации ОЕСД), ($LD_{50} = 8,5 + 2,8$ г/кг (220,0 мг/кг по д.в.) массы тела. Во время патоморфологического исследования внутренних органов лабораторных мышей, которым вводили препарат «Гепасейф» в опыте на хроническую токсичность, не отмечали каких-либо изменений. При длительном введении он не вызывает изменений функциональной активности основных физиологических систем организма. Повышение привеса и усиление роста у опытной группы мышей в первую неделю эксперимента может быть связано с нормализацией метаболизма при благоприятном влиянии препарата на печень. В условиях 2-х месячного эксперимента «Гепасейф» не проявил выраженного токсического действия. Все показатели жизнедеятельности организма у животных, которым вводили препарат на уровне терапевтической дозы (0,1 мл/кг массы тела животного) и в 3 раза большей дозе (0,3 мл/кг массы тела), находились в пределах нормы для данного вида животных, в данных условиях опыта. Для изучения

кумулятивных свойств, препарат вводили в желудок белых крыс в постоянной дозе. Коэффициент кумуляции препарата «Гепасейф» составил 2,01, что свидетельствует об умеренно выраженной материальной кумуляции препарата. В результате полученных данных можно сказать, что препарат «Гепасейф» обладает слабовыраженной как материальной, так и функциональной кумуляцией, проявляющейся только в результате получения в конце эксперимента больших суммарных доз, в несколько раз превышающих рекомендуемую дозу для практического применения.

Следующим этапом нашей работы стало изучение проявления иммунотоксичности, эмбриотоксичности и алергизирующих свойств препарата «Гепасейф» в опытах на лабораторных животных. Введение любого вещества в организм животного вызывает определенные сдвиги в иммунной системе, обуславливая активизацию хелперной или супрессорной активности иммунокомпетентных клеток. Иммунотоксичность препарата «Гепасейф» определяли по характеру влияния препарата на Т- и В-клеточные звенья иммунной системы организма животных. Препарат «Гепасейф» не вызывает угнетения Т- и В-клеточного звена иммунитета и может быть использован как лечебный препарат. Изучение эмбриотоксического действия препарата «Гепасейф» проводили на белых беспородных крысах самках. Препарат опытной группе животных вводили в течение 19 дней, проведенное вскрытие показало отсутствие аномалий у осмотренных плодов (141 гол), в среднем число живых плодов составило 9,4 на 1 животное, а мертвых – 0,3. Полученные средние показания для группы контроля были соответственно – 9,1 плод и 0,5 плодов. В результате исследования можно сделать вывод, что препарат «Гепасейф» не обладает эмбриотоксическим действием. Определение сенсibilизирующих свойств препарата «Гепасейф» проводили на морских свинках по целому ряду методик. Проведенные исследования препарата «Гепасейф» показали, что он практически не обладает сенсibilизирующим действием. При контакте с кожей, препарат «Гепасейф» не обладает местным и кожно-резорбтивным действием, не вызывает

раздражения кожи кроликов при многократных 20-ти дневных аппликациях. При однократном введении в конъюнктивальный мешок глаза кроликов препарат «Гепасейф» не вызывает раздражения слизистой. По реакции НДТК и реакции специфической агломерации лейкоцитов «Гепасейф» не обладает аллергизирующими свойствами.

Изучение фармакокинетических параметров препарата «Гепасейф» проводили на собаках и кошках. В группе контроля применяли препарат «Карсил». Силимарин из места инъекции достаточно быстро всасывается в кровь, откуда поступает как в печень, так и в селезенку примерно в одинаковых объемах. Этот факт, дает основание предполагать гематогенный путь распределения силимарина в организме. При введении препарата в организм животных, он довольно равномерно распределяется между органами и тканями, на что указывают близкие концентрации его, как в сильно васкуляризированной селезенке, так и в органе – мишени печени. Сравнивая полученные данные по фармакокинетике препаратов на основе силимарина при оральном и внутримышечном применении на происследованных видах животных, следует отметить, что препарат «Гепасейф» при однократном применении более интенсивно всасывается в кровь ($C_{max} = 0,7$ мг/мл и $0,126$ мг/мл). Более длительное время находится в крови ($T_{1/2} = 2$ ч.; максимально в крови при дозе 200 мг/кг определяется в течение 48 часов), в отличие от оральной формы силимарина (препарат «Карсил»). Кроме того, данные результаты свидетельствуют о возможности снижения дозировки и кратности введения лекарственного вещества.

Кроме проведения лабораторных исследований, мы определили терапевтическую эффективность препарата «Гепасейф» при лечении патологий гепатобилиарной системы у собак и кошек в условиях комплексной терапии в клинической практике. Эффективность проводимых терапевтических мероприятий в контрольной и опытной группе составила 100%. Необходимо отметить не только отсутствие летальных исходов, но и сокращения длительности проводимой терапии в опытной группе по

сравнению с контрольной, более надежный и удобный способ введения препарата «Гепасейф», вводимого внутримышечно в отличие от препарата «Карсил», который в виде таблеток задавали животным внутрь. Кроме того, достаточно высокая терапевтическая эффективность препарата «Гепасейф», хорошо проиллюстрирована в динамике биохимических показателей и результатов УЗИ проведённых до и после лечения.

В результате полученных данных мы установили оптимальную терапевтическую дозу препарата «Гепасейф» при воспалительных заболеваниях печени у собак и кошек, которая составляет 0,1 мл/кг один раз в день в течение 7 и 10 дней соответственно.

Исследование терапевтической эффективности препарата «Гепасейф» проводили также на поросятах, больных токсической дистрофией печени. Поросятам вводили исследуемый препарат «Гепасейф» в дозе 1,0 мл внутримышечно 1 раз в день, 7 дней. Индивидуальный учет продолжительности болезни у поросят показал, что при терапии препаратом «Гепасейф» клинические симптомы болезни у 30 % больных животных исчезали в течение пяти, а у 70% - шести суток с момента их появления. Вышеприведенные данные подтверждала и терапевтическая эффективность способов лечения, которая составила 100 %. Как показало исследование препарат «Гепасейф» обладает высокими детоксикационными, гепатопротекторными свойствами и является эффективным средством патогенетической терапии при лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Препарат «Гепасейф», имеющий в своем составе экстракт плодов расторопши пятнистой в мицеллярной форме (силимарин 12 мг/мл), витамин Е (2 мг/мл), растворитель и соразтворитель на водной основе, представляет собой эффективный гепатопротекторный препарат, обладающий детоксикационным, регенерирующим и антифиброзирующим свойствами.

2. По результатам определения острой и хронической токсичности препарат «Гепасейф» относится к IV классу опасности – малоопасные вещества (ГОСТ 12.1.007-76), не обладает алергизирующим и местно раздражающим действием. При изучении фармакокинетических параметров препарата «Гепасейф» установлено, что инъекционный препарат «Гепасейф» при внутримышечном применении интенсивно всасывается в кровь из места инъекции ($C_{max} = 0,7$ мг/мл) и длительное время находится в крови ($T_{1/2} = 2$ ч). Максимальное время нахождения в крови при дозе 200 мг/кг – в течение 48 часов.

3. В эксперименте по моделированию токсического гепатита на лабораторных животных, сопровождавшегося повышением активности индикаторных ферментов и дистрофическими изменениями печеночной ткани с нарушением балочной структуры и тинкториальных свойств, установлено, что максимальный гепатопротекторный эффект отмечен при использовании в течение 14 дней препарата «Гепасейф» из расчета 5 мг/кг массы тела животного, оказывающий четко выраженный эффект снижения структурных нарушений печени. Наименее значимые результаты гепатопротекторного действия получены на фоне применения препарата сравнения «Карсил», достаточно слабо влияющего на процессы поражения печени, вызванные развитием токсического гепатита.

4. Препарат «Гепасейф» показал 100% терапевтическую эффективность при лечении хронического гепатита в стадии обострения у кошек, при этом видимое улучшение клинического состояния у 50%

животных наблюдалось уже через 5 дней, отмечалась быстрая нормализация гематологических и биохимических показателей крови, в частности снижение количества лейкоцитов с $23,6 \pm 2,98$ до $13,33 \pm 2,98 \times 10^9/L$, увеличение количества эритроцитов с $3,22 \pm 0,46$ до $6,56 \pm 0,43 \times 10^{12}/L$. Так же отметили восстановление показателей АлАТ и АсАТ, снижение количества общего билирубина.

5. Препарат «Гепасейф» показал 100% терапевтическую эффективность при лечении острого гепатита у собак. При проведении лечения, данный препарат назначался курсом на 7 дней, хотя видимое улучшение клинического состояния у 40% животных наблюдалось уже через 2 дня, а у 60% - через 4 дня. В процессе проведенной терапии была отмечена постепенная нормализация показателей крови уже к 7 дню лечения. Так же в процессе лечения отметили значительное снижение показателей АлАТ и АсАТ, восстановление значений γ -ГТФ, снижение количества общего билирубина.

6. Препарат «Гепасейф» обладает высокими детоксикационными, гепатопротекторными свойствами и является эффективным средством патогенетической терапии при лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией: снижает продолжительность течения токсической дистрофии печени в среднем до 3 суток, повышает уровень альбуминов с $24,76 \pm 1,23$ до $35,56 \pm 1,09$ г/л, снижает концентрацию холестерина с $4,61 \pm 0,16$ до $2,09 \pm 0,023$ Мкм/л, приводит к нормализации пигментного обмена (снижает концентрацию общего билирубина с $13,17 \pm 0,59$ до $6,75 \pm 0,15$ Мкм/л), а так же обеспечивает снижение интенсивности цитолиза и ускорение репаративных процессов.

7. Экономическая эффективность от применения препарата «Гепасейф» при лечении токсической дистрофии печени у поросят в дозе 1,0 мл, внутримышечно, 1 раз в день в течение 7 дней составила 9,2 рубля на 1 руб. затрат.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Для лечения поросят, начального этапа дорастивания, больных токсической дистрофией печени, рекомендуется применять препарат «Гепасейф» в дозе 1,0 мл, внутримышечно, 1 раз в день, 7 дней.
2. Для лечения хронического и острого гепатита у собак и кошек рекомендуется применять препарат «Гепасейф» в дозе 0,1 мл/кг массы животного, внутримышечно, 1 раз в день, в течение 7 и 10 дней соответственно.
3. Научные положения и практические рекомендации, вытекающие из материалов диссертационной работы, рекомендуем использовать в учебном процессе по дисциплинам физиологии, фармакологии, клинической диагностике и внутренним незаразным болезням.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ажунова, Т.А. Патогенетические механизмы лекарственных гепатопатий и их фармакоррекция раст.препаратами: дис. ...д-ра биол.наук / Ажунова Т.А. - Улан-уде, 1998. - 20 с.
2. Анатомия собаки и кошки / Пер. с нем. Е. Болдырева, И. Кравец. – М.: «Аквариум бук», 2003. – С. 211 – 217.
3. Астраханцев, В. И. Болезни собак / В. И. Астраханцев, Е. П. Данилов, А. А. Дубницкий. – М. : Колос, 1978. – 367 с.
4. Конструирование инъекционной формы на основе силимарина и изучение ее биодинамических и токсикологических свойств / Е.В. Башкирова Е.В., С.Н. Путина, А.А. Волков А.А. и др. // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова». – 2013. - №8. – С. 4-6.
5. Изучение фармакодинамических параметров лекарственной формы на основе флаволигнанов расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaerth) / Е.В. Башкирова, С.Н. Путина С.Н., А.А. Волков А. А. и др. // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова». – 2014. – №2 – С. 6-10.
6. Изучение терапевтического действия инъекционной формы препарата «Гепасейф» / Е.В. Башкирова, С.Н. Путина С.Н., А.А. Волков и др. // Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии: сб. науч. ст. междунар. научно-практ. конф. 13-14 марта 2013 года. – Саратов, 2013. – С. 19-22.
7. Изучение острой и хронической токсичности гепатопротективного препарата «Гепасейф» созданного на основе изомерных биофлавоноидных соединений. / Е.В. Башкирова, С.Н. Путина С.Н., А.А. Волков и др. // Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии: сб. науч. ст. междунар. научно-практ.

- конф. 13-14 марта 2013 года. – Саратов, 2013. – С. 22-25.
8. Некоторые аспекты доклинических исследований инъекционной формы препарата на основе изомерных биофлавоноидных соединений / Е.В. Башкирова, С.Н. Путина С.Н., А.А. Волков и др. // Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: матер. Междунар. научно-практ. конф. / Под ред. А.А. Волкова. – ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2012. – С. 29-33.
 9. Башкирова, Е.В. Терапевтическая активность препарата «Гепасейф» при лечении хронического гепатита у кошек / Е.В. Башкирова // Международный научно-исследовательский журнал Research Journal of International Studies, ISSN 2227-6017. – 2014.- №1(20). С. 64-66.
 10. Беленький, М.А. Эксперименты количественной оценки фармакологического эффекта / М.А. Беленький. – Л., 1983. – 71 с.
 11. Болезни собак: Справочник / А.Д. Белов, Е.П. Данилов, И.И. Дукур и др. – М.: Агропроиздат, 1990. – 368 с.
 12. Болезни собак / А. Д. Белов, Е. П. Данилов, И. И. Дукур и др. – М. Колос, 1995 – 272 с.
 13. Белоусов, Ю. Б., Моисеев В. С., Лепяхин В. К. Клиническая фармакология и фармакотерапия / Ю.Б. Белоусов, В.С. Моисеев, В.К. Лепяхин.– М.: Универсум.– 1993. – 531 с.
 14. Беляков, И. М. Болезни собак / И. М. Беляков, В. А. Лукьяновский // Нива России. – 1996. – С. 71–73.
 15. Беляков, И. М. Методические рекомендации по клиническому исследованию животных / И. М. Беляков. – М. : ВАСХНИЛ, 1980. – С. 79–131.
 16. Бетлинг, Е. ФЛС-микс – лечебный премикс для профилактики и лечения синдрома жировой дистрофии печени у кур-несушек и родительского стада / Е. Бетлинг// Ветеринария. – 2012. - № 2,. – С. 43-45.

17. Брюс Фогль. 101 вопрос, который задала бы ваша собака своему ветеринару (если бы умела говорить) / Фогль Брюс – . М.: АСТ, 1995. – 236 с.
18. Вилковыский, И.Ф. Современный подход к лечению опухолей печени у собак и кошек / И.Ф. Вилковыский // Ветеринарная медицина. – 2009. - № 4. – С.23-25.
19. Гавриш, В.Г. Современный справочник врача ветеринарной медицины / сост. и общ. ред. В.Г. Гавриша и В.А. Сидоркина. Изд. 7-е, испр. и доп. – Ростов н/Д: Феникс, 2006. – 576 с.
20. Георгиева, С.А. Физиология / С.А. Георгиева. – М.: Медицина, 1996. – 400 с.
21. Клеточная терапия при синдроме острой и хронической печеночной недостаточности у собак / Л.В. Гладских, М.Ю. Штукарева, И.Н. Смирнова, С .В. Серeda // Ветеринарная практика». – 199. - № 2 (5). – С. 17-19.
22. Гладских, Л.В. Активный метод детоксикации при синдроме острой печеночной недостаточности / Л.В. Гладских, С.В. Серeda // Ветеринарная практика. – 1998. - № 2 (5). – С. 19-20.
23. Голиков, А.Н. Физиология сельскохозяйственных животных / Голиков А.Н., Н.У. Базанова, З.К. Кожебеков и др. Под ред. А.Н. Голикова – 3е изд перераб и доп. – М.: Агропромиздат, 1991-432с
24. Голиков, П.Д. Парадоксы печени / П.Д. Голиков. М.: Медицина, 2004. – 115 с.
25. Горчакова, Н.А. Фармакология спорта/ Н.А. Горчакова, Я.С. Гудивок, Л.М. Гунина Л.М.; под общ ред С.А. Олейника, Л.М. Гуниной, Р.Д. Сейфуллы. – К.: Олимп. л-ра, 2010. – 640 с.
26. ГОСТ 12.1.007-76. «ССБТ Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности», М.,1976.
27. Государственная фармакопея XI издания, выпуск II. 1968 – 384 с.

28. Механизмы действия и клиническая эффективность комбинированного гепатопротективного препарата Прогепар / О.А. Громова, И.Ю. Торшин ит др. // Трудный пациент. – 2009 - Т. 7 № 12. – С. 35-39.
29. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств, изд. 2-е доп. / Т.А. Гуськова. – М.: МДВ, 2008. – 27 с.
30. Девришов, А.Д. Влияние кислотного гидролизата крови на активность гепатоцито / А.Д.Девришов // Ветеринарная медицина – 2009. - № 4. – С. 15-17.
31. Додали, В. А., Макаров В. Г. Биологически активные вещества лекарственных и пищевых растений как регуляторы метаболизма / В.А. Додали, В.Г. Макаров // Человек и лекарство: тез. докл. 7-го Российского конгресса. – М.; 2000. – С. 568.
32. Душкин, Е.В. Гепатические расстройства излечимы / Е.В. Душкин, С.Б. Парапонов, И.Г. Мундяк // Животноводство России. – 2008. - № 1. – С. 42-43.
33. Душкин, Е.В. Ожирение печени у коров после отела и проблемы сервис-периода / Е.В. Душкин, И.Г. Мундяк // Комбикорма. – 2008. - № 7. – С. 77.
34. Евдокимова, О.В. Применение лекарственных средств растительного происхождения. Побочные действия и противопоказания // Фармацевтическое обозрение. – 2002. - № 7. – С. 21-24.
35. Н.В. Физиология / Н.В. Зимкин. – М.: ММОРТС, 2005. – 496 с.
36. Каган, Ю.С. Профилактическая токсикология: Т.2, ч. 1 / Ю.С. Каган. –М.,1984. – 219 с.
37. Карташова, О.Я., Функциональная морфология печени/ О.Я. Карташова, Л.А. Максимова. – Рига: Рижский медицинский институт, 1979. – 118с.

38. Карташова, О.Я. Функциональная морфология печени / О.Я. Карташова, Л.А. Максимов. – СПб.: Тригон, 2000. – 118 с.
39. Катцунг, Б.Г. Базисная и клиническая фармакология: Т. 1/ Б.Г. Катцунг. – М., -СПб.: Бином-Невский Диалект, 1998. – 611 с.
40. Методы ветеринарной клинической лаборатории диагностики: Справочник / Под ред проф И.П. Кондрахина. –М.: КолосС, 2004. – 520 с.
41. Краснопольский, Ю.М. Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизмов их действия / Ю.М. Краснопольский, И.И. Гольбец, Г.А. Сенников // Хим.-Фарм. Журн. – 1981. - № 7. С. 13-23.
42. Краснюк, И.И. Технология лекарственных форм / И.И. Краснюк, С.А. Валевко. – М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 592 с.
43. Лимеренко, А.А., Болотский И.А., Баранников А.И. Болезни свиней / А.А. Лимеренко, И.А. Болотский, А.И. Баранников. – Лань, 2008. – 640 с.
44. Логинов, А.С. Скрининг-метод исследования гликозаминогликанурии в клинике хронических заболеваний печени / А.С. Логинов, М.Н. Приваленко, Т.В. Скобелева // Лабораторное дело. – 1981.-№2. – С.93-96.
45. Лопатин, П.В. Использование неводных растворителей для приготовления инъекционных растворов / П.В. Лопатин, В.П. Сафонов, Т.П. Литвинова // Хим.-Фарм. Журн. – 1972. - № 11. – С. 36-47.
46. Лоуренс, Д.Р., Беннетт П.Н. Клиническая фармакология / Д.Р. Лоуренс, П.Н. Беннетт. – М.: Медицина, 1993. Т. 1. – 638 с.
47. Лоуренс, Д.Р. Клиническая фармакология / Д.Р. Лоуренс, П.Н. Беннетт, М. Дж. Браун. – М.: Медицина, 2002. – 680 с.
48. Маркосян, А.А. Физиология / А.А. Маркосян. – М.: Медицина, 1995. – 351 с.

49. Гепатопротективные свойства силимарина / А.В. Матвеев, Е.И. Коняева, В.П. Курченко, А.С. Щекатихина // Гастроэнтерология. – 2011. - №2. - С.130-135.
50. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: 16-е изд., перераб., испр. и доп. / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна: издатель Умеренков, 2010. – 1216 с.
51. Машковский, М.Д. Лекарственные средства, т. 1 и 2 / М.Д. Машковский М.Д. – М.: Медицина, 1994. – 1216 с.
52. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник/ под ред. В.В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
53. Методические рекомендации по исследованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. – М., 1979. – 75 с.
54. Методические указания по применению унифицированных и биохимических методов исследования крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. – М., 2004. – 123 с.
55. Минушкин, О.Н. Некоторые гепатопротекторы в лечение заболеваний печени / О.Н. Минушкин // Лечащий врач. – 2002. - №6. – С. 55-58.
56. Нидман, Х.Г. Болезни собак: практическое руководство для ветеринарных врачей. 8-е изд., пер с нем. 2-е изд. / Х.Г. Нидман, П.Ф. Сутер. – М.: Аквариум-принт, 2008. – 816 с.
57. Никитин, Ю.П. Печень и липидный обмен / Ю.П. Никитин, С.А. Курилович. – М.: Наука, 1985. – 189 с.
58. Панова, Н.Л. Влияние гепатопротекторов на динамику изменения живой массы и удоя высокопродуктивных коров / Н.Л. Панова, Т.Е. Тарадайник, Т.В. Богданова // Веткорм.– 2011. - № 2. – С. 44 -45.
59. Петрянкин, Ф.П. Болезни молодняка животных / Ф.П. Петрянкин, О.Ю. Петрова. – Лань, 2014 – 352 с.

60. Тромбоз воротной вены в практике гастроэнтеролога / М.Н. Подлесских, Г.В. Цодиков, Е.В. Волчкова и др. // Фарматека. – 2010. - № 2. – с.54-59.
61. Постановка исследований по гигиеническому нормированию пром. аллергенов в воздухе рабочей зоны: методические указания – Рига, 1980. – 40 с.
62. Постановка исследований по гигиеническому нормированию пром.аллергенов: методические указания – М., 1978. – 40 с.
63. Приказ Минздрава РФ № 214 от 16.07.1997 «О контроле качества лекарственных средств, изготовляемых в аптечных организациях (аптеках)».
64. Прозоровский, В.Б. Рекомендации по статистической обработке результатов токсикологических исследований / И.Б. Прозоровский. – М.,1965. – 36с.
65. Романенко, В.Д. Печень и регуляция межлужочного обмена / В.Д. Романенко. – Киев: Наукова Думка, 1995. – 182 с.
66. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (Токсикометрия) / Под ред. проф. И.В. Саноцкого. – М., Медицина, 1970. – с.
67. Саратиков, А.С. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на течение экспериментального синдрома. / А.С. Саратиков, А.И. Венгеровский, И.В. Суходоло // Бюлл.эксп. биол. и мед. – 2000. – С.333-339.
68. Диагностика и лечение болезней печени у собак и кошек: учебное пособие для вузов / С.В. Середа, В. Н. Денисенко, Е. А. Кесарева и др. – М.: КолосС, 2011 – 112 с.
69. Болезни свиней / В.А. Сидоркин, В.Г. Гавриш, А.В. Егунова, С.В. Убираев. – Аквариум, 2011. – 544 с.
70. Симпсон, Дж. Клиническое питание собак и кошек / Дж. Симпсон, П. Маркуелл. – Москва, Аквариум, 2000. – 180 с.

71. Симпсон, Дж. Болезни пищеварительной системы собак и кошек / Дж. Симпсон, Р. Уильзе. – Москва, Аквариум – 2003. – 348 с.
72. Синев, Д.Н. Справочное пособие по аптечной технологии лекарств / Д.Н. Синев, Л.Г. Марченко, Т.Д. Синева. – СПб.: Издательство СПХФА, Невский Диалект, 2001. – 316 с.
73. Синев, Д.Н. Справочник по лекарственным препаратам с рецептурой / Д.Н. Синев, Н.П. Елинов, Э.Г. Громова. – СПб.: Гиппократ, 1994. – 310 с.
74. Соколов, В.Д. Клиническая фармакология и фармакотерапия / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, З.Н. Мухина З.Н. и др. – СПб., 1998. – 122 с.
75. Анализ инструментальных методов исследования печени/ С.А. Староверов, А.А. Волков, Е.В. Башкирова и др. // Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: матер. междунар. научно-практ. конф. / Под ред. А.А. Волкова. – ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2012. – с. 300-304.
76. Суворов, С.В. К вопросу о количественной оценке гиперемии, как показателя интенсивности и воспаления / С.В. Суворов, В.И. Чернышова // Вестник дерматологии и венерологии, – 1974.- № 6. – С 22-24.
77. Сысуева, А.В. Исследование системы эритрона у собак и кошек при патологиях печени / А.В. Сысуева // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2008. - № 4.– С. 7-9.
78. Тихонов, А.И. Технология лекарств / А.И. Тихонов, Т.Г. Ярных. – М.: Высш. Школа, 2002. – 704 с.
79. Основы гомеопатической фармации / А.И. Тихонов, С.А. Тихонова, Т.Г. Ярных и др.; под ред. А.И. Тихонова. – Х.: Изд-во НФАУ, Золотые страницы, 2002. – 574 с: ил.

80. Ткач, С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины / С.М. Ткач // Здоровье Украины. – 2009. - №6. – С. 7-10.
81. Уша, Б.В. Болезни печени собак / Б.В. Уша, И.М. Беляков. – М.: ПАЛЬМА-пресс, 2002. – 22 с.
82. Разработка лекарственных средств для лечения печеночной недостаточности у собак на основе кластерного серебра // Б.В. Уша, В.В. Светличкин, А.А. Концегова и др. // Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации: матер. съезда фармакологов и токсикологов России. – СПб.: СПбГ АВМ, 2011. – С. 466-467.
83. Разработка методов и средств для лечения печеночной недостаточности у животных / Б.В. Уша, А.А. Концегова, А.М. Смирнов и др. // Веткорм. – 2011. - №5. – С. 25-26.
84. Новые подходы к лечению острой печеночной недостаточности у собак / Б.В. Уша, В.В. Светличкин, А.А. Концегова и др. // Веткорм. – 2012. - № 3. – С. 44 – 45.
85. Уша, Б.В. Коррекция острой печеночной недостаточности у собак с помощью коллоидной взвеси кластерного серебра и желчи / Б.В. Уша, А.А. Концегова / Тез. докл. междунар. научн. конф. ФГУ ВГНКИ. – М., 2011. – С. 150-152.
86. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
87. Хоссейни, Аббас Бахр. Техника резекции части печени у собак, кошек и кроликов» /Аббас Бахр Хоссейни // Ветеринарная медицина. – 2009. - № 4.– С.43-44.
88. Анатомия домашних животных / И.В. Хрусталева, Н.В. Михайлов, Я.И. Шнейберг и др.; под ред. И.В. Хрусталевой. – М.: Колос, 1994. – 704 с.

89. Чусов, Ю.Н. Физиология / Ю.Н. Чусов. – М.: Просвещение, 1991. – 240 с.
90. Шебиц, Х. Оперативная хирургия собак и кошек / Х. Шебиц, В. Брас. – М.: Аквариум, 2007. – 482 с.
91. Шебиц, Х., Оперативная хирургия собак и кошек / Х. Шебиц, В. Брас. – М.: Аквариум-принт, 2012. – 481с.
92. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули. – М.: ГЭОТАР, 199. – С. 184 – 185.
93. Шмидт, Р. Физиология человека. Т.3 / Р. Шмидт. – М.: Медицина, 2005. – 345 с.
94. Внутренние болезни животных / Г.Г. Щербаков, С.П. Ковалёв, А.В. Яшин, С.В. Винникова. – Лань, 2012. – 496 с.
95. Aboofazeli R., Lawrence M.J. Investigations into the formation and characterization of phospholipid microemulsions. I. Pseudo-ternary phase diagrams of systems containing water – lecithin – alcohol – isopropyl miristate // *Int. J. Pharm.* – 1993. - V. 93. – P. 161–175.
96. Agatonovic-Kustrin S., Glass B.D., Wisch M.H. Strategy for the development of a thermodynamically stable oral microemulsion // *Curr. Drug Discov. Technol.* – 2004. - Vol. 1. – P. 165–171.
97. Силибинин и родственные ему вещества – прямые ингибиторы рНК-зависимой рНК-полимеразы вируса гепатита С / А. Ahmed-Belkacem, N. Ahnou, L. Barbotte et al. // *Клиническая гастроэнтерология и гепатология: русское издание.* – 2011.-Т. 4.- № 1.– С.1-11.
98. Ahuja A. Mucoadhesive Drug Delivery Systems, Khar K.R., Ali J. // *Drug Develop. Ind. Pharm.* – 1997. Vol. 23. – P. 489–515/
99. Allen, T.M., Hansen C.B., Menenez D.E.L. Pharmacokinetics of long-circulating liposomes / Т.М. Allen, С.В. Hansen, D.E.L. Menenez // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* – 1995. - Vol. 16. – P. 267–284.
100. Allen, T.M. Pharmacokinetics of stealth conventional liposomes: effect

- of dose / T.M. Allen, C.B. Hausen // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1991. Vol. 1068. –P. 133–141.
101. August, J. R. Gastrointestinal disorders of the cat / J. R. August // *Veterinary Clinics of North America.* – 1983. – №. 13 – P. 585–597.
102. Chronic toxicity study of injection drug for the treatment and prevention of liver disease in animals / E.V. Bashkirova, S.N. Putina, A.A.Volkov et al. // *XVIth ISAH 2013 Congress «Animal hygiene, health and welfare as corner stones of sustainable animal production»*, may 5-9, 2013, –P. 227. China.
103. Berkson, B.M. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C. Combination of alpha lipoic acid (thioctic acid), silymarin, and selenium: three case histories. / B.M. Berkson // *Med Klin (Munich).*–1999. – Vol.94, №3.– P.84-89.
104. Bunch, S. E. Specific and symptomatic medical management of disease of the liver / S. E. Bunch, S. J. Ettinger, E. C. Feldman // *Textbook of Veterinary internal Medicine.* W. B. Saunders Company. – Philadelphia, Pennsylvania, 1995. – P. 1359–1371.
105. Byrn, S.R. Solid-state chemistry of drugs / S.R. Byrn, R.R. Pfeiffer, J.G. Stowell. – West Lafayette: SSCI, 1999. –574 p.
106. Campbell, R.B. Phospholipid-cationic lipid interactions: influences on membrane and vesicle properties / R.B. Campbell, S.V. Balasubramanian, R.M. Straubinger // *BBA-Biomembranes.* – 2001. – Vol. 1512. – P. 27–39.
107. Chandran, S. Recent trends in drugs delivery systems: liposomal drug delivery system – preparation and characterization / S. Chandran, A. Roy, B. Mishra // *Indian J. Exp. Biol.* – 1997. Vol. 35. – P. 801–809.
108. Comoglu, T., Gonul N. Microemulsions / T. Comoglu, N. Gonul // *J. Fac. Pharm. Ankara.* – 1997. - Vol. 26. – P. 95–108.
109. Cremophor EL: the drawbacks and advantages of vehicle selection for drug formulation / H. Gelderblom, J. Verweij, K. Nooter et al. // *Eur. J.*

- Cancer. –2001.-Vol. 37. – P. 1590–1598.
110. Croubels, S. Practical approach for the stability testing of veterinary drugs in solutions and in biological matrices during storage / S. Croubels, S. De Baere, P. De Backer // *Anal. Chim. Acta.* – 2003. –Vol. 483. – P. 419–427.
 111. Duncan, R. The dawning era of polymer therapeutics / R. Duncan // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2003. –Vol. 2. – P. 347–360.
 112. Fubini, B. Microcalorimetric study of microemulsions as potential drug delivery systems. II. Evaluation of enthalpy in the presence of drugs /B. Fubini, M.R. Gasco, M. Gallarate // *Int. J. Pharm.* –1989. –Vol. 50. –P. 213–217.
 113. Cremophor EL: the drawbacks and advantages of vehicle selection for drug formulation / H. Gelderblom, J. Verweij, K. Nooter et al. // *Eur. J. Cancer.* – 2001. – Vol. 37. – P. 1590–1598.
 114. Gregoriadis, G. Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems / G. Gregoriadis // *Trends in Biotechnol.* – 1995. – Vol 13. – P. 527–537.
 115. Hancock, B.C. Characteristics and significance of amorphous state in pharmaceutical systems / B.C. Hancock, G. Zografi // *J. Pharm. Sci.* – 1997. – Vol. 86. – P. 1-12.
 116. Henry, C.M. Special delivery / C.M. Henry // *ACSJ.* – 2000. – Vol. 78. – P. 49–65.
 117. High pressure phase transitions in organic solids I: $\alpha \rightarrow \beta$ transition in resorcinol / S.M. Sharma, V. Vijayakumar, S.K. Sikka et al. // *Pramana.* – 1985. –Vol. 25. – P. 75–79.
 118. Holmberg, K. Organic reactions in microemulsions / K. Holmberg // *Curr. Opp. Coll. Interface. Sci.* – 2003. – Vol. 8. – P. 187–196.
 119. Hume, D.A. Mitogenic lymphocyte transformation. A general model for the control of mammalian cell proliferation and differentiation / D.A. Hume, M.J. Weidemann – Amsterdam: Elsevier, 1982. – 251 p.

120. Influence of Cremophor EL on the quantification of paclitaxel in plasma using high-performance liquid chromatography with solid-phase extraction as sample pretreatment / M.T. Huizing, H. Rosing, F.P. Koopmans et al. // *J. Chromatogr. B.* – 1998. – Vol. 709. – P. 161–165.
121. Interaction of Cremophor-EL with human plasma / M. Kongshaug, L.S. Cheng, J. Moan et al. // *Int. J. Biochem.* – 1991. – Vol. 23. – P. 473–478.
122. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of Histamine Receptors / S.J. Hill, C.R. Ganellin, H. Timmerman et al. // *Pharm. Rev.* – 1997. – Vol. 49. – P. 253–278.
123. Israelachvili, J.N. Intermolecular and surface forces / J.N. Israelachvili. – London: Academic Press, 1991. – 480 p.
124. Hepatobiliary Excretion of Silibinin in Normal and Liver Cirrhotic Rats / Jhy-Wen Wu, Lie-Chwen Lin, Shih-Chieh Hung et al. // *Drug metabolism and disposition.* – 2008. – Vol.36. – P.589–596.
125. Jiunn, L.H. Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development / L.H. Jiunn, L.H.Y. Anthony // *Pharm. Rev.* – 1997. – Vol.49. – P. 403–449.
126. 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 experimenta therapeutics.* – 2002. – Vol. 302, №. 1. – P.138–144.
127. Kidd, P. A review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome: a silybin-phosphatidylcholine complex (Siliphos) / P. Kidd, K. Head // *Alternative Medicine Review.* – 2005. – V. 10, № 3.– P.193–203.
128. Kren, V. Silybin and silymarin – new effects on applications / V. Kren, D. Walterova // *Biomed. Papers.* – 2005. – Vol.149, № 1. – P.29–41.
129. Kreuter, J. Colloidal Drug Delivery Systems / J. Kreuter. – New York: Marcel Dekker, 1994. – 370 p.
130. Kunii, D. Fluidization Engineering / D. Kunii, O. Levenspiel. – Oxford:

- Butterworth Heinemann, 1991. – 491 p.
131. Kwon, G.S. Block copolymer micelles as long-circulating drug vehicles / G.S. Kwon, K. Kataoka // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* – 1995. – Vol. 16. – P. 295–309.
 132. Langer, R. Drug delivery and targeting / R. Langer // *Nature.* – 1998. – Vol. 392. – P. 5–10.
 133. Loguercio, C. Silybin and the liver: From basic research to clinical practice / C. Loguercio, D. Festi // *World J Gastroenterol.* – 2011. – Vol 17, №18. – P.2288–2301.
 134. Maida A., Chrusielska K. *Medizina Pracy*, XXIY, 1973, 3.
 135. Redox Control of Liver Function in Health and Disease / M. Mari, A. Colell, A. Morales et al. // *Antioxidants & Redox signaling.* – 2010. – Vol.12, № 11. – P.1295–1331.
 136. Martin, A. *Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* / A. Martin. – Baltimore: Williams & Wilkins, 2005. – 795 p.
 137. Martinek, K. The kinetic theory and the mechanisms of micellar effects on chemical reactions / K. Martinek, A.K. Yatsimirskii, A.V. Levashov // In: *Micellization, Solubilization and Microemulsions* / Ed.: Mittal K.L. – New York: Plenum Press. – 1977. – P. 489–505.
 138. Menger, F.M. Chemistry of reactions proceeding inside molecular aggregates / F.M, Menger, C.E. Portnoy // *J. Am. Chem. Soc.* – 1967. – Vol. 89. – P. 4698–4703.
 139. Meyer, Th. Determination of cremophor EL in plasma after sample preparation with solid phase extraction and plasma protein precipitation / Th. Meyer, J. Bohler, A.W. Frahm // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2001. – Vol. 24. – P. 495–506.
 140. Michel, K. E. Nutritional management of liver disease. *Veterinary Clinics of North America* / K. E. Michel // *Small Animal Practice.* – 1995. – Vol. 25. – P. 485–501.
 141. Theoretical approaches to physical transformation of active

- pharmaceutical ingredients during manufacturing processes / K.R. Morris, U.J. Griesser, C.J. Eckhardt, J.G. Stowell // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – Vol. 48. – P. 91-114.
142. Morris, M. L. Nutrition and Diet in Small Animal Medicine / M. L. Morris // Mark Morris Associates. – Denver, Colorado, 1960. – P. 51–72.
143. Nagarajan, R. Unusual selectivity in solubilization by block copolymer micelles / R. Nagarajan, M. Barry, E. Ruckenstein // *Langmuir*, 1986. – Vol. 2. – P. 210–215.
144. Novel pH sensitive block copolymer micelles for solvent free drug loading / W.S. Shim, S.W. Kim, E.-K. Choi et al. // *Macromol. Biosci.* – 2006. – Vol. 6. – P. 179–286.
145. Okada, H. Biodegradable microspheres in drug delivery /H. Okada, H. Toguchi // *Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst.* – 1995. – Vol. 12. – P. 1–99.
146. Pradhan, S.C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine / S.C. Pradhan, C. Girish // *Indian J Med Res.* – 2006. – Vol.124. –P. 491-504.
147. Prince, L.M. Microemulsions / L.M. Prince // In: *Emulsions and Emulsion Technology* / Ed. Lissant K.J. - N.Y.: Marcel Dekker. – 1983 – P. 125–177.
148. Rangel-Yagui, C.O. Micellar solubilization of drugs / C.O. Rangel-Yagui, A. Jr. Pessoa, L.C. Tavares // *J. Pharm. Pharm. Sci.* – 2005. –Vol. 8. – P. 147–163.
149. Ritschel, W.A. Microemulsions for improved peptide absorption from the gastrointestinal tract / W.A. Ritschel // *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* – 1991. – Vol. 13. – P. 205–220.
150. Rosoff, M. Specialized pharmaceutical emulsions / Eds. H.A. Lieberman, M.M. Rieger, G.S. Banker // In: *Pharmaceutical Dosage Forms* / – New York and Basel: Marcel Dekker Inc. – 1988. – P. 245–283.
151. Shaw, P. G. Diseases old dog / P. G. Shaw, L. K. J. Van Romunde,

- G.Griffioen // *Radiology*. – 1991. – Vol. 178. – P. 63–66.
152. Sheffy, B. E. Nutrition and metabolism of the geriatric dog / B. E.Sheffy, A. J. Williams, J. F. Zimmer // *Cornell vet.* – 1985. – №. 75. – P. 324–347.
153. Silibin inactivates cytochromes P450 3A4 and 2C9 and inhibits major hepatic glucuronosyltransferases / C. Sridar, T. C. Goosen, U. M. et al. // *Drug metabolism and disposition*. – 2012. – Vol. 32, №. 6. – P.587-594.
154. Designing of injectable dosage form for the treatment and prevention of liver disease in animals / S.A. Staroverov, A.A. Volkov, E.V. Bashkirova et al. // *XVIth ISAH 2013 Congress «Animal hygiene, health and welfare as corner stones of sustainable animal production» may 5-9, China*. – 2013, P. 226.
155. Sustained-release injectables formed in situ and their potential use for veterinary products / M. Christian, U. Isele, P. Van Hoogevest et al. // *J. Contr. Rel.* – 2002. – Vol. 85. – P. 1–15.
156. Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. / D. Tedesco, Tava A., Galletti s. et al. // *Journal of Dairy Science*. – 2004. – Vol.87. – P. 2239–2247.
157. Theoretical approaches to physical transformation of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes / K.R. Morris, U.J. Griesser, C.J. Eckhardt et al. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – Vol. 48. – P. 91–114.
158. Titrimetric determination of Cremophor EL in aqueous solutions and biofluids / M. Kunkel, T. Meyer, J. Böhler et al. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1999. – Vol. 21. – P. 911–922.
159. Van Zuylen, L. Role of formulation vehicles in taxane pharmacology / L. Van Zuylen, J. Verweij, A.Sparreboom // *Inv. New. Drug*. – 2001. – Vol. 19. – P. 125–141.
160. Williams, John M. Canine and feline abdominal surgery / John M.Williams // *BSAVA*. – 2005.

161. Worlicek, H. Diseases old dogs / H. Worlicek, D. Dunz, K. Engelhard // J.Clin.Ultrasound. – 1989. – Vol. 17, № 1. – P. 5–14.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- WBC (white blood cells — белые кровяные тельца) — лейкоциты в абсолютных числах
- RBC (red blood cells — красные кровяные тельца) — эритроциты в абсолютных числах
- HGB (Hb, hemoglobin) — гемоглобин, концентрация в цельной крови
- HCT (hematocrit) — гематокрит
- PLT (platelets — кровяные пластинки) — тромбоциты в абсолютных числах
- MCV -средний объем эритроцита
- MCH – среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците
- MCHC — средняя концентрация гемоглобина в эритроците
- MPV (mean platelet volume) — средний объем тромбоцитов
- PDW — относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму
- PCT (platelet crit) — тромбоцитрит
- LYM% (LY%) (lymphocyte) — относительное содержание лимфоцитов.
- LYM# (LY#) (lymphocyte) — абсолютное содержание лимфоцитов.
- MID% — относительное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов.
- MID# — абсолютное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов.
- GRA% — относительное (%) содержание гранулоцитов.
- GRA# — абсолютное содержание гранулоцитов.
- RDW-SD — относительная ширина распределения эритроцитов по объёму.
- RDW-CV — относительная ширина распределения эритроцитов по объёму.
- P-LCR — коэффициент больших тромбоцитов.
- АЛТ – аланинаминотрансфераза.
- АСТ – аспартатаминотрансфераза.
- γ-ГТФ – гаммаглутамилтрансферазы.
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Протокол исследования стандартного образца «Карсил»

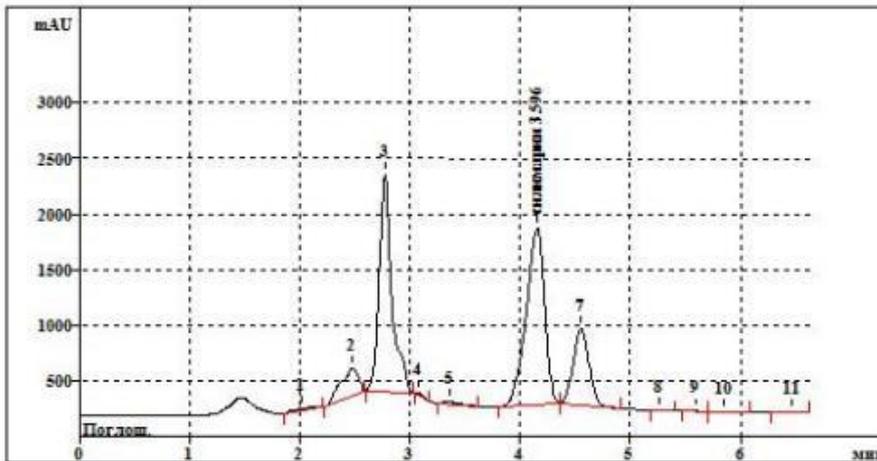
Дата: 25/05/2012 17:13:09
 Автор отчета: 11
 Хроматограмма: карсил 3,5 мг/мл 1
 Дата запуска: 02/05/2012 13:48:37
 Файл: C:\Program Files\Amersand\Misc\DATA\120502134837
 Дата записи: 02/05/2012 13:55:21 Изменен!
 Метод: UV-104.mtw
 Дата записи: 02/05/2012 13:07:33
 Оператор анализа: 11
 Номер анализа: 121

ПРОБА: карсил 3,5 мг/мл 2 мая

Пробирка №: 1
 Объем: 20.0 мкл
 Разведение: 1.00
 Количество: 1.00

КОЛОНКА: Луна-18
 Размер: 2.0x60 мм

ПОДВИЖНАЯ ФАЗА А: АН 40%
 Скорость подачи: 1.00 мл/мин
 МПа



РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА

Метод расчета: Заказной
 Стандарт: силимарин

No	Время мин	Высота mAU	Площадь mAU*сек	K'	Разрешение n, n+1	TT	Конц. мг/мл	
1	2.01	23.32	322.25	0.00	1.08	488	0	
2	2.474	250.26	2948.86	0.00	1.12	1065	0	
3	2.777	1943.94	15526.10	0.00	2.12	2735	0	
4	3.076	21.96	82.16	0.00	1.78	15209	0	
5	3.358	23.04	230.51	0.00	3.10	2529	0	
6	4.153	1581.82	18470.01	0.00	1.43	2862	3.596	силимарин
7	4.557	687.73	6927.56	0.00	3.07	4605	0	
8	5.27	4.19	28.31	0.00	1.67	13467	0	
9	5.593	1.92	13.26	0.00	1.07	14675	0	
10	5.849	4.22	42.95	0.00	1.80	7503	0	
11	6.458	1.38	17.55	0.00	0.00	5855	0	
11	6.655	4543.78	44509.51	0.00		6454	3.596	

Протокол исследования стандартного образца «Гепасейф»

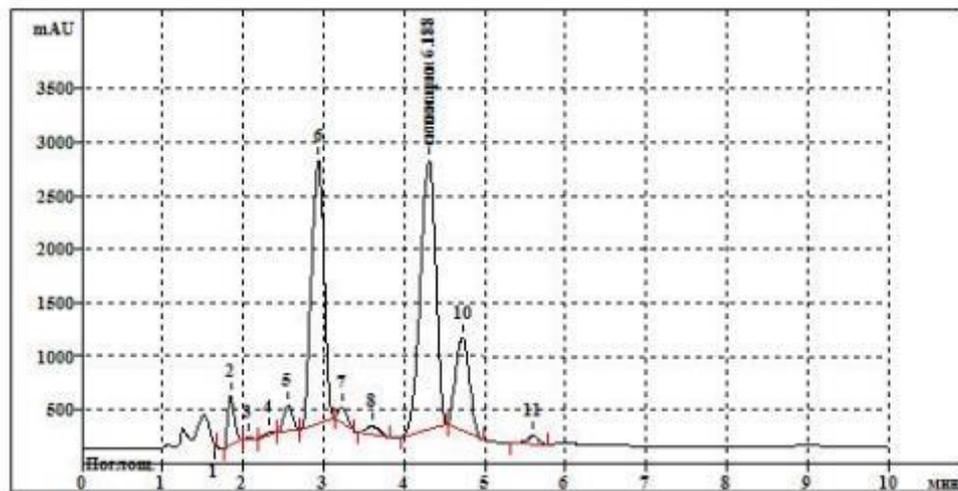
Дата: 25/05/2012 17:05:12
 Автор отчета: 11
 Хроматограмма: Гепато-Safe 25.05.2012 (1/2)
 Дата запуска: 25/05/2012 16:50:58
 Файл: C:\Program Files\Amersand\Mlcw\DATA\120525165058
 Дата записи: 25/05/2012 17:00:59 Изменен!
 Метод: UV-104.mtw
 Дата записи: 02/05/2012 14:08:46
 Оператор анализа: 11
 Номер анализа: 173

ПРОБА:

Пробирка №: 1
 Объем: 20.0 мкл
 Разведение: 1.00
 Количество: 1.00

КОЛОНКА: Луна-18
 Размер: 2.0x60 мм

ПОДВИЖНАЯ ФАЗА А: АН 40%
 Скорость подачи: 1.00 мл/мин
 МПа



РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА

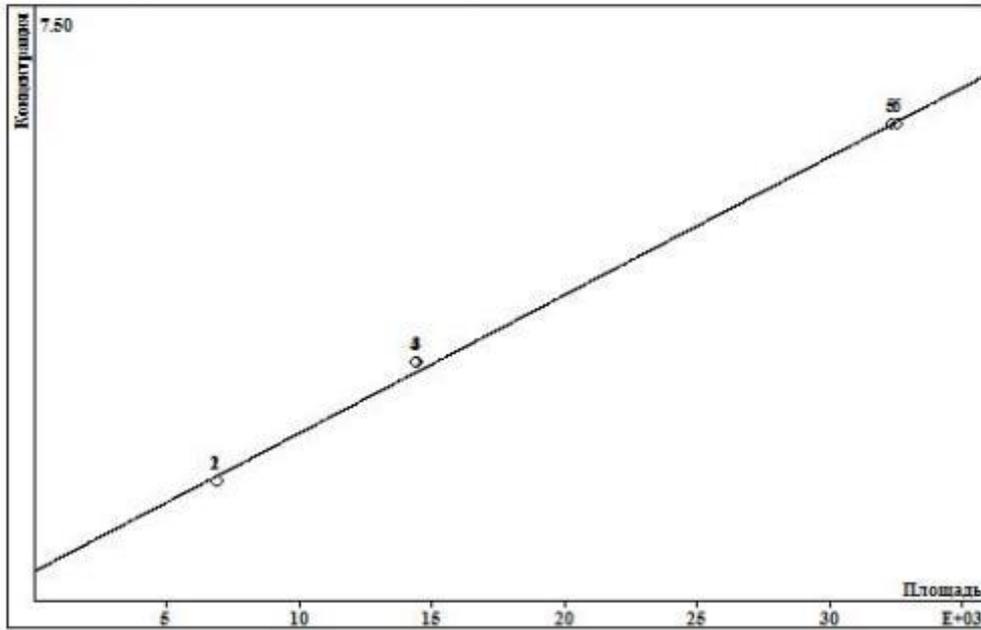
Метод расчета: Заказной
 Стандарт: силимарин

No	Время мин	Высота mAU	Площадь mAU*сек	K'	Разрешение n, n+1	TT	Конц. мг/мл	
1	1.644	-4.31	-2.16	0.00	2.40	243844	0	
2	1.841	461.64	2611.40	0.00	1.44	2370	0	
3	2.073	22.66	123.39	0.00	1.49	3268	0	
4	2.323	25.84	181.43	0.00	1.22	2466	0	
5	2.558	244.88	1825.06	0.00	1.50	2645	0	
6	2.938	2458.87	26583.28	0.00	1.12	1671	0	
7	3.235	147.08	1173.99	0.00	1.33	3669	0	
8	3.612	73.38	847.65	0.00	2.01	2206	0	
9	4.307	2511.75	33369.19	0.00	1.20	2377	6.188	силимарин
10	4.723	863.39	10294.32	0.00	3.10	3550	0	
11	5.602	76.85	740.98	0.00	0.00	7630	0	
11	10.02	6890.64	77752.85	0.00		25063	6.188	

ГРАДУИРОВКА И ФОРМУЛЫ
 ОБЩИЕ ПАРАМЕТРЫ ГРАДУИРОВКИ

Градуировочный график для силимарина.

ГРАДУИРОВКА ДЛЯ КОМПОНЕНТА: силимарин
 Градуировочная зависимость: $Q = 0.00347955 \cdot A + 7.65087$
 SKO: 2.824
 Коэффициент корреляции: 0.999069



K3 = 0.000000 K2 = 0.000000 K1 = 0.003480 K0 = 7.650871
 Стандартная добавка: Нет
 Отклик: Площадь
 Опорный канал: Поглос.
 Станд.компонент: силимарин
 формула: Линейный
 Стат.вес: нет

Точка	Высота	Площадь	Конц.	Объем	Время	Исп. файл
1	567.6	6845	1.5	20	4.126	Да 120502113243a~011~00b~02
2	554.9	6894	1.5	20	4.126	Да 120502114716a~021~00b~02
3	1213	1.445e+004	3	20	4.126	Да 120502110504a~031~00b~02
4	1177	1.437e+004	3	20	4.126	Да 120502105405a~041~00b~02
5	2657	3.238e+004	6	20	4.126	Да 120502120018a~051~00b~02
6	2644	3.257e+004	6	20	4.126	Да 120502121925a~061~00b~02

Определение гепатопротекторной активности препарата «Гепасейф». Схема
опыта

Препарат	Вид животного	Концентрация препарата, мг/мл	Масса животного, г	Доза мг/кг	Количество препарата, мл	Доза мл/кг
1 группа (контроль)						
Парацетамол	Мыши	100	21,2	500	0,106	5
Парацетамол	Мыши	100	30,17	500	0,15	5
Парацетамол	Мыши	100	30,1	500	0,15	5
Парацетамол	Мыши	100	30,25	500	0,15	5
Парацетамол	Мыши	100	30,33	500	0,15	5
Парацетамол	Мыши	100	21,6	500	0,106	5
Парацетамол	Мыши	100	21,4	500	0,106	5
Парацетамол	Мыши	100	21,9	500	0,106	5
Парацетамол	Мыши	100	31,0	500	0,15	5
Парацетамол	Мыши	100	31,2	500	0,15	5
Примечание: таблетки парацетамола 0,5 г суспендировали в 5 мл дистиллированной воды для орального введения.						
2 группа (опыт)						
Гепасейф	Мыши	2,4	25,8	5	0,05	2,08
Парацетамол		100		500	0,129	5
Гепасейф	Мыши	2,4	33,1	5	0,068	2,08
Парацетамол		100		500	0,16	5
Гепасейф	Мыши	2,4	27,4	5	0,057	2,08
Парацетамол		100		500	0,137	5
Гепасейф	Мыши	2,4	35,6	5	0,074	2,08
Парацетамол		100		500	0,178	5
Гепасейф	Мыши	2,4	25,5	5	0,05	2,08
Парацетамол		100		500	0,129	5
Гепасейф	Мыши	2,4	33,3	5	0,07	2,08
Парацетамол		100		500	0,16	5
Гепасейф	Мыши	2,4	27,6	5	0,06	2,08
Парацетамол		100		500	0,138	5
Гепасейф	Мыши	2,4	35,7	5	0,074	2,08
Парацетамол		100		500	0,178	5
Гепасейф	Мыши	2,4	25,3	5	0,05	2,08
Парацетамол		100		500	0,129	5
Гепасейф	Мыши	2,4	25,6	5	0,05	2,08
Парацетамол		100		500	0,129	5

Продолжение приложения 4

3 группа (опыт)						
Карсил	Мыши	0,5	15,3	5	0,153	10
Парацетамол		100		500	0,076	5
Карсил	Мыши	0,5	15,9	5	0,159	10
Парацетамол		100		500	0,0795	5
Карсил	Мыши	0,5	16,5	5	0,165	10
Парацетамол		100		500	0,08	5
Карсил	Мыши	0,5	13,1	5	0,131	10
Парацетамол		100		500	0,06	5
Карсил	Мыши	0,5	15,7	5	0,159	10
Парацетамол		100		500	0,79	5
Карсил	Мыши	0,5	15,6	5	0,159	10
Парацетамол		100		500	0,79	5
Карсил	Мыши	0,5	16,9	5	0,165	10
Парацетамол		100		500	0,08	5
Карсил	Мыши	0,5	16,3	5	0,165	10
Парацетамол		100		500	0,08	5
Карсил	Мыши	0,5	16,7	5	0,165	10
Парацетамол		100		500	0,08	5
Карсил	Мыши	0,5	15,9	5	0,159	10
Парацетамол		100		500	0,79	5

Примечание: Карсил разводили водой из расчета 10 мг на 2 мл дистиллированной воды (получали взвесь) для орального введения

Изучение терапевтической эффективности гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении кошек с хроническим гепатитом.

Контрольная группа, получавшая препарат «Гепатовет»

№	Кличка,возраст	Анамнестические и клинические данные	Диагноз	Время лечения
2478	Кошка «Лиза» 11 лет	Отказ от корма и воды. Рвота белой пеной, иногда темно зеленой массой. Стул кашицеобразный, темный. Т = 38,8°C, слизистые розовые, при пальпации болезненность в области правого подреберья.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
2654	Кот «Вискас» 9 лет	Отказ от корма и воды, слабость, однократно рвота желтой слюью. Т= 39,0°C. Слизистые имеют желтушный оттенок. Болезненности в области правого подреберья не выявлено.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3064	Кот «Марсик» 8 лет	Ест только с рук, насильно, воду пьет. Рвота 1 - 2 раза в день белой пеной, иногда темно-зеленой массой. Слабость. Т = 38,9°C, слизистые анемичные, при пальпации брюшная стенка напряжена умеренно, безболезненна.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
2641	Кошка «Мурка» 15 лет	Отказ от корма. Пьет воду. В течение 7 дней рвотные позывы, рвоты нет. Т = 38,5°C, слизистые имеют желтоватый оттенок, живот мягкий. Сильное выпадение волос, слабый зуд по всей поверхности тела.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3843	Кот «Викинг» 12 лет	В течение 2 недель вялый, аппетит снижен, воду не пьет. Рвота 2 -3 раза в неделю, утром, желтовато-зеленоватой массой. Т = 37,5°C, слизистые анемичны, кахексия.	хронический гепатит в стадии обострения	17 дней
3762	Кот «Шефилд» 10 лет	Аппетит избирательный. Рвота белой пеной, зеленой массой. Стул нормальный, темный. Т = 38,8°C, слизистые анемичные, при пальпации болезненность в области правого подреберья.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3596	Кот «Пушок» 12 лет	Отказ от корма и воды. Вялый. Рвота белой пеной. Т = 38,4°C, слизистые розовые, сильное выпадение шерсти, зуд	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3542	Кошка «Дуся» 13 лет	Отказ от корма, воду пьет. Рвота в течение недели 1-3 раза в день зеленой массой. Т = 38,2°C, слизистые розовые, при пальпации болезненность в области правого подреберья.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3407	Кошка «Марго» 10 лет	Слабость, вялая, избирательный аппетит. Периодически рвота белой пеной, живот мягкий. Стул кашицеобразный. Т = 38,4°C, слизистые желтушные	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3502	Кот «Крош» 8 лет	2 дня не ест, рвота белой пеной со слюью, часто позывы к рвоте. Т = 39,0°C, слизистые розовые, при пальпации брюшная стенка напряжена.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней

Изучение терапевтической эффективности гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении кошек с хроническим гепатитом. Опытная группа, получавшая лечение с препаратом «Гепасейф»

№	Имя возраст	Анамнестические и клинические данные	Диагноз	Время лечения
2889	Кошка «Шкода» 9 лет	Аппетит избирательный. Рвота белой пеной, иногда темно зеленой массой. Стул нормальный, темный. T = 38,9°C, слизистые анемичные, при пальпации болезненность в области правого подреберья.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3127	Кошка «Белка» 13 лет	Отказ от корма и воды. Вялая. Рвота белой пеной. T = 38,3°C, слизистые розовые, сильное выпадение шерсти, расчесы.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3516	Кот «Дымок» 14 лет	Отказ от корма, воду пьет. Рвота в течение недели 1-2 раза в день белой пеной, иногда темно зеленой массой. T = 38,0°C, слизистые розовые, при пальпации болезненность в области правого подреберья.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
2919	Кошка «Люся» 10 лет	Слабость, вялый избирательный аппетит. Периодически рвота белой пеной. Стул кашицеобразный. T = 38,5°C, слизистые желтушные, живот мягкий.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3100	Кот «Мелвин» 9 лет	Два дня не ест, рвота белой пеной со слизью, часто позывы к рвоте. T = 39,0°C, слизистые розовые, при пальпации брюшная стенка напряжена, болезненность в области правого подреберья.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
2399	Кошка «Соня» 12 лет	Отказ от корма и воды. Рвота белой пеной. Стул кашицеобразный, темный. T = 38,7°C, слизистые розовые, при пальпации болезненность в области правого подреберья.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
2345	Кот «Мурзик» 10 лет	Отказ от корма и воды, слабость, однократно рвота желтой слизью. T= 38,9°C. Слизистые имеют желтушный оттенок. Болезненности в области правого подреберья нет.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
3528	Кот «Хан» 9 лет	Ест только с рук, насильно, воду пьет. Рвота 1 -3 раза в день белой пеной, иногда темно зеленой массой. Слабость. T = 38,6°C, слизистые анемичные, при пальпации брюшная стенка напряжена умеренно.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
2941	Кошка «Леди» 14 лет	Отказ от корма. Пьет воду. В течение 7 дней рвотные позывы, рвоты нет. T = 38,4°C, слизистые имеют желтоватый оттенок, живот мягкий. Зуд по всей поверхности тела. Сильное выпадение волос.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней
2849	Кот «Вася» 15 лет	Болеет 1,5 недели - вялый, аппетит снижен, воду не пьет. Рвота 2 -3 раза в неделю, утром, желтовато-зеленоватой массой. T = 37,8°C, слизистые анемичны, кахексия.	хронический гепатит в стадии обострения	15 дней

Изучение терапевтической эффективности гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении собак с острым бабезиозным гепатитом. Контрольная группа, получавшая препарат «Гепатовет»

№	Кличка возраст	Анамнестические и клинические данные	Диагноз	Лечение	Время лечения
4100	Собака «Лиза» 4 года б/п 21 кг	Болеет 4 дня, вялая, отказ от корма, вчера была рвота, с утра подволакивает тазовые конечности. Слизистые анемичны. T = 39,1°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,0 мл п/к однократно Эссенциале 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 15,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 3 мл, 2 раза в день 15 дней Метилурацил 1 по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	15 дней
4416	Собака «Боня» 6 лет такса 10 кг	Болеет 4 дня. Сняли клеща, не ест 2 дня, много пьет, сильная анемия слизистых оболочек. T = 39,8°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,5 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 2 мл, 2 раза в день 15 дней Метилурацил ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	15 дней
4094	Собака «Тимоша» 1,2 года пекинес 7 кг	Болеет 3 дня, вялый, аппетит слабый, слизистые анемичны, стул жидкий, моча темного цвета T = 40,0°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,3 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 2 мл, 2 раза в день 15 дней Метилурацил ½ по табл. внутрь 2 раза в день 14 дней	15 дней
581	Собака «Ларс» 1,5 года колли 20 кг	Болеет 3 дня, отказ от корма, слабость, желтушность слизистых, рвота однократно, одышка T =	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,0 мл п/к однократно Эссенциале 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 15,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней	15 дней

		39,8°C		«Гепатовет» по 3 мл, 2 раза в день - 15 дней Метилурацил 1 по табл внутри 2 раза в день 14 дней	
2650	Собака «Марли» 5 лет лабрадор 36 кг	Болеет 5 дней, отказ от корма, одышка, желтушность слизистых оболочек Т = 37,9°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,7 мл п/к однократно Эссенциале 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 20,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 4 мл, 2 раза в день 15 дней Метилурацил 1 ½ по табл внутри 2 раза в день 14 дней	15 дней
3530	Собака «Джек» 2,5 года пекинес 6,8 кг	Болеет 4 дня, вялый, отказ от корма, дыхание тяжелое, слизистые анемичны Т = 39,3°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,3 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 2 мл, 2 раза в день 15 дней Метилурацил ½ по табл внутри 2 раза в день 14 дней	15 дней
3010	Собака «Чарли» 2 года б/п 22 кг	Болеет 3 дня, отказ от корма и воды, моча бурая. Слизистые желтушны. Т = 40,1°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,0 мл п/к однократно Эссенциале 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 15,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 3 мл, 2 раза в день - 15 дней Метилурацил 1 по табл внутри 2 раза в день 14 дней	15 дней
2999	Собака «Гретта» 3 года Н.О. 35 кг	Болеет 5 дней, слабость, одышка, анорексия, однократно рвота, слизистые анемичны Т = 38,9°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,7 мл п/к однократно Эссенциале 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 20,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 4 мл, 2 раза в день - 15 дней Метилурацил 1 ½ по табл внутри 2 раза в день 14 дней	15 дней
3436	Собака «Тайфун» 2 года САО 69	Болеет 2 дня, подволакивает тазовые конечности, отказ от	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 3,7 мл п/к однократно Эссенциале 7,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 7,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней	15 дней

	кг	еды, вялый, слизистые анемичны T = 40,8°C		Глюкоза 40 % 25,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 5 мл, 2 раза в день - 15 дней Метилурацил по 2 табл внутрь 2 раза в день 14 дней	
3222	Собака «Артемон» 6 года пудель 11 кг	Болеет 4 дня, почти не встает, рвота, слизистые желтушны, моча бурая T = 40,1°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,5 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней «Гепатовет» по 2 мл, 2 раза в день - 15 дней Метилурацил ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	15 дней

При проведении данного лечения выраженное улучшение состояния у трех животных наступало через 5 дней у одного животного через 7 дней.

Изучение терапевтической эффективности гепатопротекторного препарата «Гепасейф» при лечении собак с острым бабезиозным гепатитом. Опытная группа, получавшая лечение с препаратом «Гепасейф»

№	Имя возраст	Анамнестические и клинические данные	Диагноз	Лечение	Время лечения
3986	Собака «Чапик» 1,5 года пекинес 6,6 кг	Болеет 3 дня, вялый, отказ от корма, тяжело дышит, слизистые анемичны Т = 38,9°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,3 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 0,6 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней
5439	Собака «Малыш» 3 года б/п 23 кг	Болеет 5 дней, отказ от корма и воды 1 день, моча бурая. Слизистые желтушны. Т = 40,5°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,0 мл п/к однократно Эссенциале 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 15,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 2,0 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил 1 по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней
2221	Собака «Гера» 2,5 года Н.О. 34 кг	Болеет 4 дня, слабость, постоянно лежит, аппетит слабый, однократно рвота, слизистые анемичны Т = 39,9°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,7 мл п/к однократно Эссенциале 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 20,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 2,5 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил 1 ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней
68	Собака «Ася» 3 года CAO 74 кг	Болеет 3 дня, встает с трудом, отказ от еды, вялая, слизистые анемичны Т = 41,1°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 3,7 мл п/к однократно Эссенциале 7,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 7,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 25,0 в/в 1 раз в день 5 дней	14 дней

				Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 6,0 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил по 2 табл внутрь 2 раза в день 14 дней	
3965	Собака «Рени» 4 года пудель 12 кг	Болеет 5 дней, почти не встает, рвота и жидкий стул 2 раза, сняли клеща, слизистые желтушны, моча бурая T = 40,8°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,5 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 1,0 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней
4263	Собака «Альма» 5 лет б/п 22 кг	Болеет 3 дня, вялая, отказ от корма, вчера была рвота, с утра подволакивает тазовые конечности. Слизистые анемичны. T = 39,9°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,0 мл п/к однократно Эссенциале 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 15,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 2,0 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил 1 по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней
4298	Собака «Лис» 3 года такса 9,5 кг	Болеет 5 дней. Сняли клеща, не ест 2 дня, много пьет, сильная анемия слизистых оболочек. T = 39,2°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,5 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 1,0 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней
4002	Собака «Мотя» 1,5 года пекинес 6 кг	Болеет 2 дня, вялый, аппетит слабый, слизистые анемичны, стул жидкий, моча бурая T = 41,0°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 0,3 мл п/к однократно Эссенциале 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 5,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 1,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 0,6 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней
4312	Собака «Эми» 1,5 года колли 19 кг	Болеет 5 дней, отказ от корма, слабость, желтушность слизистых, рвота однократно, затрудненное	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,0 мл п/к однократно Эссенциале 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 3,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней	14 дней

		дыхание T = 39,2°C		Глюкоза 40 % 15,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 2,0 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил 1 по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	
4789	Собака «Рома» 3,5 года ретривер 34,5 кг	Болеет 4 дня, отказ от корма, рвота, желтушность слизистых оболочек T = 37,8°C	Бабезиоз Гепатит	Пиро-стоп 1,7 мл п/к однократно Эссенциале 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Рибоксин 5,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Глюкоза 40 % 20,0 в/в 1 раз в день 5 дней Аскорбиновая кислота 2,0 мл в/в 1 раз в день 5 дней Гепасейф по 2,5 мл в/м 1 раз в день 7 дней Метилурацил 1 ½ по табл внутрь 2 раза в день 14 дней	14 дней

При проведении лечения, данный препарат назначался 7 дней, хотя видимое улучшение клинического состояния у 4 животных наблюдалось уже через 2 дня.



Мы, нижеподписавшиеся представители ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова» доктор ветеринарных наук, зав. кафедрой «Терапия, акушерство и фармакология» Волков А.А., профессор кафедры Староверов С.А., ассистент кафедры «Паразитологи, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза» Авдеенко А.В. с одной стороны, и представители учхоза РГАУ-МСХА «Муммовское» Аткарского района Саратовской области гл. ветеринарный врач Романов Александр Михайлович, гл. зоотехник Бушкин Сергей Игоревич, бригадир по свиноводству Симакова Зоя Макаровна составили настоящий акт в том, что в период 3.10.13 по 19.10.13 гг. в результате проведения научно-исследовательских работ, в учхозе РГАУ-МСХА «Муммовское» Аткарского района Саратовской области проведено клиническое испытание, апробация и внедрение гепатопротекторного инъекционного препарата «Гепасейф» производства ООО «НВЦ Агроветзащита» в свиноводстве.

Объектами исследований являлись 30 голов поросят (порода «Дюрок», в возрасте 35 – 40 дней. Средняя живая масса животных составляла 8-9 кг.

Было сформировано две опытных группы поросят, больных токсической гепатодистрофией и одна контрольная группы из клинически здоровых поросят по 10 голов в каждой.

Новый инъекционный гепатопротекторный препарат «Гепасейф» вводили пороссятам 1 опытной группы (1,0 мл на животное внутримышечно, ежедневно, 7 суток). Препарат сравнение «Катозал» вводили пороссятам 2 опытной группы в качестве основного лечебного препарата (2,5 мл на животное внутримышечно, ежедневно, 7 суток). Поросятам 3-й группы лечение не оказывалось. Животные всех групп находились в аналогичных условиях кормления и содержания.

В процессе работы у всех животных ежедневно проводили определение клинического статуса, при этом основное внимание обращали

на состояние пищеварительной системы и в частности печени, симптомы интоксикации и обезвоживания организма. О полном выздоровлении животных в группах судили по исчезновению клинических признаков болезни, восстановлению аппетита, динамике лабораторных показателей. Контрольное взвешивание экспериментальных животных проводили в 1 и последний день исследования, а также у 5-ти поросят из каждой группы брали пробы крови для исследований. При этом проводили общий клинический анализ крови и определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, общего билирубина, щелочной фосфатазы, активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), гаммаглутамилтрансферазы (γ -ГТФ). Исследования крови проводили по соответствующим методикам. В случаях падежа животных проводили патологоанатомическое вскрытие. Патологический материал от павших животных для бактериологических, микологических и токсикологических исследований отбирали в соответствии с существующими инструкциями и рекомендациями, и направляли в областную ветеринарную лабораторию для исследований. Фекалии от больных животных исследовали для исключения инвазионных заболеваний. В ответах, полученных из лабораторий, было указано, что возбудителей острых бактериальных инфекций не выявлено, и при копроскопическом исследовании были исключены инвазионные заболевания поросят.

Таблица 1 - Схема титрации доз и кратности применения «Гепасейф» и препарата сравнения «Катозал»

Группа	Препарат	Доза, мл	Кратность	Путь введения	Примечание
1	«Гепасейф»	1	1 р/д	в/м	7 дней
2	«Катозал»	2,5	1 р/д	в/м	7 дней
3	Контроль	Клинически здоровы, лечение не проводилось.			

Клинически гепатодистрофия у поросят проявлялась общим угнетением, периодическим кратковременным разжижением кала, который приобретал светло-коричневую окраску, мышечной слабостью, иногда судорогами, рвотой, анарексией, в некоторых случаях акроцианозом. Больные животные отставали в росте и развитии от здоровых поросят данного возраста. При проведении ОКА крови у больных поросят наблюдалось повышение концентрации гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов и замедление СОЭ, очевидно, за счет сгущения крови вследствие развития диарейного синдрома. Вышеуказанные данные подтверждала и лейкограмма крови экспериментальных животных. Так, у больных животных наблюдалась нейтрофилия с простым регенеративным сдвигом ядра влево, моно- и лимфоцитоз.

При биохимическом исследовании крови у больных поросят наблюдались гипоальбуминемия, гиперхолестеринемия, гипербилирубинемия и гипергликемия, увеличение активности АсАТ, АлАТ

и γ -ГТФ, что свидетельствовало о повышенной реакции паренхимы печени больных поросят на интоксикацию и поражение гепатоцитов.

Результаты клинических исследований показали, что препарат «Гепасейф» показал более высокую терапевтическую эффективность по сравнению с препаратом «Катозал». Индивидуальный учет продолжительности болезни показал, что при лечении препаратом «Гепасейф» клинические симптомы болезни у 30 % больных животных исчезали в течение пяти, а у 70% - шести суток с момента их появления.

Вышеприведенные данные подтверждали и терапевтическая эффективность способов лечения. Так, в 1-й группе она составила 100 %, а во 2-й группе 80 %.

Патологоанатомическое вскрытие трупов павших в течение эксперимента поросят показало, что в группе с применением препарата «Катозал» наблюдалось поражение печени, желудка, кишечника.

Температура, частота сердечных сокращений и дыхания у экспериментальных животных до лечения, на протяжении и после лечения изменений находились в пределах референтных величин, без значительных изменений. Живая масса поросят 1 группы (препарат «Гепасейф») в течение 10 дней возросла с $9,5 \pm 1,5$ кг до $12,3 \pm 1,8$ кг ($P < 0,001$), и среднесуточный прирост в этой группе составил 310 г. У животных 2 опытной группы (препарат «Катозал») живая масса возросла с $9,4 \pm 1,3$ кг до $10,9 \pm 1,5$ кг ($P < 0,05$), среднесуточный прирост в этой группе составил 170 г, у контрольной группы животных среднесуточный прирост составил 391 г.

Таблица 2 - Динамика гематологических и биохимических показателей крови при токсической дистрофии печени у поросят

Показатель	Ед. изм.	1 группа		2 группа		Контроль
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	
Лейкоциты	х10 ⁹ /L	18,92±1,2	10,61±1,0	18,98±1,2	14,52±1,1	15,4±1,2
Эритроциты	х10 ¹² /L	6,71±0,11	5,84±0,1	7,03±0,1	5,68±0,1	5,38±1,3
Гемоглобин	g/L	109,5±0,5	92,5±2,6	107,6±2,4	104,8±1,9	110±3,1
Гематокрит	%	48±1,1	37±0,9	47±0,8	42±1,2	38±0,9
СОЭ	мм/ч	1,7±0,2	3,4±0,1	1,6±0,1	2,8±0,1	0,3±0,1
Общий белок	г/л	78±1,6	76±1,4	81±1,8	77±1,3	76±1,8
Альбумин	г/л	24,76±1,2	35,56±1,1	24,78±1,	27,1±1,5	32±1,2
Глюкоза	Мм/л	6,02±0,3	3,5±0,2	5,74±0,7	3,8±0,1	4,7±0,9
Билирубин общий	Мкм/л	13,17±0,5	6,75±0,1	12,94±0,4	11,76±0,3	8,2±0,6
АлАТ	Е/л	76±1,6	51±1,4	78±1,4	69±1,3	34±1,2
АсАТ	Е/л	84±1,6	74±1,9	81±1,9	78±2,1	38±1,5
Щелочная фосфатаза	Е/л	128±2,4	112±2,1	132±2,9	118±2,6	112±2,8
Холестерин	Мм/л	4,61±0,1	2,09±0,1	4,23±0,3	3,59±0,5	2,8±0,1

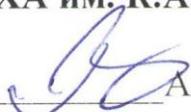
Результаты исследования крови показали сходные результаты. Концентрация гемоглобина, число эритроцитов, лейкоцитов снижались и к 10 суткам достигали значения референтных величин. Концентрация гемоглобина к 10 суткам лечения снижалась с 108,4±0,59 г/л до 81,2±2,65 г/л, число эритроцитов – с 6,95±0,114×10¹²/л до 3,92±0,14×10¹²/л, количество лейкоцитов – с 19,01±0,25×10⁹/л до 10,79±0,06×10⁹/л, также наблюдалось повышение СОЭ с 1,8±0,21 мм/ч до 3,5±0,11 мм/ч. Это говорит о восстановлении жидкостной части крови у исследуемых поросят. Аналогичные показатели крови поросят 2 группы выявили некоторую нормализацию процессов, но в меньшей степени, по отношению к 1 опытной группе. В лейкограмме крови у поросят к 10 дню лечения наблюдалось снижение палочкоядерных нейтрофилов с 13,9±0,62% до 7,3±0,30% в 1 группе, а также с 15,8±0,68% до 8,3±0,25 во 2 группе. Наблюдалось также снижение моноцитов у поросят 1 группы в 4 раза, у 2 группы в 2 раза. У всех подвергшихся лечению животных наблюдался умеренный лимфоцитоз, что является характерной особенностью для данного возраста поросят и технологии их выращивания. Значительные изменения были выявлены при биохимическом исследовании крови. Так, у поросят 1 группы на 10 сутки лечения концентрация альбуминов составила 46,5 %, а у поросят 2 группы – 33,5%. Также наблюдалось снижение концентрации холестерина у поросят 1 группы с 4,72±0,170 ммоль/л до 2,03±0,0240 ммоль/л. У поросят, которым в качестве лечения использовали «Катозал», концентрация холестерина не снижалась, а наоборот выросла, и к

девятым суткам составила $4,48 \pm 0,53$ ммоль/л. В процессе лечения у всех животных опытных групп наблюдалась тенденция снижения концентрации глюкозы в сыворотке крови: у поросят, которым применяли препарат «Гепасейф», с $5,99 \pm 0,330$ ммоль/л до $3,3 \pm 0,23$ ммоль/л, у животных, которым применяли «Катозал» с $5,68 \pm 0,77$ ммоль/л до $3,9 \pm 0,03$ ммоль/л. Высокие гепатопротекторные свойства препарата «Гепасейф», а также значительные компенсаторные свойства паренхимы печени приводили к нормализации пигментного обмена в печени. В результате концентрация общего билирубина в 1 группе снижалась с $13,09 \pm 0,610$ мкмоль/л до $6,57 \pm 0,170$ мкмоль/л. При этом указанный показатель животных 2 группы под воздействием лечения практически не изменялся, что говорит о недостаточной терапевтической эффективности препарата «Катозал» при данной патологии. Также в процессе лечения было установлено снижение интенсивности цитолиза и ускорение репаративных процессов у поросят 1 группы по сравнению с поросятами 2. Так, уровень АсАТ в 1 группе снижался на 32,3 %, АлАТ – на 11,5 %, ГГТФ – на 34 %, это говорит о снижении уровня интоксикации и восстановлении всех функций печени. У животных 2 группы данные показатели на протяжении лечения практически не отличались от таковых до лечения.

Заключение. На основании проведенных исследований можно заключить, что препарат «Гепасейф» обладает высокими детоксикационными, гепатопротективными свойствами и является эффективным средством патогенетической терапии при лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией.

Представители:

ФГУП «Учхоз «Муммовское»
МСХА им. К.А. Тимирязева»


_____ А.М. Романов

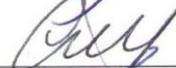

_____ С.И. Бушкин


_____ З.М. Симакова

Представители:

ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ
им. Н. И. Вавилова»


_____ А.А. Волков


_____ С.А. Староверов


_____ С.В. Козлов