

Козлов Сергей Васильевич

**НОВЫЕ МЕТОДЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ И
ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ У
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И МЕЛКИХ НЕПРОДУКТИВНЫХ
ЖИВОТНЫХ**

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора ветеринарных наук

Саратов 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»

Научные консультанты: **Волков Алексей Анатольевич**
доктор ветеринарных наук

Официальные оппоненты: **Мерзленко Руслан Александрович**
доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО
Белгородский ГАУ им. В.Я. Горина, профессор
кафедры инфекционной и инвазионной патологии

Беляев Валерий Анатольевич
доктор ветеринарных наук, ФГБОУ ВО
«Ставропольский государственный аграрный
университет» профессор кафедры терапии и
фармакологии

Пронин Валерий Васильевич
доктор биологических наук, профессор, ФГБУ
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
ФГБУ «ВНИИЗЖ», руководитель центра
доклинических исследований

Ведущая организация ФГБОУ ВО Московская государственная академия
ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени
К.И. Скрябина

Защита состоится «__» _____ 2018 года в __ часов на заседании диссертационного
совета Д 220.061.01 на базе Федерального государственного образовательного учреждения
высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»
по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколовая, 335, учебный комплекс № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ им. Н.И.
Вавилова» и на сайте www.sgau.ru

Отзывы направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 410012, г.
Саратов, Театральная площадь, д. 1. e-mail: vetdust@mail.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2018 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Егунова Алла Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Обеспечение населения продуктами питания животного происхождения отечественного производства является одним из основных пунктов, продовольственной безопасности нашей страны который напрямую зависит от здоровья животных. По статистическим данным последних лет наибольшую долю от всех патологий домашних животных составляют заболевания незаразной этиологии (Ш.М. Абдулаев, 1985, Ю.Н. Алехин, 2011, А.В. Жаров, Ю.П. Жарова, 2012). Это объясняется негативным воздействием промышленных и природных токсинов, лекарственных средств, вирусов, бактерий, простейших, гельминтов. Так же следует отметить роль в развитие незаразной патологии нерационального содержания животных к которому можно отнести неудовлетворительные условия содержания, несбалансированность рациона животных по питательным веществам, макро-, микроэлементам и витаминам. Анализируя работы, проводимые в данном направлении можно отметить, что под влиянием вышеперечисленных факторов поражается прежде всего гепатобилиарная система (И. И. Калюжный, Н. Д. Баринов, 2013, Н.И. Кузнецов, 1990, 1998, Е.В. Кузьмина, 2006). И экономический ущерб, наносимый гепатопатиями складывается из снижения молочной продуктивности коров (на 15-26 %), уменьшения прироста живой массы (на 10-15 %), выбраковки каждой 8-10-й печени, ухудшения качества мяса.

По данным статистики, патологии печени занимают до 25% от всех незаразных болезней животных. (И.Ф. Хазимухаметова, 2009, Б.В. Уша и др., 2011, Н.А. Фердман, 2007, С.Н. Жерлицын, 2016, Н.Б. Демина, 2007, В.И. Десятник и др. 2000, В.В. Емельянов, И.З. Севрюк, 2005, А.В. Жаров, В.Д. Илеиш, 1996). Однако несмотря на такой высокий процент выявления данной патологии, к сожалению, практикующие ветеринарные врачи нередко сталкиваются с проблемой отсутствия эффективных и при этом доступных по цене ветеринарных гепатопротекторных препаратов.

К наиболее перспективным препаратам, отвечающим требованиям современной гепатологии можно отнести флавоноиды, выделяемые из лекарственного растения расторопши пятнистой, поскольку они обладают гепатопротекторным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и антиканцерогенным действием. (V. Kren, D. Walterova, 2005, Е.В. Луценко, 2008, И.Г. Никитин, 2007).

Так как, поиск перспективных методов фармакологической коррекции поражений печени с использованием инновационных лекарственных средств является весьма актуальной проблемой. То предметом наших исследований стала разработка и внедрение в ветеринарную практику эффективных и доступных по цене ветеринарных гепатопротекторных препаратов, а также разработка на их основе схем лечения.

Цель исследования. Разработка комплекса лечебно-профилактических

мероприятий при патологиях гепатобилиарной системы у животных с использованием новых лекарственных гепатопротекторных препаратов силимарина на основе коллоидных частиц и полимерных матриц (мицелл).

Задачи исследования

1. Разработать комплекс лечебно-профилактических мероприятий при патологии животных у животных с применением новых лекарственных форм силимарина на основе коллоидных частиц и полимерных матриц, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок;

2. Разработать и стандартизировать новые лекарственные препараты силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц (мицелл);

3. Изучить физико-химические, биодинамические и фармако-токсикологические свойства новых лекарственных препаратов силимарина;

4. Дать сравнительную оценку гепатопротекторной активности новых лекарственных препаратов силимарина в экспериментах на изолированных гепатоцитах (*in vitro*) и лабораторных животных (*in vivo*);

5. Изучить характер морфологических изменений, возникающих в ткани печени под воздействием разработанных новых лекарственных препаратов силимарина;

6. Изучить специфическую гепатопротекторную активность новых лекарственных препаратов силимарина при патологии печени у крупного рогатого скота;

7. Изучить специфическую гепатопротекторную активность новых лекарственных препаратов силимарина при патологии печени у молодняка свиней;

8. Изучить специфическую гепатопротекторную активность новых лекарственных препаратов силимарина при патологии печени у плотоядных (собак).

Научная новизна. Впервые разработаны и стандартизированы новые лекарственные формы силимарина на основе полимерных матриц (Пат. № 2504347) и конъюгатов с нано частицами селена (Пат. № 2557987, Пат. № 2645092) и золота для лечения заболеваний печени у животных. Впервые изучены физико-химические, биодинамические и общетоксические свойства новых лекарственных форм силимарина. Впервые изучена роль наночастиц селена и золота, в усилении гепатопротекторных свойств силимарина при дегенеративных поражениях печени у животных. Впервые определено гепатопротекторное действие новых лекарственных форм силимарина на лабораторных моделях и установлен характер морфологических изменений, возникающих в ткани печени под воздействием разработанных лекарственных препаратов. Впервые установлена терапевтическая эффективность новых лекарственных форм силимарина при лечении собак больных гепатитом, поросят с токсической дистрофией печени и при гепатозе у коров. Впервые разработан комплекс лечебно-профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у продуктивных животных с применением разработанных новых лекарственных форм силимарина, а также препаратов, стимулирующих

процесс регенерации и витаминных кормовых добавок.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы состоит в том, что в работе была изучена роль металлических и неметаллических наночастиц, как носителей лекарственных веществ к органам мишеням, были рассмотрены механизмы взаимодействия комплексов наночастиц конъюгированных с гепатопротектором – силимарином, как с гепатобилиарной, так и ретикулоэндотелиальной системой организма. Создан комплексный подход применения препаратов на основе коллоидных частиц металлической и неметаллической природы при лечении и профилактике заболеваний печени. Изучена роль наночастиц в формировании биодинамики лекарственного вещества и использование комплекса наночастиц в прерывании патологического процесса.

Практическая значимость работы состоит в том, что для лечения патологий печени предложены новые гепатопротекторные, инъекционные лекарственные формы силимарина на основе мицелл и нано частиц селена и золота. В экспериментальной работе установлены параметры токсичности новых лекарственных форм силимарина, получены сведения о их переносимости и безопасности. Установлено, что разработанные лекарственные формы силимарина обладают высокой биодоступностью, не обладают местнораздражающими и аллергизирующими свойствами, по степени воздействия на организм согласно ГОСТ 12.1.007 относятся к 4 классу опасности – веществам малоопасным, не обладают сенсibiliзирующим действием. Установлено гепатопротекторное действие новых лекарственных форм силимарина на изолированных гепатоцитах (*in vitro*) и лабораторных животных (*in vivo*). Доказана безопасность применения новых лекарственных форм силимарина на целевых животных. Установлена терапевтическая эффективность применения новых лекарственных форм силимарина при лечении заболеваний печени у поросят, коров и мелких домашних животных (собак). Предложены схемы применения разработанных лекарственных форм силимарина, что позволяет рекомендовать их применение практической ветеринарной службе в животноводстве и клинической практике лечения мелких домашних животных. Определена экономическая эффективность и целесообразность применения разработанных лекарственных форм силимарина при лечении заболеваний печени у поросят, коров и мелких домашних животных (собак). Установлено, что наиболее эффективной является новая лекарственная форма силимарина, конъюгированного с нано частицами селена. Наиболее целесообразной дозой препарата при лечении животных с заболеваниями печени является дозировка 0,1 мл/кг массы животного. Терапевтическая эффективность новой лекарственной формы силимарина, конъюгированного с нано частицами селена составляет 100%.

Методология и методы исследований. Методологической основой выполнения работы явилось изучение современных способов коррекции патологических процессов гепатобилиарной системы представленные в работах В.И. Десятник (1990, 2000), Я.И. Гонского (1996), А.И. Венгеровского (1999), Л.Ф. Виноградовой (2000), В.Н. Денисенко (2002), В.В. Давыдова (2004), Л.Р. Королёвой

(2005), Н.Б. Деминой (2007), В.З. Ланкина (2007), Е.В. Душкина (2008), М.А. Джавахян (2012), И.И. Калюжного (2010, 2012, 2015), М.С. Ларькиной (2011), И.А. Никулина (1999, 2002, 2005, 2008, 2013).

Предмет исследований включал состояние гомеостаза организма животных, физико-химические, биодинамические и общетоксические свойства разработанных гепатопротекторных лекарственных препаратов. Их терапевтическая эффективность при патологических состояниях печени у сельскохозяйственных и мелких непродуктивных животных. Кровь лабораторных животных, коров, поросят и собак. Клинические, морфологические, биохимические исследования.

Объектом исследований явились коровы 2 - 3 периода лактации, плотоядные (собаки), поросята отъемного периода. Лабораторные животные (белые нелинейные мыши, мыши линии BALb/c, белые нелинейные крысы, кролики, морские свинки), гепатопротекторные препараты на основе полимерных матриц, наночастиц селена и золота конъюгированные с силимарином.

Методика исследований основана на применении современного сертифицированного оборудования. Исследования проводились с использованием клинических, гематологических, иммунологических и биохимических методов.

Основные положения, выносимые на защиту:

- разработка новых лекарственных форм силимарина на основе коллоидных частиц и полимерных матриц;
- физико-химические, биодинамические и общетоксические свойства новых лекарственных форм силимарина;
- оценка гепатопротекторной активности разработанных лекарственных препаратов в экспериментах на изолированных гепатоцитах (in vitro) и лабораторных животных (in vivo);
- морфологические изменения, возникающие в ткани печени под воздействием разработанных лекарственных препаратов;
- специфическая гепатопротекторная активность разработанных препаратов при лечении гепатитов у собак, поросят с токсической дистрофией печени, при гепатозе у коров;
- комплекс лечебно-профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у животных с применением разработанных препаратов, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а клинические, диагностические и экспериментальные исследования проведены на современном сертифицированном оборудовании. Достоверность полученных результатов проанализирована и подтверждается статистической обработкой данных.

Материалы исследований, полученные в ходе выполнения диссертации, были

представлены и обсуждались на международных, всероссийских научно-практических конференциях: профессорско-преподавательского состава и аспирантов Саратовского государственного аграрного университета имени Н.И. Вавилова в 2006-2017 гг.; «Агроэкологическое состояние АПК: опыт, поиски, решения» (Саратов, 2005); на VI, VII, VIII, IX, X «Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития» (Саратов, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010 гг.); Международной научно-практической конференции, посвященной 15-летию Саратовского регионального института переподготовки и повышения квалификации руководящих кадров и специалистов АПК (Саратов, 2006); на Юбилейной международной научно-практической конференции ветеринарных терапевтов и диагностов, посвященной 90-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РСФСР, академика РАЕ, доктора ветеринарных наук профессора А. А. Кабыша «Современные проблемы ветеринарной терапии и диагностики болезней животных» (Троицк, 2007 г.); «Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития» (Саратов, 2010); «Актуальные проблемы современной ветеринарии» (Краснодар, 2011); «От теории – к практике: вопросы современной ветеринарии, биотехнологии и медицины» (Саратов, 2011); «Ветеринарная медицина 21 века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития» (Саратов, 2012); на Международной научно-практической конференции посвящённой 100-летию «СГАУ им. Н.И. Вавилова» «Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии», (Саратов, 2013); «Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии» (Саратов, 2014); «Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии» (Саратов, 2016).

Личный вклад соискателя. В работе представлены данные по исследованиям, проведенным в период с 2006 по 2017 годы. В ходе работы разработан ряд лекарственных средств, направленных на повышение устойчивости печени к действию патогенных факторов, нормализацию функциональной активности и стимуляцию регенерационных процессов в ней. Проведена их сравнительная терапевтическая эффективность. Определен наиболее перспективный препарат для лечения и профилактики патологий гепатобилиарной системы у животных. Разработан комплекс лечебно-профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у животных. Основная часть клинико-экспериментальных работ, а также систематизация и анализ полученных результатов выполнены автором лично.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 67 научных работ, которые отражают основное содержание диссертации. Из них 13 статей в рецензируемых научных журналах, включённых в Перечень ВАК Минобрнауки РФ, 5 в изданиях, включённых в базу данных Scopus и Web of Science. На основании результатов научных исследований выданы 8 патентов РФ на изобретения. Общий объем составляет 20,4 п.л., в том числе 10 п.л. принадлежит лично соискателю.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 357 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 и 19 приложений. Список литературы содержит 390 источников, в том числе 174 иностранных. Работа содержит 88 таблиц, 45 иллюстраций.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований. Работа выполнялась в период с 2006 по 2017 годы на кафедре «Болезни животных и ветеринарно–санитарная экспертиза» факультета «Ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий» ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова».

Ряд исследований были выполнены на базе СарНИВИ-филиал ФГБНУ ФИЦВиМ и ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ИБФРМ РАН)

Научно-производственные исследования проводились в условиях сельскохозяйственных предприятий: учебно – опытном хозяйстве «Муммовское» ФГБОУ ВПО «Российский ГАУ - МСХА им. К.А. Тимирязева» Аткарского района, Саратовской области; ООО «Птицефабрика «Симбирская», с. Поповка, Чердаклинского района, Ульяновской области; КФХ «Давыдов» Петровского района Саратовской области; ЛПХ «Абдулаев», Петровского района, Саратовской области. А также ветеринарных клиник для животных «Doctor-Vet» г. Саратов.

Экспериментальная часть диссертационной работы делилась на семь последовательных этапов, представленных на рисунке 1.

На первом этапе исследований нами были сконструированы стабильные образцы инъекционных форм силимарина на основе мицелл (Пат. № 2504347) и наночастиц (селена (Пат. № 2557987, Пат. № 2645092) и золота). Для конструирования препаратов использовали коммерческий силимарин («TEVA Czech Industries s.r.o.», Чехия).

Второй этап включал изучение физико-химических свойств разработанных препаратов. Диаметр (d) синтезированных наночастиц измеряли с использованием трансмиссионного электронного микроскопа Libra 120 («Carl Zeiss,» Германия) и методом динамического рассеяния света (ДРС) на анализаторе Zetasizer Nano-ZS («Malvern», Великобритания), как описано (N.G. Khlebtsov, L.A. Dykman, 2010). Для анализа концентрации силимарина в полученных препаратах был проведен хроматографический анализ на жидкостном хроматографе «Стайер», с использованием спектрофотометрического детектора А288, для разделения использовали колонку OnixMonolithic C 18.

На третьем этапе были проведены исследования по изучению общетоксических свойств разработанных лекарственных препаратов на лабораторных животных и подтверждение безопасности их применения сельскохозяйственным и мелким непродуктивным животным.

Оценку общетоксического действия на лабораторных животных проводили

согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010 г.) и методическим указаниям (А.Н. Миронов, 2012). Эксперименты на животных проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986).

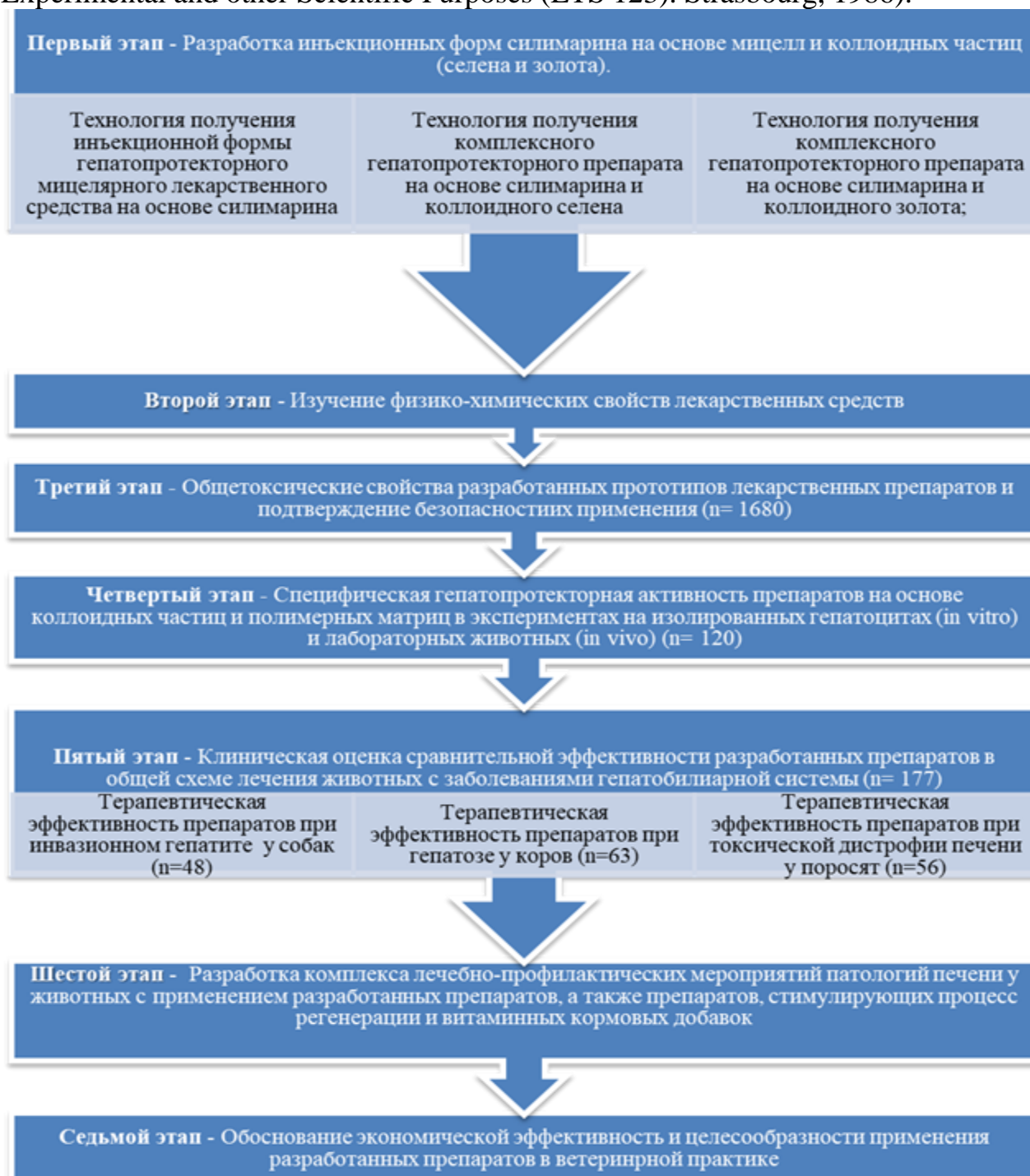


Рисунок 1 – Схема экспериментальных исследований

На четвертом этапе проводили оценку специфической гепатопротекторной активности разработанных нами препаратов на основе коллоидных частиц и полимерных матриц в экспериментах на изолированных гепатоцитах (*in vitro*) и лабораторных животных (*in vivo*).

Для изучения гепатопротекторных свойств полученных препаратов проводили исследование на культуре изолированных гепатоцитов. Культуры клеток были получены по методике, описанной в «Current Protocols in Cell Biology» (Wiley John, 2003) в нашей модификации. Выделение гепатоцитов проводили из печени крыс под общим наркозом. В среду для инкубации которых вносили исследуемые препараты в дозе 0,01 мг/мл по действующему веществу (салимарину) и гепатотоксин (тетрахлорметан) в дозе 2 ммоль.

В качестве гепатотоксина использовали тетрахлорметан (CCl₄). Оценка дыхательной активности изучали по способности клеток восстанавливать нитротетразольный синий до формазана в МТТ-тесте по методике, описанной (Т. Bernas, 2000) Целостность клеточных мембран оценивали по активности трансаминаз (АЛТ, АСТ, ЛДГ) в среде инкубации.

Для определения гепатопротекторных свойств исследуемых препаратов салимарина на основе полимерных матриц и наночастиц (селена и золота) (*in vivo*) были сформированы по принципу аналогов 5 групп белых нелинейных мышей (n=60). Объем четыреххлористого углерода для провокации гепатита вводился в 50% летальной дозе. Эвтаназию животных осуществляли методом транслокации шейных позвонков под эфирным наркозом, с последующим взятием биологических материалов.

На пятом этапе были проведены научно-производственные эксперименты по изучению терапевтической эффективности разработанных препаратов салимарина на основе коллоидных частиц и полимерных матриц при гепатозе у коров. При токсической дистрофии у поросят начального периода дорастивания. Изучена терапевтическая эффективность при лечении собак с вторичным инвазионным гепатитом.

Коров с признаками гепатоза (n=63) разделили на 4 группы 3 опытных и 1 контрольную. Критериями включения в группу явились характерные признаки дистрофического поражения печени.

Оценку терапевтической эффективности препаратов салимарина на основе наночастиц (селена и золота) и полимерных матриц при лечении собак с вторичным инвазионным гепатитом выполняли в ветеринарной клинике Doctor vet, г. Саратов. В исследование были включены 48 собак с диагнозом острый вторичный (бабезиозный) гепатит (32 самца и 16 самок в возрасте от 8 мес., до 6 лет разных пород, живой массой от 1,0 до 17,0 кг) пришедшие на прием в ветеринарную клинику. Критерием отбора в группу для исследований являлось наличие симптомов поражения гепатобилиарной системы и установленного на основании клинико-лабораторных исследований диагноза бабезиоз, гепатит.

Испытания препаратов салимарина на основе наночастиц и полимерных

матриц на поросятах начального периода доращивания с диагнозом токсическая гепатодистрофия. Для этого было сформировано 4 группы поросят начального периода доращивания в возрасте 35 – 40 дней, по 14 животных в каждой, с признаками токсической дистрофии печени. Живая масса на начало эксперимента составила 12-14 кг.

Животные всех групп получали одинаковую базовую терапию. Животным первой опытной группы в качестве гепатопротекторного препарата назначали коммерческий препарат сравнения согласно инструкции по применению. Животным второй опытной группы – мицеллярный силимарин (СилимаринМ) из расчета 0,1 мл/кг массы тела, внутримышечно. Животным третьей опытной группы – силимарин конъюгированный с наночастицами селена (СилимаринКС) из расчета 0,1 мл/кг массы тела, внутримышечно. Животным четвертой опытной группы – силимарин конъюгированный с наночастицами золота (СилимаринКЗ) из расчета 0,1 мл/кг массы тела, внутримышечно.

На шестом этапе нашей работы проведена апробация новой мицеллярной инъекционной формы на основе метилурацила (заявка на изобретение RU 2015122674, решение о выдаче патента 13.03.2017 г.) в разработке которого мы принимали непосредственное участие. А также витаминной кормовой добавки «Волстар» в схеме лечения токсической дистрофии печени у поросят. На основании полученных результатов разработан комплекс лечебно-профилактических мероприятий патологий печени у животных с применением инъекционных лекарственных форм препаратов силимарина, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок.

Изучение профилактической эффективности комплексной схемы у животных с патологией печени проводили на поросятах начального периода доращивания в возрасте 35 – 40 дней. Комплексная схема включала применение разработанных нами препаратов: Двукратное введение препарата силимарина в дозе 0,1 мл/кг, до отъема и через 7 суток после отъема. В те же сроки введение инъекционного метилурацила в дозе 0,1 мл/кг. И выпаивание с водой витаминного комплекса «Волстар» с первых суток после отъема, в дозе 0,5 мл/кг, 3 дня.

Седьмой этап включал обоснование экономической эффективности и целесообразности применения разработанных препаратов в ветеринарной практике.

Гематологические исследования крови проводили на гематологическом анализаторе MicroCC-20Vet, НТИ(США). Для оценки функционального состояния печени использовались следующие биохимические показатели: уровень общего белка и его фракций сыворотки крови, глюкозу, общий и прямой билирубин. Ферментный спектр крови включал определение активности аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой аминотрансфераз (АСТ), щелочной фосфатазы. Биохимические исследования проводили на биохимическом анализаторе «StatFax 3300», с помощью стандартных наборов реагентов ЗАО «Диакон ДС». Измерение концентраций железа и общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) проводили на биохимическом анализаторе «ВА-88А Mindray», с помощью стандартного набора

реагентов для определения концентрации железа (с Ференом) в сыворотке, плазме крови по ТУ 9398-030-09807247-2009 и набора реагентов для определения общей железосвязывающей способности сыворотки крови по ТУ 9398-050-09807247-2010, ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS». Концентрацию глутатиона определяли по методике, описанной (M.Y. Liu, 2010). Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного триметилового комплекса (ТМК), имеющего максимум поглощения при 532 нм, на спектрофотометре Genesis 10S-UV-VIS (USA). Активность глутатионпероксидазы определяли по методике, описанной (B.C. Бузлама и др., 1997). Определение концентрации ферритина в сыворотке крови коров проводили методом твердофазного иммуноанализа с применением фаговых и поликлональных антител по методике описанной (The usage of phage mini-antibodies as a means of detecting ferritin concentration in animal blood serum / Staroverov S.A., Fomin A.S., Mezhenyuy P.V., Kozlov S.V., Larionov S.V., Guliy O.I., Volkov A.A., Dykman L.A., Laskavuy V.N., Fedorov M.V. // Journal of Immunoassay and Immunochemistry. 2015. T. 36. № 1. С. 100-110.).

Статистическую обработку полученных результатов проводили по стандартным процедурам, с помощью приложения Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp. USA) и пакета статистического анализа данных StatPlus 2009 professional 5.8.4 for Windows (StatSoft Inc., USA). По результатам вычисления среднеарифметического (M) и стандартного отклонения ($\pm SD$) для выборки определяли стандартную ошибку среднеарифметического ($\pm SEM$) и границы его доверительного интервала с учетом коэффициента Стьюдента $t(n, p)$ при уровне значимости 95 % ($p = 0,05$) и числе измерений n .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

Технология получения препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц. На первом этапе нашей работы были сконструированы стабильные образцы инъекционных форм силимарина на основе мицелл и наночастиц (селена и золота):

1. Водно-дисперсный гепатопротекторный препарат, представляющий собой комплекс изомерных биофлавоноидных соединений из лекарственного растения расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L.). В качестве активноедействующего вещества исследуемый препарат содержит силимарин – 12 мг, дополнительного активноедействующего вещества витамин Е – 2 мг, в качестве органического растворителя 1-метил-2-пирролидон – 0,22 мл, солубилизатора кремофор – 0,08 мл, консерванта - бензиловый спирт – 0,01 мл, и соразтворитель - воду для инъекции – до 1 мл.

2. Инъекционный препарат силимарина конъюгированного с наночастицами селена, содержащий в качестве активноедействующих веществ силимарин (концентрация 5,76 мг/мл) и наночастицы селена (0,24 мг/мл).

3. Инъекционный препарат силимарина конъюгированного с наночастицами золота, содержащий в качестве активноедействующего вещества

силимарин (концентрация 0,08 мг/мл) и наночастицы золота (164,163 мкг/мл).

Изучение физико-химических свойств препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц.

Согласно данным, полученным методом ДРС, размер частиц в препарате СилимаринМ составил от 7,5 до 15 нм, в препарате СилимаринКС 43 -110 нм и в препарате СилимаринКЗ был получен наименьший размер частиц от 6,5 до 13,5 нм (Рисунок 2).

Диаметр наночастиц в препаратах силимаринана конъюгированных с наночастицами селена и золота определяли с использованием трансмиссионного электронного микроскопа (TEM) Libra 120 (Carl Zeiss, Germany). Результаты представлены на рисунке 3.

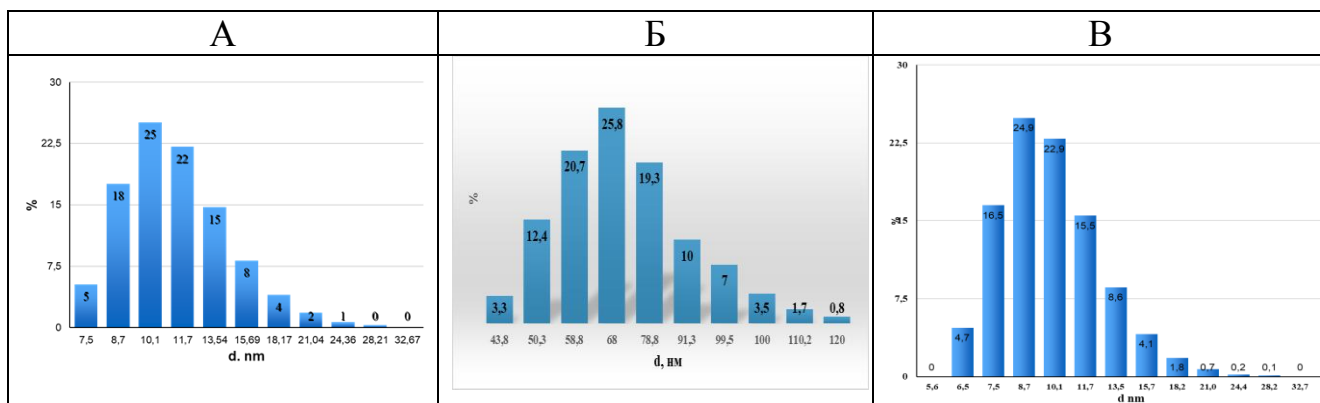


Рисунок 2 - Распределение наночастиц по размерам в препаратах СилимаринМ (А), СилимаринКС (Б) и СилимаринКЗ (В) по данным определения динамического рассеяния света (анализатор Zetasizer Nano-ZS, «Malvern», Великобритания).

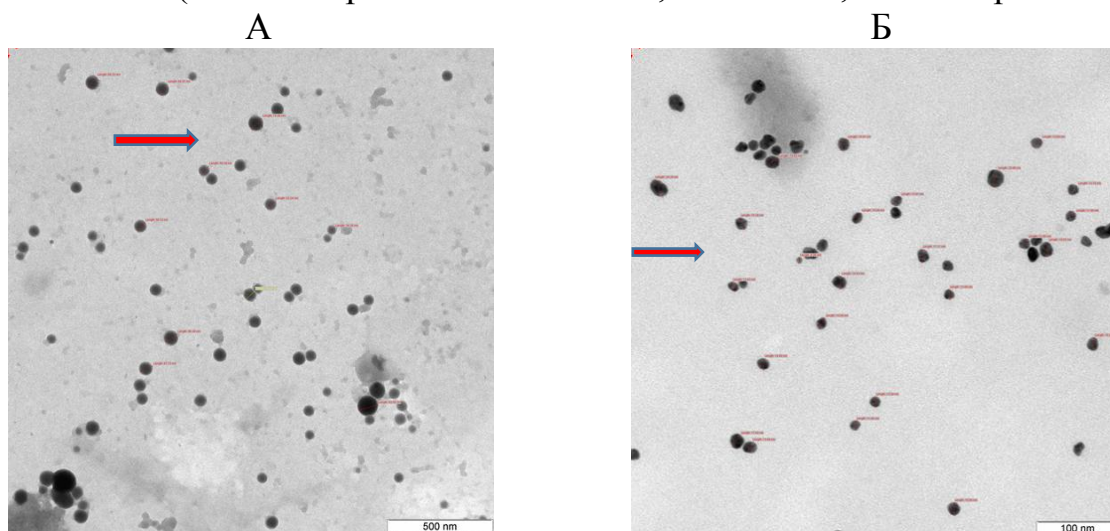


Рисунок 3 - Электронно-микроскопическое изображение наночастиц (отмечены стрелками) в конъюгате силимарина с селеном (А) и силимарина с золотом (Б) (наночастицы отмечены стрелками).

Результаты трансмиссионной электронной микроскопии подтвердили данные полученные в ходе определения диаметра методом динамического рассеяния света.

Таким образом, достигнутая стабилизация коллоидных систем селена и золота с силимарином сопровождается высокой дисперсностью (уменьшением значений d), характерным для коллоидных систем подобного типа.

Наряду с этим, анализ преципитата на ZetasizerNanoZS показал, что дзета-потенциал системы водно-дисперсионного препарата силимарина равен - 43,9 мВ, силимарина с селеном - 31,4 мВ и силимарина с золотом - 40,8 мВ, что свидетельствует о достаточно высокой стабильности всех образцов.

Изучение общетоксического действия препаратов силимарина на основе коллоидных частиц и полимерных матриц на лабораторных животных. При изучении общетоксического действия разработанных нами препаратов средне смертельная доза при внутрижелудочном введении белым нелинейным мышам для мицеллярного раствора силимарина (СилимаринМ) составила 16879 ± 5956 мг/кг. Для препаратов на основе коллоидных частиц селена (СилимаринКС) и золота (СилимаринКЗ) средне смертельную дозу установить не удалось, так как максимально возможные дозы для орального введения не привели к гибели ни одного животного.

Согласно общепринятой гигиенической классификации ГОСТ 12.1.007-76, все препараты относятся к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

При изучении субхронической токсичности препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц установлено, что после курсового парентерального введения животным один раз в день, в течение 14 дней значимых отличий в физиологических и биохимических показателях у животных подопытной и контрольной группы не наблюдалось.

Согласно межгосударственному стандарту ГОСТ ISO 10993-10—2011 лекарственные препараты водно-дисперсионный раствор силимарина (СилимаринМ), силимарин конъюгированный с наночастицами селена (СилимаринКС), силимарин конъюгированный с наночастицами золота (СилимаринКЗ) обладают слабой степенью ответной реакции на раздражение у кроликов, не обладают аллергизирующим и иммунотоксическим действием на организм животных.

Изучение специфической гепатопроекторной активности препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц в экспериментах на культуре изолированных гепатоцитов (in vitro) печени крыс. Для проведения эксперимента были приготовлены образцы препаратов «СилимаринМ», «СилимаринКС» и «СилимаринкЗКЗ» в питательной среде для инкубации гепатоцитов с концентрацией 0,1 мг/мл по лекарственной форме. В качестве гепатотоксина использовали 2 ммоль раствор тетрахлорметана (CCl₄). (А.Н. Миронов, 2012). В среду для инкубации гепатоцитов вносили исследуемые препараты в дозе 0,1 мг/мл по лекарственной форме и гепатотоксин (тетрахлорметан) до концентрации 2 ммоль. Каждую концентрацию повторяли 6 раз. При анализе полученных данных установлено, что внесение лекарственных препаратов на основе коллоидных частиц (силимарин КС и силимарин КЗ) и

полимерных матриц (силимаринМ) в дозе 0,1 мг/мл препятствует гепатотоксическому действию CCl₄ (Рисунок 4).

В образцах с отрицательным контролем отмечается снижение дыхательной активности клеток на 25% по сравнению с интактной колонией гепатоцитов в питательной среде. Кроме того, в образцах, содержащих только препарат коллоидный селен и силимарин без токсина, отмечается достоверное увеличение дыхательной активности гепатоцитов на 29% по сравнению с контролем.

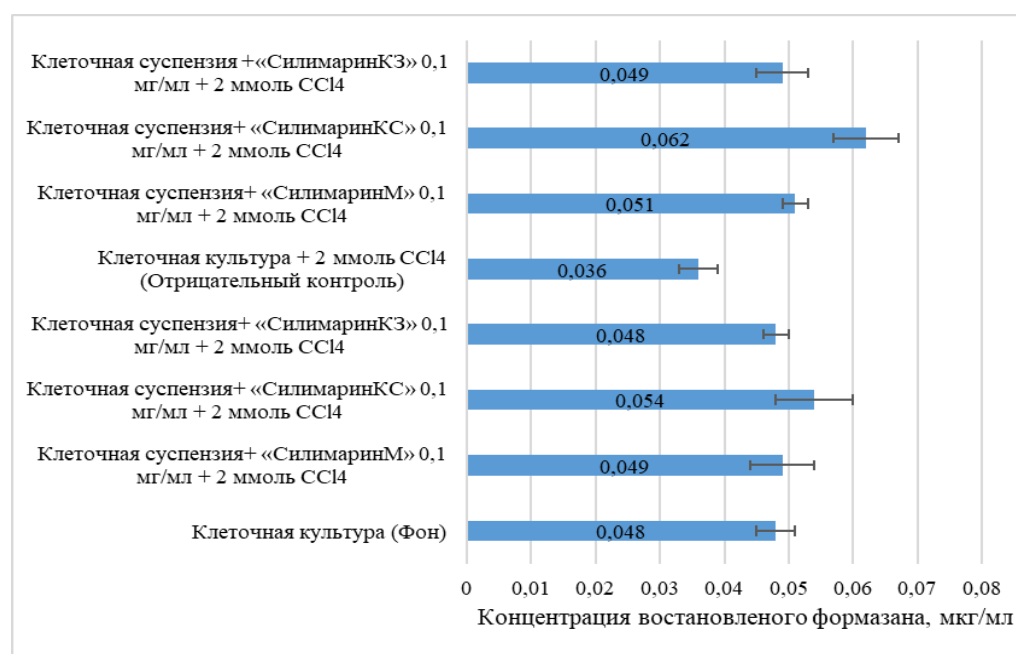


Рисунок 4 - Дыхательная активность гепатоцитов

внесением гепатотоксина. Вместе с этим наблюдается повышение активности аланиновой трансаминазы (АЛТ) и в среде инкубации (в среднем на 70 %), в пробах где наряду с гепатотоксином вносили испытуемые препараты, что достоверно ниже, чем в отрицательном контроле.

Таблица 1 – Активность ферментов цитолиза в среде для инкубации гепатоцитов

Название образца	АЛТ, Е/л	АСТ, Е/л	ЛДГ, Е/Л
Клеточная культура (Фон)	28±2,4	18±1,6	238±12
Клеточная суспензия + «СилимаринМ» + 2 ммоль CCl ₄	41±3,2*	29±2,1*	316±15*
Клеточная суспензия + «СилимаринКС» + 2 ммоль CCl ₄	39±3,6*	25±2,8*	301±18*
Клеточная суспензия + «СилимаринКЗ» + 2 ммоль CCl ₄	43±3,1*	28±2,3*	319±25*
Клеточная культура + 2 ммоль CCl ₄	97±4,2*	69±5,3*	562±32*
Клеточная суспензия + «СилимаринМ» 0,1 мг/мл	25±2,8	17±1,8	243±21
Клеточная суспензия + «СилимаринКС» 0,1 мг/мл	29±2,4	21±1,6	229±18
Клеточная суспензия + «СилимаринКЗ» 0,1 мг/мл	28±1,9	16±2,0	241±12

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,57)

В результате определения активности ферментов в среде инкубации установлено (таблица 1) повышение активности аланиновой аминотрансферазы (в 3 раза относительно фоновых значений) в клеточной суспензии с

Тогда как внесение в инкубационную среду препаратов не оказывало влияния на активность данного фермента. Аналогичная динамика прослеживалась и в ходе определения активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

На основании этого можно заключить, что разработанные препараты обладают гепатопротекторным эффектом, препятствуют разрушению гепатоцитов при поражении клеток токсическим веществом (CCl₄).

Изучение гепатопротекторных свойств препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц при индуцированном тетрахлорметаном экспериментальном гепатите проводили на белых нелинейных мышах. В ходе изучения гепатопротекторных свойств смертность лабораторных животных за 7 дней эксперимента, составила в первой группе 50%, во второй, - 10 %, в четвертой опытной группе – 20 %, в третьей группе животных гибели не отмечалось и в пятой (фоновой) признаков интоксикации и гибели животных не наблюдали.

При анализе гематологических показателей по окончании эксперимента, установлено достоверное снижение общего количества лейкоцитов у животных первой группы, которым вводили токсикант без проведения терапевтических мероприятий, по сравнению с контрольными (фоновыми) мышами. Данный факт указывает на посттравматическое истощение иммунной системы. Вместе с этим количество лейкоцитов у животных 2 и 4 группы, которым в течение 6 дней вводили препарат СилимаринМ и СилимаринК3 соответственно, было несколько выше, чем в 5 (фоновой) группе животных.

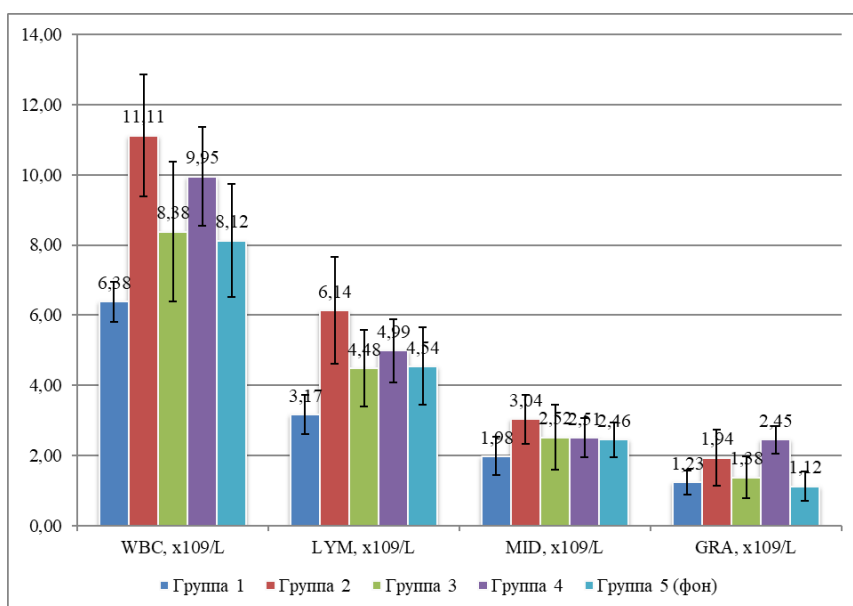


Рисунок 5 – Динамика изменений количества лейкоцитов периферической крови мышей

печени, которые утилизируются лейкоцитами (рисунок 5).

Тогда как в третьей опытной группе мышей, которым в качестве гепатопротекторного средства вводили препарат СилимаринК3, гематологические показатели не отличаются от таковых у фоновых мышей. Что является следствием антиоксидантного влияния селена, который препятствует накоплению продуктов перекисного окисления липидов, способствуя восстановлению глутатиона, а также апоптозу клеточных элементов

Анализ биохимических показателей сыворотки крови животных после окончания эксперимента (Таблица 2) показал достоверное снижение индикаторных ферментов печени во всех группах животных. Данный факт указывает на восстановление структурно-функциональных свойств гепатоцитов, снижение воспалительно-деструктивных процессов в печени.

Таблица 2 - Биохимические показатели сыворотки крови мышей

Показатели	АЛТ, Е/л	АСТ, Е/л	Глюкоза, ммоль/л	Белок общий, г/л	Альбумин, г/л	Глобулин, г/л
Группа 1	64,5±2,0	205±47	5,3±1,6	64,9±6	20,2±2*	44,7±5*
P	0,71	0,12	0,12	0,51	0,003	0,01
Группа 2	60,3±1,5	206,8±53	5,4±1,47	56,9±3,6*	24,8±4,03*	32,1±5
P	0,95	0,12	0,1	0,0005	0,0009	0,33
Группа 3	49,4±2,9	173,4±33	6,7±3,73	95,8±25*	52,5±14,5*	43,2±13*
P	0,35	0,75	0,99	0,001	0,0003	0,04
Группа 4	90,4±13*	248±62*	9,5±1,48*	56±5,29*	37,2±3,3	18,8±4*
P	0,04	0,007	0,002	0,0008	0,01	0,001
Группа 5 (фон)	61,6±2,7	172,9±4	6,5±1,49	67,2±5,1	32,7±3,2	34,5±3,8

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,26)

В третьей опытной группе животных, которым применяли с терапевтической целью СилимаринКС, отмечали достоверное повышение общего белка и его фракций, относительно фоновых животных, что может быть следствием синергизма силимарина и селена, способствующих повышению компенсаторных факторов организма на действие ксенобиотика.

При оценке массы печени животных (Рисунок 6) по окончанию эксперимента отмечается положительная динамика изменений коэффициента массы печени во всех опытных группах животных.

При анализе концентрации глутатиона в печени опытных животных после завершения эксперимента концентрация глутатиона (рисунок 7) резко снижается у животных, которым лечение не применялось.

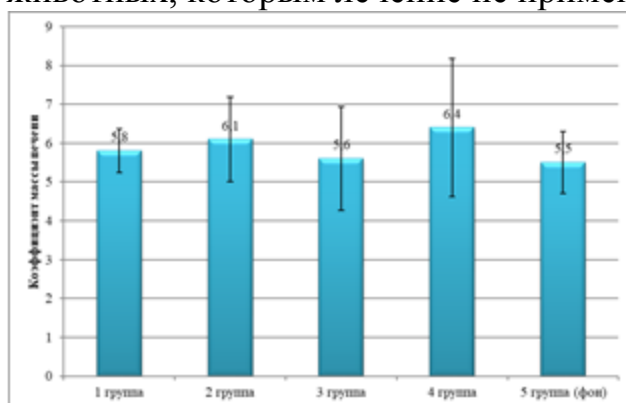


Рисунок 6 - Коэффициенты массы печени мышей

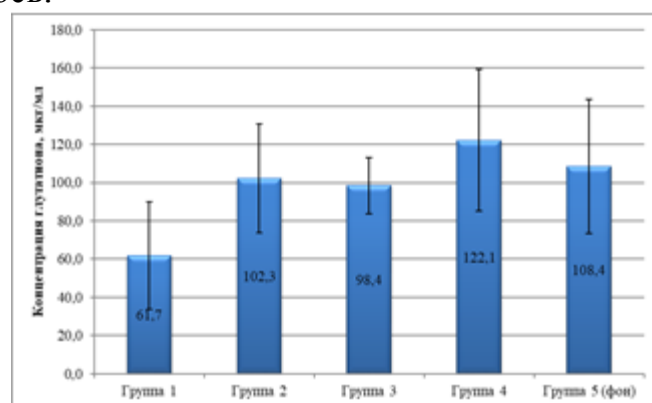


Рисунок 7 - Концентрация глутатиона в печени мышей

Данный факт указывает на закономерное истощение глутатиона в ответ на окислительный стресс, вызванный введением гепатотоксина. Вместе с этим, в

группах мышей которым применяли препараты силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) концентрация глутатиона была достоверно выше, чем в первой группе и находилась на одном уровне с интактными животными. Это объясняется тем, что силибинин входящий в состав препаратов обладает ярко выраженными антиоксидантными свойствами, что препятствует истощению глутатиона в гепатоцитах в ответ на воздействие ксенобиотика.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили гепатопротекторные свойства новых лекарственных гепатопротекторных препаратов на основе коллоидных частиц и полимерных матриц при острой патологии печени, вызванной токсическим действием тетрахлорметана.

Применение препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц при жировой дистрофии печени у коров. Изучение терапевтической эффективности препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц при гепатозе у коров проводились в условиях животноводческого хозяйства.

В результате проведения диспансерного обследования поголовья в конце зимне-стойлового периода у 63 коров 2 – 3 периода лактации были выявлены признаки нарушения функциональной активности печени. Коров с признаками гепатоза разделили на 4 группы 3 опытных и 1 контрольную. Критериями включения в группу явились характерные признаки дистрофического поражения печени. В качестве гепатопротекторного средства животным первой контрольной группы назначали коммерческий препарат Антитокс, согласно инструкции по применению в дозе 20,0-40,0 мл, на животное, 6 дней подряд. В опытных группах животных в качестве гепатопротекторных средств применяли разработанные нами препараты силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц в терапевтической дозе 100 мг/кг по лекарственной форме внутримышечно ежедневно в течение 6 дней.

После начала эксперимента улучшение клинического состояния животных наблюдали на 5-7 день после назначения лечебных мероприятий. Общеклинические показатели не имели выраженных отличий между опытными и контрольной группами животных. Вместе с этим при анализе гематологических показателей (таблица 3) через 7 суток после отмены гепатопротекторов установлена положительная динамика увеличения гемоглобина и эритроцитов во всех группах животных. Хотя показатели оставались ниже фоновых значений. К 30 суткам эксперимента гематологические показатели в опытных группах коров достигали фоновых значений.

Через 14 суток после начала эксперимента во всех опытных группах животных отмечалась положительная динамика биохимических показателей сыворотки крови. К 30 суткам эксперимента во всех опытных группах животных биохимические показатели сыворотки крови достигли фоновых значений и достоверно от них не отличались.

Таблица 3 - Гематологические показатели крови коров

Группы	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV
	x10 ⁹ /L	x10 ¹² /L	g/L	%	fl
До начала эксперимента					
Норма	4-12	5,0-10	80-150	30,1-50,1	40-60
1 контрольная (n=16)	9,2±2,21	6,5±0,49*	82,7±13,56	25,3±4,42*	35,8±2,09*
2 опытная (n=16)	11±2,06	7,4±0,65*	85,5±7,38	26±1,95*	36,1±1,34*
3 опытная (n=16)	10,9±1,5	6,9±1,24*	76,5±15,64	23,3±5,11*	33,6±1,88*
4 опытная (n=15)	9,4±2,35	7,4±1,02*	83,3±10,76	23,9±3,5*	34,7±2,21*
Фон (n=79)	9,3±0,79	8,1±0,81	118,3±12,61	35,8±1,7	42,8±2,17
Через 14 суток					
1 контрольная (n=16)	8±1,7	8,2±0,73	104,3±13,63	32,2±4,83	39,3±6,36
2 опытная (n=16)	9,4±2,35	8,4±1,02	103,3±10,76	31,9±3,5	38±4,2
3 опытная (n=16)	8±1,7	8,2±0,73	104,3±13,63	32,2±4,83	39,3±6,36
4 опытная (n=15)	10,3±1,25	7,3±0,69	84,8±10,21*	33,7±3,06	45±3,59*
Фон (n=79)	9,5±1,84	8,6±0,54	116,2±8,02	35,5±1,87	41,4±1,96
Через 30 дней					
1 контрольная (n=16)	9,9±1,12	8,3±0,75	111,4±5,14	38±1,7	43,5±3,04
2 опытная (n=16)	9,2±1,44	8,6±0,41	111,3±5,32	37,8±1,73	42,8±2,76
3 опытная (n=16)	12,1±4,54	9±0,58	115,9±6,95	38,2±2,48	43,9±2,68
4 опытная (n=15)	9,8±1,57	8,4±0,84	117±4,75	39,3±3,48	41,9±2,18
Фон (n=79)	9,4±1,34	9,1±0,45	122,1±6,01	40,3±1,7	44,5±2,06

*Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной группой и фоновыми значениями, ** между опытными группами животных (P ≤ 0,05 при t критическом 2,10)*

Учитывая тот факт, что при исследовании морфологического состава крови у животных опытных групп на фоне гепатоза отмечалась микроцитарная анемия, которая как известно по большей части связана с дефицитом железа. Хотя концентрация последнего в сыворотке крови у опытных животных на протяжении всего опыта находилась в пределах физиологических границ и не отличалась от клинически здоровых животных.

Нами были проведены исследования по изучению динамики сывороточного ферритина. В ходе исследования установлено достоверное повышение ферритина (Рисунок 8) в сыворотке крови подопытных животных выше фоновых значений. Что может быть вызвано повышенным его синтезом вследствие накопления в печени липидов низкой плотности, а также как результат реакции острой фазы воспаления, где ферритин играет важную роль в ингибировании внеклеточных протеаз, модуляции функции иммунных клеток, нейтрализации и очищении от вредоносных веществ.

В результате проведения лечения уже к 14 дню наблюдается положительная динамика снижения ферритина в сыворотке крови всех групп животных. Однако, у животных 3 опытной группы который в качестве гепатопротекторного средства

назначали СилимаринКС, данный показатель достиг значений клинически здоровых животных.

Это может быть связано с включением селена в метаболический цикл, что способствовало усилению детоксикационной функции гепатоцитов.

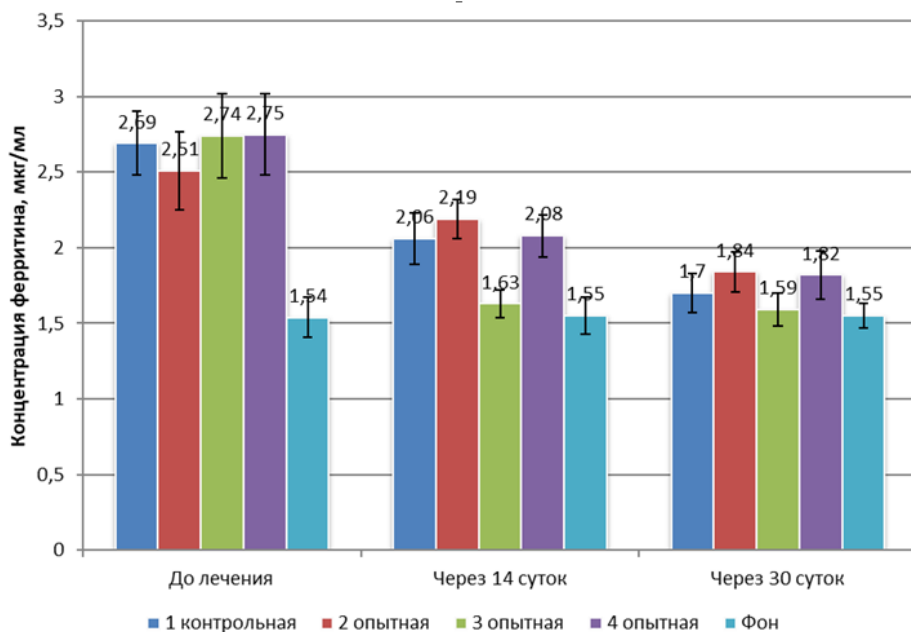


Рисунок 8 – Динамика изменений концентрации ферритина в сыворотке крови коров

К 30 суткам эксперимента концентрация ферритина во всех опытных группах животных не имела достоверных отличий от показателей, полученных от фоновых животных.

Учитывая тот факт, что патогенез, течение и исход патологий гепатобилиарной

системы в значительной степени зависят от

антиоксидантного статуса организма как совокупности про- и антиоксидантных процессов, нами были изучены некоторые показатели антиоксидантной системы крови (таблица 4).

Таблица 4 - Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты у коров

Сроки исследований	1 контрольная (n=16)	2 опытная (n=16)	3 опытная (n=16)	4 опытная (n=15)	Фон (n=79)
МДА, нмоль/л					
До лечения	2,04±0,15*	2,15±0,16*	1,91±0,14*	2,15±0,14*	0,71±0,06
Через 14 суток	1,61±0,13*	1,65±0,13*	0,67±0,06**	1,57±0,12*	0,69±0,06
Через 30 суток	0,69±0,06	0,71±0,04	0,69±0,06	0,68±0,04	0,68±0,06
Глутатионпероксидаза, мкмоль G-SH /л x мин					
До лечения	11,3±0,59	11,31±0,78	10,58±0,74	11,1±0,66	12,7±0,84
Через 14 суток	12,28±0,74	12,4±1,1	14,87±1,01*	12,1±0,8	12,64±0,89
Через 30 суток	12,29±0,83	12,48±0,87	13,75±0,88*	12,11±1,01	12,85±0,71

Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной группой и фоновыми значениями, ** между опытными группами животных ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,10).

Мы установили, что через 14 дней после назначения терапевтических мероприятий наблюдалась положительная динамика снижения концентрации

малонового диальдегида в крови всех групп животных. Однако в группе животных, которым назначали препарат СилимаринКС концентрация данного показателя была достоверно ниже, чем в остальных опытных группах и не отличалась от клинически здоровых животных. В этой же группе животных возрастала и активность селен содержащего фермента глутатионпероксидазы.

Таким образом, достоверно установлено, что парентеральное применение с терапевтической целью больным гепатозом коровам препаратов силимарина на основе коллоидных частиц и полимерных матриц приводит к восстановлению функциональной активности печени.

Вместе с этим, препарат СилимаринКС наряду ярко выраженными гепатопротекторными свойствами, проявил выраженное антиоксидантное действие, в результате чего происходит активация регенеративных процессов и связывания токсических веществ.

Применение препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц при лечении собак с острым вторичным гепатитом. В исследование были включены 48 собак с диагнозом острый вторичный (бабезиозный) гепатит (32 самца и 16 самок в возрасте от 8 мес., до 6 лет разных пород, живой массой от 1,0 до 17,0 кг).

Животные всех групп получали одинаковую базовую терапию. Животным первой контрольной группы (n=12) в качестве гепатопротекторного препарата назначали коммерческий препарат сравнения Гепатоджект внутримышечно, 2-5 мл на животное в зависимости от его массы, 2 раза в день - 7 дней.

При сравнении результатов лечения разных групп было обнаружено достоверное снижение сроков заболевания и проявления клинических признаков заболевания в 3 опытной группе животных которым в качестве гепатопротекторного средства назначали препарат СилимаринКС (рисунок 9).

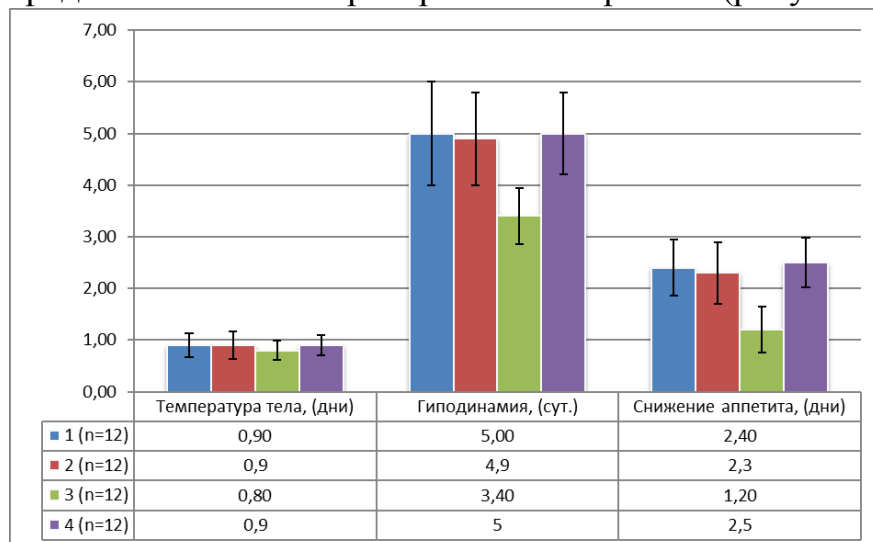


Рисунок 9 - Результаты клинических исследований животных

Наряду с этим, при анализе гематологических показателей крови на 14 е сутки эксперимента установлено, что положительная динамика развивается во всех группах животных.

Так количество лейкоцитов периферической крови (рисунок 10) достигло физиологических значений во всех группах животных. Однако в первой, второй и четвертой группах,

которым в качестве гепатопротекторных препаратов назначали соответственно «Гепатоджект», «СилимаринМ» и «СилимаринКЗ» данный показатель был достоверно выше, чем у клинически здоровых животных.

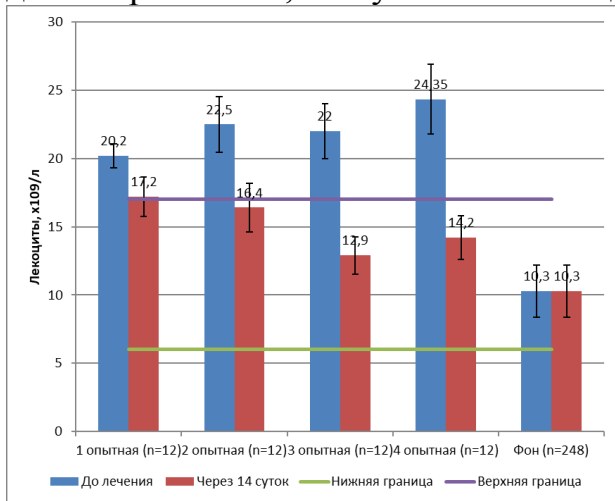


Рисунок 10 – Динамика изменений лейкоцитов крови собак

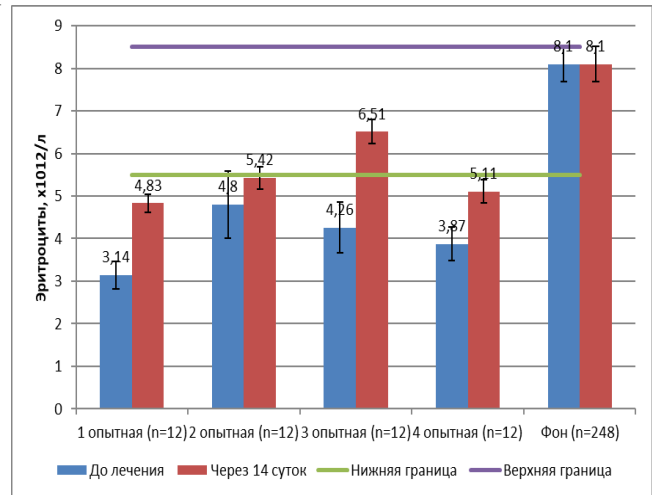


Рисунок 11 – Динамика изменений эритроцитов крови собак

Тогда как в третьей опытной группе животных, которым назначали препарат силимарина конъюгированного с коллоидным селеном количество лейкоцитов не имело достоверных отличий от фоновых значений. При анализе гематологических показателей на 14 сутки эксперимента установлено достоверное увеличение количества эритроцитов и гемоглобина в периферической крови животных всех опытных групп (рисунок 11-12).

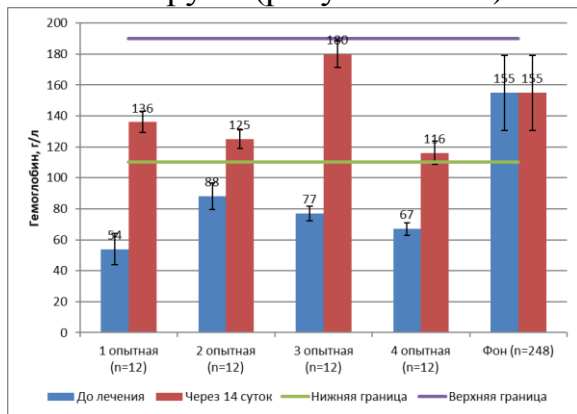


Рисунок 12 – Динамика изменений концентрации гемоглобина в крови собак

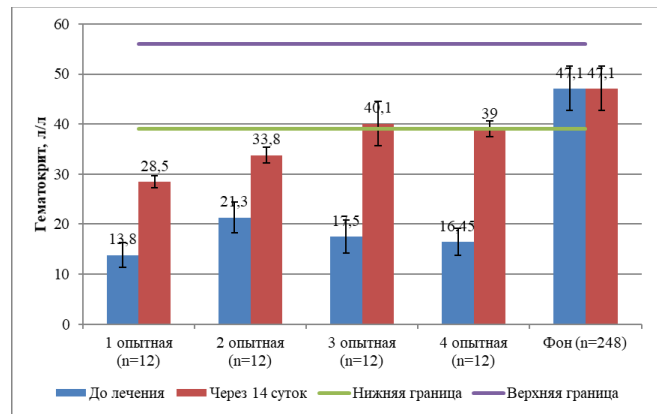


Рисунок 13 – Динамика изменений гематокритной величины в крови собак

Однако, в группах животных которым назначали препарат сравнения Гепатоджект и испытуемые препараты СилимаринМ и СилимаринКЗ количество эритроцитов оставалось ниже референсных значений. Тогда как у животных 3 опытной группы данный показатель достигал физиологической нормы, хотя и оставался достоверно ниже, чем в фоновой группе.

Концентрация гемоглобина во всех опытных группах животных достигала

физиологической нормы через 14 суток после назначения терапевтических мероприятий.

Показатель отношения объема форменных элементов к плазме крови (рисунок 13) в первой и второй группе животных хотя и повысился относительно первоначальных значений, все же оставался ниже физиологических границ.

Через 14 суток после назначения терапии у животных всех опытных групп отмечалось достоверное снижение ферментов цитолиза. Так активность аланинаминотрансферазы снизилась в первой опытной группе на 38% ($p \leq 0,05$), во второй на 30 % ($p \leq 0,05$), в третьей в 2,2 раза ($p \leq 0,05$), в четвертой опытной группе на 38 % ($p \leq 0,05$). Наиболее интенсивное снижение активности данного фермента отмечали в третьей опытной группе собак, которым назначали препарат СилимаринКС.

Наряду с этим, на 14 сутки эксперимента отмечали достоверное снижение еще одного цитолитического фермента – аспартатаминотрансферазы. В первой группе в 1,8 раза ($p \leq 0,05$), во второй – в 1,9 ($p \leq 0,05$), в третьей группе наблюдали наиболее интенсивное снижение в 2,8 раза ($p \leq 0,05$) и в четвертой опытной группе в 2,2 раза ($p \leq 0,05$) относительно исходных значений.

Анализ динамики изменений активности ферментов холестаза показал достоверное снижение активности щелочной фосфатазы. Так в первой опытной группе собак, которым назначали препарат Гепатоджект активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови снизилась в 1,8 раза ($p \leq 0,05$). Во второй (СилимаринМ) и третьей (СилимаринКС) в 2 раза ($p \leq 0,05$) и в четвертой (СилимаринК3) опытной группе в 1,9 раза ($p \leq 0,05$) относительно исходных значений. Стоит отметить, что референсных значений активность данного фермента достигла лишь в третьей опытной группе собак, которым в качестве гепатопротектора назначали препарат силимарина конъюгированного с наночастицами селена.

Активность γ -глутамилтранспептидазы в сыворотке крови опытных животных также достоверно снизилась. Так в первой и второй опытных группах в 2,5 раза ($p \leq 0,05$), в третьей в 3,4 раза ($p \leq 0,05$) и в четвертой – в 2,6 раза ($p \leq 0,05$) относительно первоначальных значений.

При анализе показателей пигментного обмена во всех опытных группах животных отмечалось достоверное снижение как общего, так и прямого билирубинов в сыворотке крови. Так через 14 суток после назначения лечебных мероприятий концентрация общего и прямого билирубина снизилась соответственно в первой группе животных в 1,8 и 4,2 раза ($p \leq 0,05$), во второй – в 1,9 и 5,2 раза ($p \leq 0,05$), в третьей в 2,3 и 7,5 раз ($p \leq 0,05$), в четвертой в 1,7 и 4,2 раза ($p \leq 0,05$) относительно значений до назначения терапии.

На 14 сутки после проведения терапевтических мероприятий нами отмечалось восстановление альбуминсинтезирующей функции печени. О чем свидетельствует повышение концентрации сывороточного альбумина до референсных значений. Так в первой опытной группе уровень альбумина повысился с $18,06 \pm 0,82$ до $29,76 \pm 3,33$

г/л ($p \leq 0,05$), во второй - с $21,11 \pm 1,68$ до $28,52 \pm 2,95$ г/л ($p \leq 0,05$), в третьей – с $20,49 \pm 2,55$ до $30,29 \pm 1,68$ г/л ($p \leq 0,05$) и в четвертой – с $18,25 \pm 1,88$ до $27,91 \pm 2,35$ г/л ($p \leq 0,05$). Однако ни в одной группе, кроме третьей концентрация сывороточного альбумина не достиг фоновых значений - $32,1 \pm 1,72$ г/л

Концентрация глобулиновых фракций белка снизилась до референсных значений во всех опытных группах животных. В первой - с $37,71 \pm 3,12$ до $30,09 \pm 4,12$ г/л ($p \leq 0,05$), во второй - $33,4 \pm 4,21$ до $32,47 \pm 3,21$ г/л, в третьей с $39,48 \pm 4,42$ до $31,83 \pm 3,72$ г/л ($p \leq 0,05$) и в четвертой - $38,59 \pm 4,52$ до $26,11 \pm 4,52$ г/л ($p \leq 0,05$). Данный факт является следствием снижения мезенхимально-клеточной реакции организма в ответ на действие повреждающего агента.

В ходе исследований показателей антиоксидантной системы (таблица 5), установлено достоверное снижение концентрации малонового диальдегида до фоновых значений в третьей группе животных которым назначали препарат СилимаринКС.

Таблица 5 - Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защита крови собак

Сроки исследований	1 контрольная (n=12)	2 опытная (n=12)	3 опытная (n=12)	4 опытная (n=12)	Фон (n=248)
	МДА, нмоль/л				
До лечения	$18,12 \pm 0,81^*$	$17,27 \pm 1,01^*$	$18,17 \pm 0,95^*$	$18,36 \pm 0,91^*$	$4,96 \pm 0,97$
Через 14 суток	$9,79 \pm 1,01^*$	$10,33 \pm 0,66^*$	$3,97 \pm 0,49$	$9,72 \pm 0,71^*$	$4,96 \pm 0,97$
	Глутатионпероксидаза, мкмоль G-SH /л x мин				
До лечения	$21,74 \pm 2,9$	$22,06 \pm 2,12$	$21,98 \pm 2,51$	$21,11 \pm 2,04$	$22,7 \pm 2,84$
Через 14 суток	$21,15 \pm 2,33$	$21,7 \pm 2,42$	$33,18 \pm 2,59^*$	$23,31 \pm 2,51$	$22,7 \pm 2,84$

*Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной группой и фоновыми значениями, ** между опытными группами животных ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,26)*

В остальных группах животных хотя и наблюдалась положительная динамика, данный показатель оставался достоверно выше фоновых значений.

Вместе с этим активность глутатионпероксидазы в третьей опытной группе к концу эксперимента была выше по сравнению со значениями, полученными от животных опытной и фоновой групп. Что указывает на включение селена, содержащегося в препарате в метаболический цикл антиоксидантной системы организма животных.

Таким образом, достоверно установлено, что парентеральное применение с терапевтической целью препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц приводит к восстановлению функциональной активности печени при инвазионном гепатите у собак.

Применение препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц при токсической дистрофии у поросят. В результате проведенных исследований установлено, что при лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией гепатопротекторными препаратами клинические симптомы болезни у 30 % больных животных исчезали в течение пяти,

а у 70% - шести суток с момента с момента начала лечения. Терапевтическая эффективность во всех группах животных составила 100%.

Таким образом, достоверно установлено, что парентеральное применение с терапевтической целью препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц приводит к восстановлению функциональной активности печени у поросят при токсической гепатодистрофии.

Комплексная схема лечения поросят при токсической дистрофии печени.

Учитывая тот факт, что при патологии гепатобилиарной системы происходят глубокие нарушения всех видов обменных процессов в организме животных и как следствие наблюдается снижение иммунитета, нарушение работы кроветворной системы (о чем говорилось выше), а все это даже после назначения гепатопротекторных средств и восстановления функциональной активности органа ведет к достаточно длительному реабилитационному периоду, и как следствие длительному восстановлению продуктивных качеств животных.

Поэтому на следующем этапе нашей работы нами проведена апробация препарата Иммуносейв и витаминной кормовой добавки «Волстар» в общей схеме лечения поросят с токсической гепатодистрофией. Для этого нами было сформировано 2 группы поросят начального периода доразличивания в возрасте 35 – 40 дней, по 14 животных в каждой, с признаками токсической дистрофии печени. Поросятам первой опытной группы назначали препарат СилимаринКС из расчета 0,1 мл/кг массы тела, в/м 1 раз в день 7 дней. Второй группе наряду с гепатопротекторным препаратом назначали водно-дисперсионный раствор метилурацила «Иммуносейв» в дозе 2 мг/кг (0,1 мл/кг по объему), 1 раз в день 7 дней и витаминную кормовую добавку «Волстар» из расчета 0,5 мл на 10 кг с водой 5 дней.

В результате проведенных исследований установлено, к 14 суткам эксперимента как гематологические, так и биохимические показатели крови достигали референсных значений и не отличались от фоновых.

Вместе этим через 30 дней после начала эксперимента провели повторное контрольное взвешивание животных (Таблица 6), которое показало, что среднесуточный прирост массы тела поросят, которым с лечебной целью наряду с гепатопротекторным средством назначали препарат Иммуносейв и витаминную кормовую добавку «Волстар» на 30% выше, чем в группе животных, которым применяли только гепатопротекторное средство.

Таблица 6 -Динамика прироста живой массы поросят в опытных группах

№ группы	Масса в кг после введения через (суток), кг		Прирост за 30 дней, кг	Среднесуточный прирост за 30 дней, г
	0	30		
1	13,6±0,56	18,7±1,12*	5,1±0,23*	170±23,56*
2	12,8±0,64	20,3±1,08	7,5±0,30	250±26,98

*Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между первой и второй группами ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,26)*

Таким образом, можно заключить, что применение мицеллярного раствора метилурацила и витаминной кормовой добавки «Волстар» наряду с гепатопротекторным препаратом СилимаринКС приводит не только к восстановлению функциональной активности печени у поросят при токсической гепатодистрофии. А также стимулирует прирост живой массы поросят.

Комплекс профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у животных с применением разработанных препаратов, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок. Для проведения исследования было сформировано по принципу аналогов 2 группы поросят - контрольная и опытная. Последовательно основанных на массе тела и возрасте.

Животные всех групп содержались в одинаковых условиях и получали сбалансированный по белку и всем биологически-активным веществам комбикорм. Анализ кормов на микотоксины (Т-2 токсин, афлатоксин), выявил, что их концентрация соответствовала ПДК. Кислотное число комбикормов также соответствовало показателям безопасности кормов, но часто находилось на верхней границе предельно-допустимых концентраций. Несмотря на то, что содержание микотоксинов находилось в пределах нормы, следует учесть, что при длительном их поступлении возможна кумуляция (накопление в организме), что сопровождается развитием в печени дистрофических изменений на почве хронической интоксикации. Животным первой опытной группы в качестве гепатопротекторного препарата назначали СилимаринКС, внутримышечно в дозе 100 мг/кг, двукратно с интервалом 7 дней. В качестве иммуномодулирующего и адаптогенного средства Иммуносейв в дозе 100 мг/кг, внутримышечно, двукратно с интервалом 7 дней. Водорастворимую витаминную кормовую добавку «Волстар» внутрь с питьевой водой, в объеме 0,5 мл на голову, 1 раз в день, 3 дня.

Животные второй контрольной группы были интактными, фармакологические препараты не применялись.

Методика оценки результатов основывалась на определении следующих показателей: заболеваемость, летальность и среднесуточный прирост живой массы.

В результате проведенных исследований установлена положительное влияние применения разработанной нами комплексной схемы на прирост массы поросят отъемного периода. Так в опытной группе поросят среднесуточный прирост живой массы (Таблица 7) составил $331 \pm 23,56$ г что на 28 % больше, чем в контрольной группе $303 \pm 26,98$ г.

Таблица 7 -Динамика прироста живой массы поросят в опытных группах

№ группы	Масса в кг после введения через (суток), кг		Прирост за 30 дней, кг	Среднесуточный прирост за 30 дней, г
	0	30		
1 опыт	$12,87 \pm 0,74$	$22,8 \pm 2,23$	$9,9 \pm 0,89$	$331 \pm 23,56$
2 контроль	$13,1 \pm 0,68$	$22,2 \pm 2,38$	$9,1 \pm 0,93$	$303 \pm 26,98^*$

*Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между первой и*

второй группами ($P \leq 0,05$ при t критическом 2,10)

Вместе с этим применение комплексной схемы, включающей СилимаринКС, Иммуносейв и витаминный комплекс «Волстар» пороссятам отъемного периода привело к снижению заболеваемости на 16,6 %, и повышению сохранности на 3,3 % (рисунок 14).

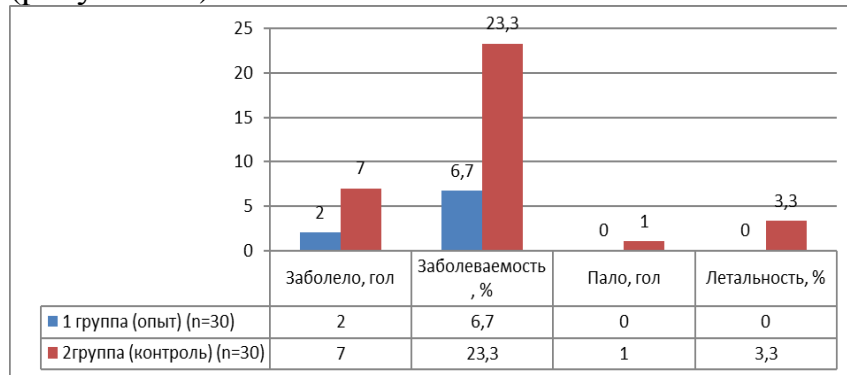


Рисунок 14 - Эффективность применения пороссятам-отъёмышам комплексной схемы профилактики патологий печени

Таким образом на основании проведенных исследований можно заключить, что применение пороссятам отъемного периода комплексной схемы профилактики заболеваний печени, включающей инъекционный препарат силимарина конъюгированный с наночастицами селена, мицеллярный раствор

метилурацила и витаминную кормовую добавку «Волстар» приводит к повышению среднесуточных привесов на 28 % и снижению заболеваемости на 16,6 %.

Экономическая эффективность составила на каждый затраченный рубль на оказание профилактических мероприятий хозяйство получает 2,47 рубля прибыли.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как показывает статистика, патологии печени занимают от 5 до 25% от всех незаразных болезней животных (И.Ф. Хазимухаметова, 2009, Б.В. Уша и др., 2011, Н.А. Фердман, 2007, С.Н. Жерлицын, 2016, Н.Б. Демина, 2007, В.И. Десятник и др. 2000, В.В. Емельянов, И.З. Севрюк, 2005, А.В. Жаров, В.Д. Илеиш, 1996).

При всем многообразии этиопатогенетических механизмов развития патологических процессов в печени, основные звенья патогенеза по большей части универсальны. Это позволяет использовать достаточно близкую патогенетическую терапию поражений гепатобилиарной системы. Основу, которой могут составлять лекарственные средства с направленным действием на печеночные клетки (И.Н. Алексеева, Т.М. Брызгина, С.И. Павлович, 1991, М.З. Андрейцев, 2006, В.Н. Байматов, 1982, В.Н. Байматов, С.М. Муха, 1981, R.O. Rechnagel, 1983, L.W. Weber [et al.], 2003)

К таким препаратам в нашей стране относят группу лекарственных средств под общим названием «Гепатопротекторы».

К наиболее перспективным препаратам, отвечающим требованиям современной гепатологии можно отнести флавоноиды, выделяемые из лекарственного растения расторопши пятнистой, поскольку они обладают гепатопротекторным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и антиканцерогенным действием. (Р.П. Рустамова [и др.], 2004, S. Pollastri [et al.], 2011,

С. Dehmlow, J. Erhard, H. de Groot, 1996, V. Kren, D. Walterova, 2005).

В этой связи на первом этапе нашей работы сконструированы новые водорастворимые лекарственные гепатопротекторные препараты силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц (мицелл):

- водно-дисперсионный раствор силимарина (СилимаринМ);
- силимарин конъюгированный с наночастицами селена (СилимаринКС);
- силимарин конъюгированный с наночастицами золота (СилимаринКЗ).

При изучении специфической гепатопротекторной активности разработанных препаратов в экспериментах на культуре изолированных гепатоцитов (*in vitro*) печени крыс, установлено, что внесение их в среду инкубации препятствует гепатотоксическому действию СС14. О специфической гепатопротекторной активности препаратов силимарина на клеточные культуры гепатоцитов указано в работах И.И. Краснюк (мл.) [и др.], 2005, М.В. Осиков, 2007, И.В. Мильто, И.В. Суходоло, А.А. Миллер, 2012, В.И. Ноздрин, Т.А. Белоусова, В.И. Альбанова, О.И. Лаврик, 2006, В.И. Ноздрин [и др.], 2008, В.И. Ноздрин, Т.А. Белоусова, А.Н. Яцковский, 2000, Л.И. Самигуллина, Д.Н. Лазарева, 2004, В.И. Смольякова [и др.], 2011)

В ходе изучения гепатопротекторных свойств на модели острого токсического гепатита смертность лабораторных животных за 7 дней эксперимента, составила в первой группе 50%, во второй, - 10 %, в четвертой опытной группе – 20 %, в третьей группе животных гибели не отмечалось и в пятой (интактной) признаков интоксикации и гибели животных не выявлено.

При анализе гематологических показателей (А.А. Кишкун, 2007, Н.П. Ролдугина, В.Е. Никитченко, В.В. Яглов, 2004, Г.В. Сухарева [и др.], 2004) установлено достоверное снижение общего количества лейкоцитов у животных первой группы, которым вводили токсикант без проведения терапевтических мероприятий, по сравнению с контрольными мышами. Данный факт указывает на посттравматическое истощение иммунной системы. Вместе с этим количество лейкоцитов у животных 2 и 4 группы, которым в течение 6 дней вводили мицелярный силимарин и силимарин конъюгированный с коллоидным золотом соответственно, было несколько выше чем в 5 (фоновой) группе животных. Тогда как в третьей опытной группе мышей которым вводили силимарин конъюгированный с коллоидным селеном, показатели не отличаются от фоновых мышей. Что является следствием антиоксидантного влияния селена, который препятствует накоплению продуктов перекисного окисления липидов, способствуя восстановлению глутатиона, а также апоптозу клеточных элементов печени, которые утилизируются лейкоцитами.

Анализ биохимических показателей сыворотки крови животных (А.А. Кишкун, 2007, Б.А. Никулин, 2007, Т.Е. Ткаченко, 2003, А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, И.В. Завгородний, 2002) после окончания эксперимента показал достоверное снижение индикаторных ферментов печени во всех группах животных. Однако в четвертой группе мышей, которым проводили лечение

препаратом силимарина конъюгированного с коллоидным золотом, активность данных ферментов была достоверно выше чем в контрольной группе. Вместе с этим в данной группе животных отмечаются более высокие показатели глюкозы, и альбуминов, а также относительно низкие показатели общего белка и глобулинов в сыворотке крови. Принимая во внимание тот факт, что трансаминазы обеспечивают взаимосвязь между обменом азотистых соединений и углеводов в организме животных, повышение индикаторных ферментов на фоне высоких концентраций альбуминов и углеводов свидетельствуют о повышении энергетического метаболизма в организме животных. А понижение глобулинов может быть следствием увеличения моноцитарно-макрофагальной функции печени. Это является следствием применения препарата силимарина конъюгированного с коллоидным золотом. О данном эффекте золотых наночастиц упоминается в работах Ю.А. Терещенко, С.Ю. Терещенко, 2013, M.S. Khan, G.D. Vishakante, H. Siddaramaiah, 2013, Warheads Shanta Dhar [et al.], 2009.

В третьей опытной группе животных, которым применяли с терапевтической целью СилимаринКС, отмечали достоверное повышение общего белка и его фракций, относительно фоновых животных, что может быть следствием синергизма силимарина и селена, способствующих повышению компенсаторных факторов организма на действие ксенобиотика.

Снижение общего белка и альбуминов отмечается и во второй опытной группе мышей, которым с терапевтической целью назначали СилимаринМ. Это может быть следствием повышенных затрат энергии на восстановление функциональной активности гепатоцитов поврежденных действием ксенобиотика.

На сельскохозяйственных животных (свиньи) подобные эксперименты проводились Л.А. Макаридзе, З.А. Макаридзе, 2006, С.Ю. Смоленцев, 2007)

При анализе концентрации глутатиона в печени опытных животных через 7 суток после начала эксперимента концентрация его резко снижается у животных, которым лечение не применялось. Оценка способности рециркуляции глутатиона под воздействием препаратов явилось важным аспектом для определения эффективности разработанных препаратов. Значение антиоксидантной системы в развитии гепатопатологий отмечалось в работах Т.Г. Сазонтова, Ю.В. Архипенко, 2007, С.В. Сибиряк, В.А. Вахитов, Г.Ш. Курчатова, 2003, И. В. Сидоров., Н.А. Костромитинов, Е.М. Уколова, 2003, В. С. Слободяник, 2007, Д.М. Собчак, О.В. Корочкина, 2008, В.Н. Чернов [и др.], 2007). Данный факт указывает на закономерное истощение глутатиона в ответ на окислительный стресс, вызванный введением гепатотоксина. Вместе с этим, в группах мышей которым применяли препараты силимарина концентрация глутатиона была достоверно выше, чем в первой группе и находилась на одном уровне с интактными животными. Это объясняется тем, что силибинин входящий в состав препаратов обладает ярко выраженными антиоксидантными свойствами, что препятствует истощению глутатиона в гепатоцитах в ответ на воздействие ксенобиотика. Положительное воздействие некоторых биологических веществ и используемый в настоящей

работе методики также указываются в работах Н.П. Пальмина [и др.], 2004, Т.Е. Полунина, 2005, В.В. Рогожин, 2009.

При изучении терапевтической эффективности препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц при гепатозе у коров в условиях животноводческого хозяйства достоверно установлено, что парентеральное применение с терапевтической целью больным гепатозом коровам препаратов силимарина на основе коллоидных частиц и полимерных матриц приводит к восстановлению функциональной активности печени. Постановка эксперимента в условиях животноводческого хозяйства была проведена, основываясь на разработках В.В. Емельянов, И.З. Севрюк, 2005, Г.Е. Батрак, А.Н. Кудрин, 1979)

Вместе с этим, препарат силимарина на основе коллоидного селена наряду ярко выраженными гепатопротекторными свойствами, проявил выраженное антиоксидантное действие, в результате чего активнее осуществляются регенеративные процессы и связывание токсических веществ.

Также в ходе применения препаратов силимарина на основе наночастиц (селена и золота) и полимерных матриц при лечении собак с вторичным инвазионным гепатитом и поросят с токсическим поражением печени, доказана их высокая терапевтическая эффективность. Различные схемы лечения, методы введения препаратов, активность лекарственных веществ на животных указывается в работах С. С. Абрамов [и др.], 2007, З. Пейсак, 2008, С.В. Петровский, Н.К. Хлебус, В. Н Целобёнок, 2011, Т.В.Плетнева, 2005, А.А.Покровский, 1969, В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.И. Ковалева, 1990, С.В. Котельникова, Н.Г. Соколова, А.В. Котельников, 2008.

Учитывая тот факт, что при патологии гепатобилиарной системы происходят глубокие нарушения всех видов обменных процессов в организме животных и как следствие снижение иммунитета, нарушение кроветворной системы (о чем говорилось выше), а все это даже после назначения гепатопротекторных средств и восстановления функциональной активности органа ведет к достаточно длительному реабилитационному периоду, и как следствие длительному восстановлению продуктивных качеств животных (И. П. Кондрахин, 2004, Н.В. Мухина, 2008, Т.Т. Накусов [и др.], 2005, О. В. Погребняк, В. С. Слободяник, С. М. Сулейманов, 2001

Поэтому лечение животных с патологией печени должно быть комплексным и направлено не только на прерывание патогенетических механизмов развития заболевания, но и на восстановление всего организма в целом. Особое внимание в этом вопросе следует обратить на восстановление иммунологической реактивности организма, кроветворной системы, а также восполнение метаболизма витаминов (Ю.Р. Шифф, М.Ф. Соррел, У.С. Мэддрей, 2011, И.А. Шперлинг [и др.], 2008, Б.И. Шулутко, 1995, Б.Г. Юшков, И.Г. Данилова, Ю.С. Храмова, 2006).

В этой связи нами разработана и проведено испытание комплексной схемы лечения токсической дистрофии у поросят с применением в качестве гепатопротекторного средства силимарин конъюгированный с наночастицами

селена, а также инъекционной формы метилурацила в качестве иммуномодулирующего и адаптогенного средства, и витаминной кормовой добавки «Волстар». В ходе, которого установлено, что применение мицеллярного раствора метилурацила и витаминной кормовой добавки «Волстар» наряду с гепатопротекторным препаратом «СилимаринКС» приводит не только к восстановлению функциональной активности печени у поросят при токсической гепатодистрофии. А также стимулирует прирост живой массы поросят по сравнению с животными которым применяли только гепатопротектор.

Нами также разработан комплекс профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у животных с применением разработанных препаратов, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок.

В результате изучения эффективности применения разработанной нами схемы профилактики патологий печени, выявлено, что применение поросятам отъемного периода комплексной схемы, включающей инъекционный препарат силимарина конъюгированный с наночастицами селена, мицеллярный раствор метилурацила и витаминную кормовую добавку «Волстар» приводит к повышению среднесуточных привесов на 28 % и снижению заболеваемости на 16,6 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработаны новые лекарственные формы силимарина конъюгированного с нано частицами селена и золота. Препараты содержат в качестве активноедействующего вещества экстракт плодов расторопши пятнистой в концентрации 5,76 мг/мл и 0,08 мг/мл соответственно, а также наночастицы селена (0,24 мг/мл) и золота (0,164 мг/мл). Препарат силимарина в мицеллярной форме содержит в своем составе экстракт плодов расторопши пятнистой (силимарин 12 мг/мл), витамин Е (2 мг/мл), растворитель и соразтворитель на водной основе.

2. Разработанные новые лекарственные формы силимарина (экстракт плодов расторопши пятнистой) на основе наночастиц селена и золота, а также полимерных матриц (мицелл) представляют собой эффективные гепатопротекторные препараты, обладающие детоксикационным, регенерирующим и антифиброзирующим действием.

3. По результатам определения острой и хронической токсичности, новые лекарственные формы силимарина относятся к IV классу опасности – малоопасные вещества (ГОСТ 12.1.007-76), относятся к умеренно кумулятивным соединениям (3 класс опасности), не обладают аллергизирующим, местно-раздражающим, эмбриотоксическим, сенсibiliзирующим и иммунотоксическим действием.

4. При проведении сравнительной оценки гепатопротекторной активности новых лекарственных форм силимарина в экспериментах на изолированных гепатоцитах (*in vitro*) было установлено, что новые лекарственные формы силимарина обладают цитопротективным эффектом, препятствуют цитолитическому действию ксенобиотика.

5. При проведении сравнительной оценки гепатопротекторной активности

новых лекарственных форм силимарина в эксперименте по моделированию токсического гепатита на лабораторных животных, установлено, что максимальный гепатопротекторный эффект отмечен при использовании лекарственной формы силимарина конъюгированного с нано частицами селена в дозе 100 мг/кг массы тела в течение 7 дней. Менее выражен гепатопротекторный эффект при применении лекарственной формы силимарина конъюгированного с нано частицами золота в дозе 100 мг/кг массы тела в течение 7 дней. Наименее значимые результаты гепатопротекторного действия получены на фоне применения мицеллярной формы силимарина, менее выражено влияющего на процессы регенерации гепатоцитов, вызванные развитием токсического гепатита.

6. При изучении морфологических изменений, возникающих в ткани печени под воздействием разработанных лекарственных препаратов установлено, что наиболее отчётливое гепатопротекторное действие наблюдалось при использовании лекарственной формы силимарина конъюгированного с нано частицами селена, оказывающей четко выраженный эффект снижения структурных нарушений печени и сопровождалась незначительным количественным превышением содержания эритроцитов в крупных и мелких кровеносных сосудах, при этом структура ткани печени была хорошо выражена, балочная структура и тинкториальные свойства сохранены.

7. При лечении острого гепатита у собак лекарственная форма силимарина конъюгированного с нано частицами селена показала 100% терапевтическую эффективность. Данный препарат назначался курсом в течении 7 дней, при этом видимое улучшение клинического состояния у 60% животных наблюдалось уже через 3 дня. К 7 дню лечения была отмечена плавная нормализация гематологических показателей крови, значительное снижение показателей АСТ и АЛТ, восстановление значений γ -ГТФ, снижение количества общего билирубина. Меньшую терапевтическую эффективность показали лекарственная форма силимарина конъюгированного с нано частицами золота и мицеллярная форма силимарина соответственно.

8. При лечении гепатоза у коров применение лекарственной формы силимарина конъюгированного с наночастицами селена приводит к снижению концентрации белка острой фазы ферритина с $2,74 \pm 0,28$ до $1,63 \pm 0,09$ мкг/л, снижает концентрацию продуктов перекисного окисления липидов МДА с $1,91 \pm 0,14$ нмоль/л до $0,67 \pm 0,06$ нмоль/л, повышает активность антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы $10,58 \pm 0,74$ до $14,87 \pm 1,01$ мкмоль G-SH /л x мин, а так же приводит к нормализации пигментного обмена (снижает концентрацию общего билирубина с $14,31 \pm 1,21$ до $6,7 \pm 0,51$ мкмоль/л), тем самым обеспечивает ускорение репаративных процессов и снижение интенсивности цитолиза.

9. Лекарственная форма силимарина конъюгированного с нано частицами селена при лечении поросят, больных токсической гепатодистрофией показала 100% терапевтическую эффективность. При этом установлено, что она обладает выраженными гепатопротекторными и детоксикационными свойствами, снижает

концентрацию продуктов перекисного окисления липидов МДА с $16,7 \pm 1,92$ нмоль/л до $4,11 \pm 0,46$ нмоль/л, повышает активность антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы $19,8 \pm 1,86$ до $23,18 \pm 1,98$ мкмоль G-SH /л x мин, приводит к нормализации пигментного обмена (снижает концентрацию общего билирубина с $12,8 \pm 1,17$ до $6,4 \pm 0,35$ мкмоль/л), тем самым обеспечивает ускорение регенеративных процессов и снижение интенсивности цитолиза.

10. Применение комплексной схемы лечения токсической дистрофии печени у поросят, включающей лекарственную форму силимарина конъюгированного с наночастицами селена в дозе 0,1 мл/кг, 1 раз в день, 7 дней, инъекционную форму метилурацила - в дозе 0,1 мл/кг, 1 раз в день, 7 дней и витаминный комплекс «Волстар» 0,5 мл/10 кг с водой, 5 дней, приводит к повышению среднесуточных привесов на 30 %.

11. Применение комплексной схемы лечебно-профилактических мероприятий поросятам отъемного периода, включающей применение лекарственной формы силимарина конъюгированного с наночастицами селена, инъекционной формы метилурацила и витаминного комплекса «Волстар» приводит к увеличению среднесуточного прироста массы тела 28 %, снижению заболеваемости на 16,6 %, повышению сохранности на 3,3 %.

12. Экономическая эффективность от применения комплексной схемы включающей препарат силимарина конъюгированный с наночастицами селена в дозе 0,1 мг/кг, внутримышечно, двукратно 1 раз в день с интервалом 7 дней, мицеллярный раствор метилурацила в дозе 0,1 мг/кг, внутримышечно, двукратно 1 раз в день с интервалом 7 дней и витаминную кормовую добавку «Волстар» внутрь с питьевой водой, в объеме 0,5 мл на голову, 1 раз в день, 3 дня являются экономически выгодными для применения на свиноводческих комплексах. На каждый затраченный рубль на оказание профилактических мероприятий хозяйство получает 2,47 рубля прибыли.

Рекомендации производству

1. Для фармакологической коррекции гепатоза крупного рогатого скота лекарственную форму силимарина конъюгированного с нано частицами селена рекомендуется назначать в дозе 0,1 мл/кг, внутримышечно, 1 раз в день в течении 7 дней.

2. Для фармакологической коррекции токсической дистрофии печени у поросят отъемного периода рекомендуется применять следующую схему лечения: лекарственную форму силимарина конъюгированного с нано частицами селена в дозе 0,1 мл/кг, внутримышечно, 1 раз в день в течении 7 дней, инъекционную форму метилурацила в дозе 2 мг/кг (0,1 мл/кг по объему), 1 раз в день в течении 7 дней, витаминный комплекс «Волстар» из расчета 0,5 мл на 10 кг массы тела животного, с питьевой водой 5 дней.

3. Для профилактики токсической дистрофии печени у поросят отъемного периода рекомендуется применять следующую схему: лекарственную форму силимарина конъюгированного с нано частицами селена в дозе 0,1 мл/кг,

внутримышечно, двукратно, до отъема и через 7 суток после отъема, инъекционную форму метилурацила в дозе 2 мг/кг (0,1 мл/кг по объему), двукратно, до отъема и через 7 суток после отъема, витаминный комплекс «Волстар» из расчета 0,5 мл на 10 кг массы тела животного, с питьевой водой 4 дня.

4. Для фармакологической коррекции патологий гепатобилиарной системы у собак рекомендуется назначать лекарственную форму силимарина конъюгированного с нано частицами селена в дозе 0,1 мл/кг, внутримышечно, 1 раз в день 7 дней подряд.

5. Результаты исследования могут быть использованы в учебном процессе при подготовке студентов, магистров и аспирантов зооветеринарного профиля, при составлении научно-методических рекомендаций, в работе зооветеринарных специалистов и руководителей хозяйств.

Перспективы разработки темы

В результате проведенных исследований изучены механизмы взаимодействия коллоидных частиц металлической и не металлической структуры в составе лекарственного средства с внутренней средой организма. Опираясь на это можно целенаправленно разрабатывать методы коррекции патологических процессов в организме животных при этом минимизировать количество вводимых лекарственных средств для достижения терапевтического эффекта.

Доказана биологическая активность наночастиц селена в композиции с силимарином, что дает предпосылки для дальнейшего проведения исследований по созданию лекарственных препаратов с применением коллоидного селена в качестве транспортной системы биологически активных субстанций.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Козлов, С.В. Взаимосвязь функционального состояния печени и воспалительно-дегенеративных изменений слизистой оболочки ротовой полости у собак/ Е.В. Семейкина, И.И. Калюжный, С.В. Козлов // Ветеринарная практика. - 2007. - № 3. - С. 39-41.

2. Козлов, С.В. Конструирование коллоидного комплекса селена с лактоферрином и изучение его биодинамических свойств / С.В. Козлов, А.С. Фомин, В.С. Степанов, А.А. Волков, С.А. Староверов // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. - 2012. – №1 (13), - С. 27 – 32.

3. Козлов, С.В. Изучение биологических свойств нано размерной структуры на основе коллоидного селена *in vitro* / А.Ю. Исаева, С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Ларионов, С.В. Козлов // Ветеринарная патология. - 2012. - Т. 41. - №3. - С. 111-114.

4. Козлов, С.В. Конструирование нано размерной структуры на основе коллоидного селена / А.Ю. Исаева, С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Ларионов, С.В. Козлов // Ветеринарная патология. - 2012. - Т. 41. - №3. - С. 114-117.

5. Козлов, С.В. Использование фаговых миниантител для определения концентрации ферритина в сыворотке крови животных/ С. А. Староверов, А.С.

Фомин, А.А. Волков, С.В. Козлов и др. // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. - 2012. - № 4. - С. 30-33.

6. Козлов, С.В. Конструирование инъекционной формы на основе силимарина и изучение её биодинамических и токсикологических свойств / Е.В. Башкирова, С.Н. Путина, С.В. Козлов, А.А. Волков и др. // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. - 2013. - № 08. - С. 4-7.

7. Козлов, С.В. Конструирование конъюгатов коллоидного селена и коллоидного золота с белком вируса гриппа и изучение их иммуногенных свойств / П.В. Меженный, С.А. Староверов, Волков А.А., С.В. Козлов и др. // Вестник Саратовского Госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. - 2013. - № 2. С. 29-32.

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

9. Козлов, С.В. Применение витаминно-минеральной кормовой добавки «Волстар» в свиноводстве / И.А. Помещиков, А.А. Волков, С.А. Староверов, С.В. Козлов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - № 1 (25). - С. 93-97.

10. Козлов, С.В. Витаминно-минеральная кормовая добавка «Волстар», ее переносимость цыплятами-бройлерами кросса росс 308 и влияние на их продуктивность и обмен веществ / И.А. Помещиков, А.А. Волков, С.А. Староверов, С.В. Козлов, Я.Б. Древко // Аграрный научный журнал. - 2014. - № 7. - С. 18-20.

11. Козлов, С.В. Изучение иммуногенных свойств наночастиц селена и золота, конъюгированных с антигеном вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней / П.В. Меженный, С.А. Староверов, Волков А.А., С.В. Козлов, и др. // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 1-1. С. 1965.

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

13. Козлов, С.В. Изучение потенциала использования нано-частиц селена в качестве носителей для антигена вируса ящура / С.А. Староверов, А.А. Волков, В.Н. Ласкавый, С.В. Енгашев, П.В. Меженный, А.С. Фомин, С.В. Козлов // Ветеринарная патология. 2016. Т. 3. № 57. С. 38-46.

Статьи, индексируемые в Scopus / Web of Science

14. Kozlov, S.V. Study of transmissible-gastroenteritis-virus-antigen-conjugated immunogenic properties of selenium nanoparticles and gold/ S.A.Staroverov, A.A.Volkov, S.V. Kozlov [et al.]// Life Science Journal. - 2014. - V. 11. - № 11s. - P. 456-460.

15. Kozlov, S.V. Study of therapeutic properties of the prototype injection of a hepatoprotective drug based on flavolignans of *silybum marianum* / A.A. Volkov, S.A. Staroverov, S.V. Kozlov [et al.] // Biology and Medicine. - 2015. - V. 7. № 2. - P. 192-199.

16. Kozlov, S.V. The usage of phage mini-antibodies as a means of detecting ferritin concentration in animal blood serum / S.A. Staroverov, A.S. Fomin, P.V. Mezhenyy, S.V. Kozlov [et al.]// Journal of Immunoassay and Immunochemistry. 2015. Т. 36. № 1. С. 100-110.

17. Kozlov, S.V. Use of a synthetic foot-and-mouth disease virus peptide conjugated to gold nanoparticles for enhancing immunological response / L.A.Dykman, S.A. Staroverov, A.S. Fomin, S.Y. Shchyogolev, V.N. Laskavyi, P.V. Mezhenyy, S.V. Kozlov, A.A. Volkov //Gold Bulletin. 2015. Т. 48. № 1-2. С. 93-101.

18. Козлов, С.В. Получение наночастиц селена с использованием силимарина и изучение их цитотоксичности по отношению к опухолевым клеткам /С.А. Староверов, Л.А. Дыкман, П.В. Меженый, А.С. Фомин, С.В. Козлов и др.// Сельскохозяйственная биология. 2017. - Том 52. - № 6. - с. 1206-1213

Патенты

19. Пат. 2485964 МПК8 А61К35/20, А61К33/04, А61Р37/02, В82В1/00. Иммуностимулирующая композиция для животных / Староверов С. А., Волков А.А., Ларионов С.В., Степанов В.С., Козлов С.В., Субботин А.М., Строгов В.В., Фомин А.С.; заявители и патентообладатели Староверов С.А., Волков А.А. - № 2012100596/15; заявл. 10.01.2012; опубл. 27.06.13, Бюл. № 18. – 8 с.

20. Пат. 2504347 МПК8 А61D 7/00. Инъекционная лекарственная форма для лечения и профилактики заболеваний печени у животных / Староверов С.А., Волков А.А., Енгашев С.В., Козлов С.В.; заявители и патентообладатели ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита», Енгашев С.В. - № 2012140353/13; заявл. 21.09.2012; опубл. 20.01.2014, Бюл. № 2. – 9 с.

21. Пат. 2557987 МПК8 В82В1/00, А61К33/04. Способ получения средства внутриклеточной доставки биологически активных низкомолекулярных соединений, на основе наночастиц / Волков А.А., Двоенко А.В., Козлов С.В., Староверов С.А., Хабеев Р.Р.; заявитель и патентообладатель ООО «НаноФарм-про». - № 2014126130/15; заявл. 27.06.2014; опубл. 27.07.2015, Бюл. №21. – 10 с.

22. Пат. 2549494 МПК8 А61К31/352, А61К33/04, А61К36/28, А61Р35/00, В82В3/00. Способ получения средства на основе силимарина и наноселена оказывающего ингибирующее действие на рост опухолевых клеток: / Волков А.А., Двоенко А.В., Козлов С.В., Староверов С.А., Хабеев Р.Р.; заявитель и патентообладатель ООО «НаноФарм-про». - № 2014126118/15; заявл. 27.06.2014; опубл. 27.04.2015, Бюл. №12. – 9 с.

23. Пат. 2549495, РФ: МПК8 В82В3/00, А61Р43/00, А61К33/04, А61К31/53. Способ получения средства на основе гексаметилентетрамина и наноселена, оказывающего стимулирующее действие на клетки организма / Волков А.А., Двоенко А.В., Козлов С.В., Ласкавый В.Н., Староверов С.А., Хабеев Р.; заявитель и патентообладатель ООО «НаноФарм-про», ООО «БиоДжин-про». - № 2014126125/15; заявл. 27.06.2014; опубл. 27.04.2015, Бюл. №12. – 10 с.

24. Пат. 2541121, РФ: МПК8 А61К31/7036, А61К36/28, А61К38/57, А61К47/02, А61К47/30, В82В1/00, В82У5/00. Средство внутриклеточной доставки

биологически активного высокомолекулярного соединения на основе наночастиц и способ его получения / Волков А.А., Двоенко А.В., Козлов С.В., Ласкавый В.Н., Староверов С.А., Хабеев Р.Р.; заявитель и патентообладатель ООО «НаноФарм - про». - № 2014113432/15; заявл. 07.04.2014; опубл. 10.02.2015, Бюл. № 4. – 14 с.

25. Пат. 2572716 МПК А61К 9/02, А61К 31/33. Способ получения растворимой в воде формы 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромена / Древко Я.Б., Древко Б.И., Ларионова О.С., Козлов С.В., Ситникова Т.С.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». - № 2014129338/15; заявл. 16.07.2014; опубл. 20.01.2016, Бюл. № 2. – 4 с.

26. Пат. 2645092 МПК В82В 1/00, А61К 31/095, А61К 36/28, А61К 47/22, А61К 47/12, А61К 47/18, А61К 47/02, А61Р 1/16. Гепатопротекторная инъекционная фармацевтическая композиция на основе силимарина и наночастиц селена / Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Фомин А.С., Анфалов В.Э.; заявители и патентообладатели Староверов Сергей Александрович, Волков Алексей Анатольевич. - № 2017135394; заявл. 05.10.2017; опубл. 15.02.2018 Бюл. № 5. – 11 с.

Статьи в других изданиях

27. Козлов, С.В. Определение ферритина с использованием рекомбинантной антителной фаговой библиотеки/А.С. Фомин, С.А. Староверов, С.В. Козлов// Ветеринарная медицина домашних животных: Сборник статей. – Выпуск 7. – Казань: Печатный двор, - 2010. – С. 269-272.

28. Козлов, С.В. Изучение биодинамических параметров препарата коллоидного селена конъюгированного с лактоферрином/ С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Козлов и др.// Ветеринарная медицина домашних животных: Сборник статей. – Выпуск 7. – Казань: Печатный двор, -2010. – С. 269-272.

29. Козлов, С.В. Биотрансформация препарата селена, конъюгированного с лактоферрином, в организме животных/ С.В. Козлов, С.А. Староверов, А.С. Фомин и др.// От теории – к практике: вопросы современной ветеринарии, биотехнологии и медицины: Материалы международной науч.-практ. конф., г. Саратов, 20 сентября 2011. – Саратов, Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт, 2011. – С. 126-130.

30. Козлов, С.В. Ученые записки учреждения образования витебская ордена знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2011. – Т.47. - № 2-1. – С. 207-211.

31. Козлов, С.В. Изменение показателей желудочного содержимого у собак с гастродуоденальной патологией/ А.А. Волков, В.С. Степанов, С.В. Козлов и др.// Ученые записки учреждения образования витебская ордена знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2011. – Т.47. - № 2-1. – С. 145-148.

32. Козлов, С.В. Состояние углеводного обмена при деструктивно-дистрофическом поражении печени у собак/ А.А. Волков, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.//Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и

перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 161-164.

33. Козлов, С.В. Сравнительная оценка различных методов взятия крови у свиней/ А.А. Волков, С.А. Староверов, С.В. Козлов, К.Д. Савчук// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 275-277.

34. Козлов, С.В. Некоторые аспекты доклинических исследований инъекционной формы препарата на основе изомерных биофлавоноидных соединений/ А.А. Волков, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.//Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 29-39.

35. Козлов, С.В. Анализ инструментальных методов исследования печени/ А.А. Волков, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.//Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 300-304.

36. Козлов, С.В. Изучение биодинамических параметров препарата разработанного на основе селена и кислотоустойчивых белков молока/ В.С. Степанов, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 307-309.

37. Козлов, С.В. Физико-химическая характеристика и острая токсичность иммуностимулирующей композиции «Иммуносейв» / В.С. Степанов, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 309-311.

38. Козлов, С.В. Уточнение некоторых биодинамических параметров комплекса коллоидного селена конъюгированного с лактоферрином *in vitro*/ А.Ю. Исаева, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.// Ученые записки учреждения образования витебская ордена знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2012. – Т.48. - № 2-2. – С. 223-225.

39. Козлов, С.В. Изучение возможности использования коллоидного селена в качестве наноразмерного средства внутриклеточной доставки/А.Ю. Исаева, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.// Ученые записки учреждения образования витебская ордена знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2012. – Т.48. - № 2-2. – С. 225-227.

40. Козлов, С.В. Изучение местно-раздражающего действия и острой токсичности комплекса лактоферрина с коллоидным нано-селеном клеток/ А.Ю.

Исаева, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.// Доклады академии военных наук. – 2012. – №2 (55). – С. 184-186.

41. Козлов, С.В. Влияние протеолитических производных лактоферрина на выживаемость стафилококка в присутствии перитонеальных клеток/В.С. Степанов, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 312-314.

42. Козлов, С.В. Лактоферрин (ЛФ) - биохимические свойства и возможность применения в ветеринарии/В.С. Степанов, С.А. Староверов, С.В. Козлов и др.// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 311-312.

43. Козлов, С.В. Физико-химическая характеристика и острая токсичность иммуностимулирующей композиции «Иммуносейв»/В.С. Степанов, С.В. Козлов, С.А. Староверов и др.// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 309-311.

44. Козлов, С.В. Изучение влияния протеолитических компонентов лактоферрина на иммунную систему лабораторных животных/С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Козлов и др.// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 298-300.

45. Козлов, С.В. Некоторые аспекты доклинических исследований инъекционной формы препарата на основе изомерных биофлавоноидных соединений/Е.В. Башкирова, С.Н. Путина, С.В. Козлов и др.// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 29-33.

46. Козлов, С.В. Козлов С.В. Железодефицитная анемия поросят: диагностика, терапия/ С.В. Козлов, А.А. Волков, С.А. Староверов// Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов 14 марта 2012. – Саратов, ИЦ Наука, 2012. – С. 164-168.

47. Козлов, С.В. Изучение острой и хронической токсичности гепатопротективного препарата «ГепатоСейв» созданного на основе изомерных биофлавоноидных соединений/ Е.В. Башкирова, С.Н. Путина, С.В. Козлов и др.// Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию «СГАУ им. Н.И. Вавилова», г. Саратов, 13-14 марта 2013. – Саратов, ИЦ Наука, 2013. – С. 14-19.

48. Козлов, С.В. Изучение терапевтического действия инъекционной формы препарата «ГепатоСейв»/ Е.В. Башкирова, С.Н. Путина, С.В. Козлов и др.//

Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию «СГАУ им. Н.И. Вавилова», г. Саратов, 13-14 марта 2013. – Саратов, ИЦ Наука, 2013. – С. 22-25.

49. Козлов, С.В. Разработка прототипов лекарственных препаратов на основе коллоидных наночастиц селена и высокомолекулярных биологически активных веществ/ С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Козлов и др.// Биотехнология. Взгляд в будущее: Материалы международной научной Интернет-конференции: в 2 томах., г. Казань, 23-24 марта 2014. – Казань, ИП Синяев Д.Н., 2014. – С. 112-114.

50. Effect of vitamin and mineral feed supplementation "Volstar" on blood biochemical parameters of piglets/ I.A. Pomeshchikov, S.A. Staroverov, S.V. Kozlov [et al]// Proceedings of the 23rd International Pig Veterinary Society (IPVS) Congress. Cancun, Quintana Roo, Mexico. – 2014.- V. 2. - P. 445.

51. Козлов, С.В. Перспектива использования мицеллярной формы нового селенорганического соединения/ Я.Б. Древко, О.С. Ларионова, С.В. Козлов и др.// Биотехнология: реальность и перспективы: Материалы Международной науч.-практ. конф., г. Саратов, 1-3 декабря 2014. – Саратов, ИЦ Наука, 2014. – С. 149-151.

52. Козлов, С.В. Конъюгаты коллоидного селена и коллоидного золота с вирусными антигенами, как перспективный материал для создания прототипов наномодифицированных вакцин/П.В. Меженный, А.А. Волков, С.В. Козлов и др.// Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии: Материалы Международной научно-практической конференции. Под редакцией А.А. Волкова, А.В. Молчанова., г. Саратов, 14 марта 2014. – Саратов, ИЦ Наука, 2014. - С. 161-164.

53. Козлов, С.В. Современные представления о методах внутриклеточной доставки лекарственных препаратов/ А.О. Рыбин, П.В. Меженный, С.В. Козлов и др.// Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии: Материалы Международной научно-практической конференции. Под редакцией А.А. Волкова, А.В. Молчанова., г. Саратов, 14 марта 2014. – Саратов, ИЦ Наука, 2014. - С. 205-208.

54. Козлов, С.В. Наш опыт лечения гепатита у мелких домашних животных/Е.В. Башкирова, С.Н. Путина, С.В. Козлов и др.// Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии: Материалы Международной научно-практической конференции. Под редакцией А.А. Волкова, А.В. Молчанова., г. Саратов, 14 марта 2014. – Саратов, ИЦ Наука, 2014. - С. 43-47.

55. Козлов, С.В. Применение витаминно-минеральной кормовой добавки «Волстар» в свиноводстве/И.А. Помещиков, С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Козлов// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. По перечню рецензируемых научных изданий, № 530 (до 30.06.2015 г.) - 2014. - № 1 (25). - С. 93-97.

56. Козлов, С.В. Изучение некоторых фармакобиологических свойств препарата на основе коллоидного золота конъюгированного с флавоноидами расторопши пятнистой/С.В. Козлов, С.А. Староверов, А.А. Волков и др.//

Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны: Материалы Международной научно-практической конференции, посвящённой 85-летию со дня рождения доктора сельскохозяйственных наук, Почётного работника ВПО РФ, профессора кафедры "Кормление, зоогигиена и аквакультура" СГАУ им. Н.И. Вавилова Коробова Александра Петровича, г. Саратов, 14-16 мая 2014. – Саратов, изд-во «Научная книга», 2014. - С. 101-106.

57. Козлов, С.В. К вопросу о фармакобиологических свойствах конъюгатов коллоидного золота с флавоноидами расторопши пятнистой/С.В. Козлов, А.А. Волков, С.А. Староверов и др.// Вісник житомирського національного агроєкологічного університету. – 2015. - № 1 (49) - V. 3. – P. 238-243

58. Козлов, С.В. Курилова А.А. Разработка новых ветеринарных гепатопротекторов на основе наночастиц селена и золота и изучение их биодинамических параметров/ А.А. Курилова, С.В. Козлов// Инновационные разработки молодых ученых в сфере АПК: Материалы Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 85-летию ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА, г. Нижний Новгород, 15 декабря 2015. – Нижний Новгород, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия", 2016. - С. 101-104.

59. Козлов, С.В. Диагностическая значимость исследования аспирационного пунктата печени при гепатозе у собак/ С.Н. Жерлицын, С.Н. Маркелов, С.В. Козлов и др.// Инфекционные болезни животных и антимикробные средства: Материалы международной научно-практической конференции, г. Саратов, 10 ноября 2016. – Саратов, изд-во Саратовского ГАУ, 2016. - С. 120-124.

60. Козлов, С.В. Влияние на обмен веществ цыплят бройлеров водорастворимой витаминно-минеральной кормовой добавки/ И.А. Помещиков, А.А. Волков, С.А. Староверов, С.В. Козлов// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии: Материалы Международной научно-практической конференции, г. Саратов, 16 марта 2016. – Саратов, ИЦ Наука, 2016. - С. 127-133.

61. Козлов, С.В. Подтверждение безопасности применения гепатопротекторного препарата «Гепасейф-плюс»/С.Н. Путина, С.Н. Жерлицын, Ю.В. Благова, С.В. Козлов// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии: Материалы Международной научно-практической конференции, г. Саратов, 16 марта 2016. – Саратов, ИЦ Наука, 2016. - С. 133-137.

62. Козлов, С.В. Сравнительная характеристика гепатопротекторных препаратов «Гепасейв-плюс» и «Гепатовет» при лечении заболеваний печени у домашних животных/С.Н. Путина, С.В. Козлов, С.Н. Жерлицын и др.// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии: Материалы Международной научно-практической конференции, г. Саратов, 16 марта 2016. – Саратов, ИЦ Наука, 2016. - С. 138-146.

63. Козлов, С.В. Терапевтическая эффективность инъекционной формы метилурацила при лечении некоторых заболеваний незаразной этиологии/ Н.С. Смирнова, А.А. Волков, С.В. Козлов и др.// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии: Материалы Международной научно-практической конференции, г. Саратов, 16 марта 2016. – Саратов, ИЦ Наука, 2016. - С. 158-163.

64. Козлов, С.В. Гепатопротекторные свойства наноконлекса коллоидного селена конъюгированного с силимарином/ С.А. Староверов, А.А. Волков, С.В. Козлов и др.// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии: Материалы Международной научно-практической конференции, г. Саратов, 16 марта 2016. – Саратов, ИЦ Наука, 2016. - С. 173-178.

65. Козлов, С.В. Биологическое действие наноконлекса коллоидного золота и силимарина на онкологические линии клеток животных и человека/ С.А. Староверов, А.А. Волков, А.С. Фомин, С.В. Козлов, А.О. Рыбин, А.А. Курилова, Л.А. Дыкман// Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии: Материалы Международной научно-практической конференции, г. Саратов, 16 марта 2016. – Саратов, ИЦ Наука, 2016. - С. 180-184.

66. Козлов, С.В. Шоболев С.В. Изучение общетоксического действия прототипа инъекционного препарата на основе полимерных матриц (мицелл) и метилурацила/ С.В. Шоболев, С.В. Козлов, Н.С. Бурцева// Инфекционные болезни животных и антимикробные средства: Материалы международной научно-практической конференции, г. Саратов, 10 ноября 2016. – Саратов, изд-во Саратовского ГАУ, 2016. - С. 271-279.

67. Козлов, С.В. Теоретические и практические аспекты ранней диагностики гепатозов у высокопродуктивных молочных коров / И.И. Калюжный, А.А. Волков, И.С. Степанов, А.В. Красников, А.В. Молчанов, С.В. Козлов, С.А. Староверов// Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: Материалы Международной научно-практической конференции г. Саратов, 28 февраля-24 марта 2017. – Саратов, изд-во Саратовский ГАУ, 2017. - С. 52-73.