

УДК 619:615.099; 619:615.9

ГЕПАТОЗАЩИТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИКВЕРОЛА

¹М.П. Семененко, доктор ветеринарных наук

¹О.А. Фомин, аспирант

²С.И. Кононенко, доктор сельскохозяйственных наук,
профессор

¹Е.В. Кузьмина, доктор ветеринарных наук

¹Краснодарский научно-исследовательский
ветеринарный институт, Краснодар, Россия

²Северо-Кавказский научно-исследовательский
институт животноводства, Краснодар, Россия

E-mail: sever291@mail.ru

Ключевые слова: лабораторные крысы, острый токсический гепатоз, гепатопротектор, печень, биохимия, кровь

Реферат. Представлены материалы по изучению гепатозащитной активности нового инъекционного гепатопротекторного препарата ликверол на модели острого токсического экспериментального тетрахлорметанового гепатита у крыс. Установлено, что ликверол проявляет выраженный фармакотерапевтический эффект при повреждении печени четыреххлористым углеродом, о чем свидетельствуют улучшение клинического состояния подопытных крыс и нормализация морфофункционального состояния печени животных. На фоне введения препарата в гепатоцитах уменьшаются признаки развития цитолитического и холестатического синдромов, а также нормализуются обменные процессы, что проявляется достоверным снижением активности аспаратаминотрансферазы – на 24,0%, аланинаминотрансферазы – на 33,9%, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтранспептидазы, холестерина и общего билирубина – в 1,2; 1,1; 1,6 и 1,45 раза соответственно, а также увеличением уровня общего белка на 24,8%. Ликверол способствует ингибированию процессов перекисного окисления липидов и повышает мощность эндогенной антиокислительной системы организма, что проявляется снижением диеновых конъюгатов в 2,15 раза, кетодиенов – в 1,67, малонового диальдегида – в 1,36 раза. Уровень среднемолекулярных пептидов снижается в 2,38 раза, подтверждая эффективность проводимого лечения.

HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF LIQUIROL

¹Semenenko M.P., Dr. of Veterinary Sc.

¹Fomin O.A., PhD-student

²Kononenko S.I., Dr. of Agricultural Sc., Professor

¹Kuzminova E.V., Dr. of Veterinary Sc.

¹Krasnodar Research Veterinary Institute,
Krasnodar, Russia

²North-Caucasus Research Institute of Animal Husbandry, Krasnodar, Russia

Key words: laboratory rats, severe toxic hepatitis, hepatoprotector, liver, biochemistry, blood.

Abstract: The paper studies hepatoprotective effect of new injection hepatoprotective specimen liquirol on the model of severe toxic experimental tetrachlormethane hepatitis of rats. The authors found out that liquerol has pharmaceutical and therapeutic effect when tetrachloromethane affects the liver. This is proved by better condition of tested rats and morphofunctional condition of their liver. Applying the specimen, the authors observed reducing of cytolytic and cholestatic syndromes, improving of metabolism that reduces the effect of aspartate aminotransferase on 24.0%, glutamyl pyruvic transaminase on 33.9%, alkaline phosphatase in 1.2, gamma-glutamyltrans-peptidase in 1.1, cholesteroline in 1.6 and total bilirubin in 1.45 times; crude protein increased on 24.8%. Liquerol enhances inhibiting of lipid peroxidation and increases capacities of endogenous antioxidative system. The number of dien conjugates reduces in 2.15 times, ketodien number reduces in 1.67

time, and malondialdehyde – 1.36 time. The level of midmolecule peptides reduces in 2.38 times that confirms the effect of treatment.

Основной тенденцией развития молочного скотоводства в настоящее время является увеличение производства молока при одновременном снижении затрат на содержание животных и сохранение их продуктивного здоровья [1].

Однако современная экологическая обстановка, частые нарушения условий кормления и содержания, увеличение интенсивности воздействия химико-физических и биологических токсикантов, низкий адаптивный потенциал самих животных в конечном итоге приводят к метаболической переориентации организма и глубоким нарушениям всех видов обмена веществ [2–4].

Постоянный технологический стресс у животных обуславливает возникновение перенапряжения систем, обеспечивающих гомеостатическую стабильность организма, и является пусковым механизмом снижения неспецифической резистентности и развития ряда патологий. Подобная картина преимущественно характерна для высокопродуктивных, конституционально измененных пород скота, у которых за счет физиологических особенностей, заложенных на генетическом уровне, метаболический синдром проявляется в первую очередь нарушением функциональной деятельности печени [5–7].

Функции печени сложны и многообразны. Это – уникальный орган, сохраняющий динамическое постоянство внутренней среды организма животного. Практически не существует ни одной обменной реакции в организме, которая так или иначе не была бы связана с процессами, протекающими в печени [8–11].

В связи с ее многочисленными функциями именно печень чаще всего подвергается негативному влиянию различных факторов, приводящих к повреждению клеток печени – гепатоцитов или развитию в них дистрофических процессов, обуславливающих возникновение гепатопатий.

При этом независимо от причины, повлекшей за собой развитие патологических процессов в клетках печени, сам процесс снижения функциональной активности гепатоцитов связан либо с повреждением и разрушением клеточных мембран, либо с ослаблением деятельности органелл самих клеток вследствие их дистрофических поражений [12].

Поэтому комплексная терапия данных патологий, помимо устранения этиологических факторов, влияющих на развитие гепатопатий, долж-

на основываться и на использовании лекарственных средств с направленным действием на клетки печени, так называемых гепатопротекторов [13].

Гепатопротекторы – это лекарственные средства с преимущественным влиянием на печеночные клетки. Их действие направлено на восстановление гомеостаза в печени, повышение устойчивости органа к действию патогенных факторов, нормализацию активности и стимуляцию репаративно-регенерационных процессов в печени. В более простом варианте – это препараты, защищающие печень от повреждающего воздействия экзогенных и эндогенных факторов и/или ускоряющие ее регенерацию [14–16].

К сожалению, на сегодняшний день, несмотря на обширный арсенал современных гепатозащитных средств, поиск, разработка и внедрение в ветеринарную практику новых гепатопротекторных препаратов, обладающих эффективными фармакологическими свойствами, низкой токсичностью и отсутствием побочного действия, продолжает оставаться актуальным.

Целью наших исследований явилось изучение гепатопротекторных свойств нового инъекционного препарата – ликверола, разработанного в Краснодарском научно-исследовательском ветеринарном институте.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Любые гепатозащитные средства предназначены для нормализации метаболических функций печени при различного рода поражениях, а также восстановления функциональной активности гепатоцитов. При этом гепатопротекторы, обладая органоспецифической активностью, влияния на здоровую печень практически не оказывают. Поэтому гепатозащитная активность ликверола была изучена на модели острого токсического экспериментального тетрахлорметанового гепатита у крыс.

Ликверол – комплексный гепатопротекторный препарат для сельскохозяйственных животных, представляющий собой раствор слегка желтоватого цвета, обладающий специфическим (чесночным) запахом и вкусом.

Опыт осуществлялся в соответствии с требованиями к врачебно-биологическому эксперименту по подбору аналогов, постановке контроля, со-

блюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период проведения работы и учета результатов.

Исследования проведены на базе вивария лаборатории фармакологии Краснодарского НИВИ на 14 лабораторных крысах обоего пола с массой тела 180–200 г, разделенных на две группы. Острое токсическое повреждение печени воспроизвели однократным внутрибрюшинным введением животным 50%-го масляного раствора тетрахлорметана (CCl_4) в дозе 0,4 мл/кг массы животных [17]. При этом крысам опытной группы за 1 ч до введения четыреххлористого углерода интрагастрально вводили раствор ликверола в дозе 0,1 мл/кг (соответствующего экспериментально-терапевтической дозе) и далее внутримышечно 1 раз в сутки в течение 21 дня после интоксикации тетрахлорметаном. Крысам контрольной группы вводили эквивалентное количество физраствора по аналогичной схеме.

На 21-е сутки с начала введения тетрахлометана проводили исследование функционального состояния печени животных по степени нормализации биохимических показателей основных патологических синдромов, наблюдающихся при гепатопатиях: цитолиза – активности гепатоиндикаторных ферментов – аланинаминотрансферазы (АлАт), аспартатаминотрансферазы (АсАт); холестаза – активности в сыворотке крови щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтранспептидазы (γ -ГГТ), содержания билирубина и холестерина; белково-синтетической (содержание общего белка) функции; показателей антиоксидантной системы (диеновых конъюгатов, кетодиенов и малонового диальдегида) и уровня эндогенной интоксикации (по содержанию МСМ).

Кроме этого, у 5 интактных здоровых крыс-аналогов, содержащихся в условиях вивария, на заключительном этапе эксперимента также отбирали кровь для биохимического исследования с целью сравнительного анализа показателей животных, подвергнутых интоксикации, со значениями физиологической нормы.

Помимо этого, о степени гепатозащитного действия ликверола судили по его влиянию на клинический статус и выживаемость опытных крыс.

Оценку показателей системы ПОЛ-АОЗ проводили в соответствии с методическими рекомендациями ВНИВИПФиТ (1997) по изучению процессов перекисного окисления липидов и си-

стемы антиоксидантной защиты организма у животных).

Уровень эндогенной интоксикации определяли по методу Н.И. Габриэлян и В.И. Липатовой [18]. Принцип метода заключается в осаждении белков раствором трихлоруксусной кислоты с последующим определением МСМ путем прямой спектрофотометрии при различных длинах волн. Метод основан на поглощении ультрафиолетового света в диапазоне длин волн 230–280 нм радикалами ароматических аминокислот (в основном тирозина, триптофана), содержащихся практически во всех белках. Для количественного определения содержания белка обычно проводят измерение экстинкции растворов при 260 и 280 нм, учитывая, что максимум поглощения света нуклеиновыми кислотами – 260 нм. Светопоглощение при длине волны 280 нм заключается в больших различиях содержания ароматических аминокислот (тирозина, триптофана и фенилаланина) в составе отдельных белков анализируемой пробы.

Лабораторные биохимические исследования проводились на автоматизированном биохимическом анализаторе Vitalab Flexor (Нидерланды).

Полученные в опытах цифровые данные были подвергнуты биометрической обработке методом вариационной статистики по Е.М. Меркурьевой [19] с помощью программного обеспечения фирмы Microsoft Office Excel, фирмы Carl Zeiss. Критерий достоверности определяли по таблице Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что острый токсический гепатит вызывает выраженную гиподинамию, апатию, слабую реакцию на внешние раздражители или ее полное отсутствие, снижение аппетита и потребления воды, взъерошенность и сухость шерстного покрова, желтушность видимых слизистых оболочек. Подобная клиническая картина в контрольной группе наблюдалась в течение 14–16 дней, затем признаки токсикоза стали ослабевать. При этом в опытной группе крыс уже на 6-е сутки эксперимента произошло нивелирование токсического эффекта, проявляемое улучшением внешних клинических признаков – повышением двигательной активности, улучшением аппетита и снижением желтушности слизистых.

Биохимическое исследование сыворотки крови крыс, участвующих в эксперименте, показало,

что введение ликверола животным на фоне острого токсического гепатита способствовало восстановлению нарушенной функциональной активности печени и снижению синдрома цитолиза гепатоцитов (табл. 1).

Так, к концу экспериментального периода в опытной группе отмечается достоверное снижение активности ферментов сыворотки крови белых крыс в сравнении с группой контроля: АсАт – на 24,0, АлАт – на 33,9%, хотя данные показатели

еще не достигли уровня значений интактных животных, превышая их на 21,5 и 60,6%.

Значительное возрастание активности аламин- и аспаратаминотрансферазы у контрольных животных свидетельствует о нарушении целостности гепатоцитов. Причем повышение уровня АлАТ проявилось более существенно, чем АсАТ, что может служить маркером острого поражения печени, поскольку в процессе цитолиза гепатоцита в кровь вначале поступает именно АлАТ.

Таблица 1

Биохимические показатели крови крыс при экспериментальном тетрахлорметановом гепатите и применении ликверола (M±m)

Biochemical parameters of rat blood at experimental tetrachloromethane hepatitis and application of liquerol (M±m)

Показатели	Группа		
	интактная (n=5)	контрольная (CCl ₄) (n=7)	опытная (CCl ₄ + ликверол) (n=7)
АсАт, Ед/л	154,3±7,2	246,8±12,4	187,5±11,3*
АлАт, Ед/л	76,8±2,5	186,3±5,7	123,4±4,7*
ЩФ, Ед/л	351,8±11,6	546,2±10,9	423,1±8,6*
γ-ГТТ, нМ/л	5,64±0,13	8,39±0,92	6,01±0,88*
Общий белок г/л	83,5±4,1	54,7±4,8	68,3±2,6*
Холестерин мМ/л	2,4±0,27	5,3±0,71	3,9±0,22
Общий билирубин мкМ/л	7,4±0,36	16,3±0,68	11,0 ± 0,85*

* Различия достоверны (P<0,05) по сравнению с животными, получавшими CCl₄ без терапии.

Кроме того, в процессе нарушения секреции и оттока желчи из гепатоцитов происходит сдавливание и разрушение эпителиальных клеток желчных протоков печени, приводящее к увеличению концентрации таких ферментов, как щелочная фосфатаза и гамма-глутамилтранспептидаза (гамма-глутамилтрансфераза), а также холестерина и билирубина. Поэтому у животных, подвергшихся острой интоксикации тетрахлорметаном, уровни данных показателей превышали значения интактных крыс в 1,55; 1,48 и 2,2 раза соответственно, тогда как применение ликверола позволило снизить холестатический синдром. При этом различия в показателях ЩФ, γ-ГТТ, холестерина и общего билирубина между опытной группой крыс и их здоровыми собратьями составили 1,2; 1,1; 1,6 и 1,45 раза, т.е. терапия ликверолом сопровождалась ослаблением патологических процессов в печени. Это подтверждается и увеличением такого показателя, как уровень общего белка, который в опытной группе к концу исследований составил 68,3±2,6 г/л против значений контрольных крыс (различия составили 24,8%).

И хотя концентрация белка не достигла уровня интактных животных, ее величина была близка к показателям нижних границ видовой нормы, что может указывать на восстановление протеинсинтетической функции печени.

Переокисное окисление липидов (ПОЛ) – это процесс окисления липидного слоя биологических мембран клеток с их последующим разрушением вследствие воздействия различного рода токсикантов. Тетрахлорамин относится к гепатотоксичным ядам, действующим на цитохром Р450-зависимую монооксидазу, расположенную в гладкой эндоплазматической сети перивенулярных гепатоцитов, что, в свою очередь, приводит к нарушению структурных и функциональных составляющих гепатоцита и является пусковым механизмом повреждения клеток печени.

Антиоксидантное действие дигидрокверцетина, входящего в состав ликверола, связывают с его способностью акцептировать свободные радикалы и/или хелатировать ионы металлов, катализирующих процессы окисления, т.е. механизм антиоксидательного действия дигидрокверцетина заключа-

ется в перехвате и ограничении повреждающего действия липидных радикалов. Дигидрокверцетин тормозит свободнорадикальное окисление как водорастворимых, так и жирорастворимых субстратов и может функционировать как ловушка активных форм кислорода и как хелатор металлов с переменной валентностью [20].

Как показали наши исследования, введение CCl_4 способствовало сдвигу про-антиоксидантного равновесия в сторону усиления перекисного окисления липидов, что проявилось повышением содержания диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и малонового диальдегида (МДА) в крови (табл. 2).

Установлено, что на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом произошло увеличение уровня диеновых конъюгатов в контрольной группе относительно интактных животных в 4,7, в опытной группе – в 4,3 раза. Уровень кетодиенов увеличился в 2,0 и 2,3, МДА – в 1,64 и 1,3 раза соответственно.

Однако применение ликверола способствовало достоверному снижению уровня ДК в 2,15 раза. Поскольку диеновые конъюгаты относятся к первичным продуктам перекисного окисления липидов – токсичным метаболитам, оказывающим повреждающее действие на липопро-теиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты, их сни-

Таблица 2

Влияние ликверола на показатели ПОЛ при интоксикации CCl_4 ($M \pm m$)
Effect of liquerol on parameters of rats at intoxication CCl_4 ($M \pm m$)

Показатели	Группа интактных животных (n=5)	Контрольная группа (CCl_4) (n=7)	Опытная группа (CCl_4 +ликверол) (n=7)
<i>ДК₍₂₃₂₎ опт. ед</i>			
Начало опыта	0,17±0,01	0,8±0,01	0,73±0,05
Конец опыта	0,16±0,02	0,84±0,03	0,39 ± 0,01
<i>КД₍₂₇₃₎ опт. ед</i>			
Начало опыта	0,13±0,01	0,26±0,04	0,30±0,01
Конец опыта	0,15±0,02	0,29±0,01	0,18±0,03*
<i>МД₍₅₃₇₎ мкМ/л</i>			
Начало опыта	1,59±0,11	2,61±0,09	2,07±0,05
Конец опыта	1,68±0,14	2,93±0,05	1,52±0,06**

* Различия достоверны ($P < 0,05$) по сравнению с интактными животными; ** с животными, получавшими CCl_4 .

жение на фоне нарастающей диеновой конъюгации в контрольной группе может указывать на выраженное ингибирующее действие компонентов, входящих в состав препарата, на проявление свободнорадикальных реакций CCl_4 .

Концентрация кетодиенов в группе с применением ликверола снизилась в 1,67 раза и приблизилась к аналогичному показателю интактных крыс, тогда как в контрольной группе процесс липопероксидации только усиливался, что подтверждалось и увеличением малонового диальдегида. К концу исследований его уровень в контрольной группе повысился по сравнению с начальными показателями еще на 12,3%, тогда как в группе опытных животных произошло снижение количества МДА в 1,36 раза.

На восстановление клеточной структуры и улучшение функциональной активности гепатоцитов указывает и изменение уровня молекул средней массы (МСМ) в крови крыс, которым на

фоне токсикоза, вызванного раствором тетрахлорметана, вводился препарат ликверол.

В последние годы лабораторное определение пула так называемых молекул средней массы – пептидов, способных оказывать токсическое воздействие и накапливаться в организме практически при всех болезненных состояниях, что является метаболическим ответом организма на любой агрессивный фактор, – получило широкое распространение в качестве основного «маркера токсичности» биосред.

Состав и концентрация МСМ в сыворотке крови зависят от патологии, характера осложнения и состояния больного. У животных с патологией печени различного генеза вследствие нарушения обменных процессов развивается синдром метаболической интоксикации. При этом роль молекул средней массы в патогенезе гепатопатий изучена недостаточно.

К концу экспериментального периода значительное повышение уровня средномолекулярных

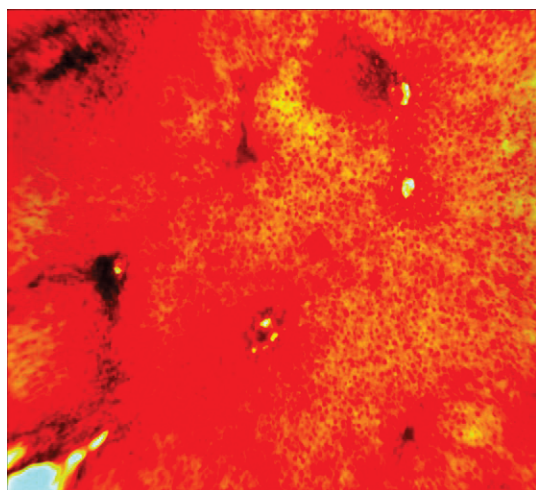
пептидов было установлено только в контрольной группе. Значения МСМ в опытной группе, хотя и превышали показатели интактных животных ($0,180 \pm 0,007$ усл. ед. против $0,110 \pm 0,002$ усл. ед.), однако были в 2,38 раза ниже, чем у крыс, не подвергнутых терапии ликверолом ($0,430 \pm 0,003$ усл. ед.).

Следовательно, применение ликверола не только нивелировало проявления токсического действия тетрахлорметана, но и способствовало снижению эндогенной интоксикации организма крыс, что может служить прогностическим критерием оценки тяжести патологического процесса в печени животных и являться маркером эффек-

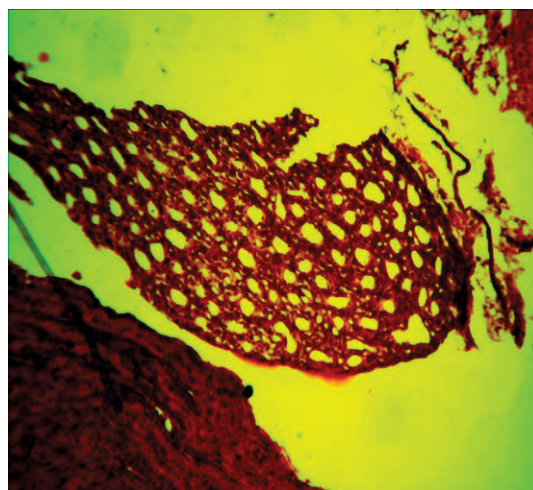
тивности проводимого лечения и прогноза заболевания.

Гепатозащитная активность ликверола подтверждалась результатами гистологических исследований.

Так, в печени крыс контрольной группы отмечалась жировая инфильтрация различной степени выраженности – от единичных жировых капель до диффузного вовлечения гепатоцитов; выявлялась гидропическая дистрофия в виде прозрачной цитоплазмы и пикнотического ядра. Установлена незначительная инфильтрация портальных зон полиморфно-ядерными лейкоцитами (рисунок).



а



б

Лимфоидная пролиферация (а) и участки жировой инфильтрации (б) в клетках печени.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 10, ув. 400.

Lymphoid proliferation (a) and plots of fat infiltration (b) in the liver cells.

Colouring with haematoxylin and eosin 10, 400

В печени крыс, которым вводили ликверол, в центре печеночных долек наблюдались участки различного размера очаговой зернистой и жировой дистрофии. Однако наряду с воспалительными проявлениями отмечались регенерационные процессы, характеризующиеся митозом гепатоцитов.

ВЫВОДЫ

1. Ликверол проявляет выраженную гепатозащитную эффективность при экспериментальном

поражении печени крыс четыреххлористым углеродом.

2. Механизм терапевтического влияния ликверола обусловлен благоприятным действием на нарушенные токсикантом метаболизм, функцию и структуру печени.

3. Препарат предупреждает развитие некротических процессов в паренхиме печени, образование продуктов перекисного окисления липидов и угнетение антиоксидантной функции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Повышение сохранности и продуктивности здоровья импортного молочного скота* / В. А. Антипов, М. П. Семененко, Н. Ю. Басова [и др.]. – Краснодар, 2009. – С. 8–11.

2. Савинков А.В., Семенов М.П., Кощаев А.Г. Опыт использования природных минеральных соединений при нарушении обмена веществ у крупного рогатого скота // Политемат. сетевой электрон. науч. журн. Кубан. гос. аграр. ун-та. – 2016. – № 124. – С. 1065–1084.
3. Семенов М.П., Савинков А.В. Проблемы нарушения минерального обмена у высокопродуктивного молочного скота // Комплексное обеспечение благополучного развития животноводческих, птицеводческих и звероводческих хозяйств: материалы семинара. – Казань, 2010. – С. 16–19.
4. Роменский Р.В., Роменская Н.В., Щеглов А.В. Гепатопатии стельных коров и их влияние на состояние воспроизводительной функции // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 3. – С. 457.
5. Эффективные зооветеринарные технологии по повышению воспроизводства, сохранности и продуктивности животных / В.А. Антипов, В.В. Меньшенин А.Н. Турченко [и др.]. – Краснодар, 2005. – С. 4–6.
6. Кондрахин И.П. Метаболический синдром: современное представление, перспективы использования // Биология животных. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 63–66.
7. Роменский Р.В., Роменская Н.В. Функциональное состояние печени как фактор реализации адаптивного потенциала организма // Биологические проблемы природопользования: Междунар. науч.-произв. конф. М-во сел. хоз-ва РФ; Белгород. гос. с.-х. акад. им. В.Я. Горина. – Белгород, 2012. – С. 73–76.
8. Алехин Ю.Н. Болезни печени у высокопродуктивных коров (диагностика, профилактика и терапия) // Ветеринария. – 2011. – № 6. – С. 6–11.
9. Ivanov D. E. Puchin'ian D. M. Liver functional disorders in traumatic stress // Usp. Fiziol. Nauk. – 1998. – Vol. 29 (I). – P. 58–71.
10. Мищенко В.А., Мищенко А.В., Черных О.Ю. Проблема патологии печени у высокопродуктивных коров // Ветеринария Кубани. – 2014. – № 2. – С. 7–8.
11. Гичев С. У. Печень: адаптация, экология / под ред. Г.С. Якобсон; Рос. акад. мед. наук. – Новосибирск: Наука, 1993. – С. 345–367.
12. Щекатикина А.С. Гепатопротекторные свойства флаволигнанов // Тр. Белорус. гос. ун-та. Сер. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – Минск, 2009. – Т. 4, ч. 1. – С. 27–48.
13. Колганова К.А. Применение гепатопротекторов в клинической практике // РМЖ. – 2008. – № 1. – С. 26.
14. Перспективы расширения спектра применения гепатопротекторов в ветеринарии / Е.В. Кузьмина, М.П. Семенов, Е.А. Старикова [и др.] // Политемат. сетевой электрон. науч. журн. Кубан. гос. аграр. ун-та. – 2014. – № 102. – С. 787–797.
15. Оковитый С.В. Клиническая фармакология гепатопротекторов. – СПб., 2006. – 80 с.
16. Этиопатогенез и особенности гепатотропной терапии коров при гепатозах / М.П. Семенов, Е.В. Кузьмина, Ф.Д. Онищук, Е.В. Тяпкина // Ветеринария. – 2016. – № 4. – С. 42–46.
17. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. проф. Р.У. Хабриева. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
18. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лабораторное дело. – 1984. – № 3. – С. 138–140.
19. Меркурьева Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1970. – 424 с.
20. Уминский А.А., Хавстеен Б.Х., Баканева В.Ф. Биохимия флаваноидов и их значение в медицине. – Пушино: Фотон-век, 2007. – 84 с.

REFERENCES

1. Antipov V.A., Semenenko M.P., Basova N. Ju., Turchenko A.N., Sapunov A. Ja., Kuz'minova E.V., Krasnodar, 2009, pp. 8–11. (In Russ.)
2. Savinkov A. V., Semenenko M. P., Koshhaev A. G., Politemat. setevoy jelektron. nauch. zhurn. Kuban. gos. agrar. un-ta, 2016, No. 124, pp. 1065–1084. (In Russ.)

3. Semenenko M.P., Savinkov A.V., *Kompleksnoe obespechenie blagopoluchnogo razvitija zhivotnovodcheskih, pticevodcheskih i zverovodcheskih hozjajstv: Materialy seminara, Kazan*», 2010, pp. 16–19. (In Russ.)
4. Romenskij R.V., Romenskaja N.V., Shheglov A.V., *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija*, 2013, No. 3, 457 p. (In Russ.)
5. Antipov V.A., Men'shenin V.V., Turchenko A.N., Semenenko M.P., Kuz'minova E.V., *Jefferektivnye zooveterinarnye tehnologii po povysheniju vosproiz-vodstva, sohrannosti i produktivnosti zhivotnyh*, 2005, Krasnodar, pp. 4–6. (In Russ.)
6. Kondrahin I.P. *Biologija tvarin*, 2010, No. 2 (12), pp. 63–66. (In Russ.)
7. Romenskij R.V., Romenskaja N.V., *Mezhdunar. nauch. – proizv. konf. M-vo. sel». hoz. RF*, 2012, Belgorod, pp. 73–76. (In Russ.)
8. Alehin Ju.N., *Veterinarija*, 2011, No. 6, pp. 6–11. (In Russ.)
9. Ivanov D.E., Puchin'ian D.M., *Usp.Fiziol*, 1998, No. 1 (29), pp. 58–71.
10. Mishhenko V.A., Mishhenko A.V., *Veterinarija Kubani*, 2014, No. 2, pp.7–8. (In Russ.)
11. Gichev S.U., *Ros. akad. med. Nauk*, 1993, Novosibirsk, Nauka, pp. 345–367. (In Russ.)
12. Shhekatihina, A.S., *Tr. Belorus. gos. un-ta. Ser.: Fiziologicheskie, biohimicheskie i molekularnye osnovy funkcionirovanija biosistem*, 2009, Vol. 4, pp. 27–48. (In Russ.)
13. Kolganova K.A., *Referativnyj mezhdunarodnyj zhurnal*, 2008, No.1, pp. 26. (In Russ.)
14. Kuz'minova E.V., Semenenko M.P., Starikova E.A., Tjapkina E.V., Fersunin A.V., *Politemat. setevoj jelektron. nauch. zhurn. Kuban. gos. agrar. un-ta*, 2014, No. 102, pp.787–797. (In Russ.)
15. Okovityj S.V. *Klinicheskaja farmakologija gepatoprotektorov* (Clinical pharmacology of hepatoprotectors), SPb, 2006, 80 p.
16. Semenenko M.P., Kuz'minova E.V., Onishhuk F.D., Tjapkina E.V. *Ve-terinarija*, 2016, No. 4, pp. 42–46. (In Russ.)
17. Habriev R.U., *Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv* (Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances), 2005, Moscow, 832 p.
18. Gabrijeljan N.I., Lipatova V.I., *Laboratornoe delo*, 1984, No.3, pp. 138–140. (In Russ.)
19. Merkur'eva E.K., *Biometrija v selekcii i genetike sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh* (Biometrics in the selection and genetics of farm animals), 1970, Moscow, Kolos, 424 p.
20. Uminskij A.A., Havsteen B.H., Bakaneva V.F., *Biohimija flavanoidov i ih znachenie v medicine* (Biochemistry of flavonoids and their importance in medicine), 2007, Pushhino, Foton-vek, 84 p.