

На правах рукописи



Пугатина Алена Евгеньевна

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ СРЕДСТВА «ЯНТОВЕТ» ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ
ПЕЧЕНИ У ЖИВОТНЫХ**

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

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Казань – 2019

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

Научный руководитель

Грачева Ольга Анатольевна
кандидат ветеринарных наук, доцент

Официальные оппоненты

Никулин Иван Алексеевич – доктор ветеринарных наук, профессор кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I»

Смоленцев Сергей Юрьевич – доктор биологических наук, профессор кафедры технологии производства продукции животноводства ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет»

Ведущее учреждение

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»

Защита состоится «20» февраля 2020 г. в 12⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.01 ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте <http://kazanveterinary.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г. и размещен на сайтах <http://www.vak.ed.dov.ru> и <http://kazanveterinary.ru>

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук



Юсупова Галия Расыховна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Поскольку болезни печени широко распространены в животноводстве, профилактика и коррекция нарушений её функций у животных остается одной из острых проблем. В последнее время ведётся активный поиск безопасных и экономически обоснованных средств, повышающих устойчивость печени к патологическим воздействиям, усиливающих её обезвреживающие функции путём повышения активности её ферментных систем, а также способствующим восстановлению функций при различной патологии (Брайтигам В. и соавт., 1999; Владимиров Ю.А., 2000).

При токсическом поражении печени одним из первых звеньев в цепи патологических нарушений является мембраноповреждающий эффект, который приводит к расстройству функционирования системы микросомальных и митохондриальных ферментов, участвующих в поддержании гомеостаза клетки (Абдуллаев Н.Х. и соавт., 1985; Караев А.Л. и соавт., 1997). Следующим этапом является нарушение энергопродукции в клетке и, как следствие, избыточное образование свободных радикалов, что в свою очередь приводит к гипоксическому и свободнорадикальному некробиозу. С точки зрения фармакологической коррекции, весьма существенной помощью для клеток печени являются два основных момента: энергокоррекция и антиоксидантная защита клеток. По этой причине лекарственные средства, способные эффективно корректировать метаболизм клеток и их энергетический обмен, всё шире используются при различных заболеваниях как полноценный компонент комплексной патогенетической терапии. Установлено, что янтарная кислота и бутафосфан обладают такими свойствами и могут применяться в комплексной терапии заболеваний печени (Ивницкий Ю.Ю. и соавт., 1998; Смирнов А.В. и соавт., 2014), в связи с чем выбранная нами тема является актуальной.

Степень её разработанности. Функциональному состоянию и болезням печени посвящены исследования Ф. Гутира (1963), Н.Х. Абдуллаева (1985, 1989), В.М. Виноградова (1985), П.В. Гулак (1985), И.М. Карпуть (1989), Д.В. Гарбузенко (2001), В.С. Бьюрдж (2004), К.Х. Папуниди (2005), Л.Р. Гатаулина (2010), А.П. Курдеко (2011), В.В. Великанова (2013), М.А. Медведевой (2013), Р.А. Мерзленко (2013), Н.К. Хлебус (2016), И.А. Никулина (2018) и других учёных, в работах которых показаны этиологические факторы, патогенез, симптоматика, диагностика, лечение и

профилактика болезней печени у животных.

Ролью гепатопротекторов и их механизмом действия, а также вопросами применения антиоксидантов, в частности, янтарной кислоты в качестве средств профилактики и лечения заболеваний обмена веществ и печени занимались Basnet P. с соавторами (1996), Srivastava S. с соавторами (1996), К.Х. Папуниди (1996-2001), А.В. Иванов (1996-2000), М.Г. Зухрабов (2000), О.А. Трубникова (2000), Д.М. Мухутдинова (2001), А.И. Венгеровский (1999), Е.А. Рожкова с соавторами (2007), Т.Г. Сазонтова с соавторами (2007), Т.Д. Звягинцева (2009), О.Ю. Бычкова (2011), С.В. Морозов с соавторами (2011), А.В. Смирнов с соавторами (2014), М.П. Семененко (2018) и другие.

Несмотря на наличие работ, посвященных терапии и профилактике заболеваний печени у животных, их доля, затрагивающая вопросы применения митохондриальных субстратов в качестве средств лечения патологий гепатобилиарной системы чрезвычайно мала. Поэтому разработка и внедрение новых препаратов, обладающих гепатопротекторным действием, продолжает оставаться актуальной.

Цели и задачи. Целью наших исследований явилось изучение гепатопротекторного действия нового метаболического средства «Янтовет», разработанного на кафедре терапии и клинической диагностики с рентгенологией ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, где активным веществом является янтарная кислота и бутафосфан, на модели экспериментального гепатита кроликов, а также изучение его влияния на клинικο-физиологический статус, некоторые гематологические показатели и продуктивность поросят при токсической дистрофии печени.

Исходя из цели работы, были поставлены следующие задачи:

1. Изучить возможность создания экспериментальной модели токсического поражения печени четырёххлористым углеродом на кроликах;
2. Проанализировать влияние испытуемого средства «Янтовет» на клинικο-физиологические, морфологические и биохимические показатели крови при токсическом экспериментальном гепатите у кроликов;
3. Установить этиологические факторы токсической дистрофии печени поросят в ООО «Яна тормыш» Балтасинского района РТ;
4. Оценить влияние средства «Янтовет» на клинικο-физиологический статус, динамику морфологических и биохимических показателей крови при токсической дистрофии печени поросят;

5. Определить влияние изучаемой композиции на сохранность, продуктивность поросят и безопасность полученной от них продукции;
6. Определить экономическую эффективность применения изучаемого средства «Янтовет» в схеме лечения токсической дистрофии печени.

Предмет и объект исследования. Предмет исследования – изучение гепатопротекторной активности композиции «Янтовет» при заболеваниях печени. Объектом исследования служили кролики в возрасте 3-х месяцев породы Белый великан и поросята-отъёмыши в возрасте 2-х месяцев крупной белой породы, кровь, гистопрепараты печени.

Научная новизна. Впервые были установлены гепатозащитные свойства нового метаболического средства «Янтовет» на экспериментальной модели токсического гепатита кроликов. Впервые изучены и установлены гепатопротективные свойства композиции янтарной кислоты и бутафосфана, а также возможность её применения при лечении больных токсической дистрофией печени свиней. Показано, что применение исследуемого средства поросятам при гепатодистрофии выражалось стимуляцией физиолого-биохимических реакций, обеспечивающих положительные гемопозитический, гепатозащитный и ростостимулирующий эффекты организма, при этом оно не влияло на качество продукции.

Научная новизна работы подтверждена Патентом РФ № 2701503, 18.01.2019 «Лекарственное средство для нормализации метаболических процессов у животных».

Теоретическая и практическая значимость. Полученные в ходе выполнения исследований данные позволили расширить и дополнить сведения о применении янтарной кислоты и бутафосфана в животноводстве, в частности, их использования в качестве лечебно-профилактического средства в комплексной схеме лечения заболеваний печени.

Теоретическая значимость исследования определяется тем, что научные и практические проблемы, поднимаемые в ней, непосредственно связаны с решением актуальных задач повышения эффективности, конкурентоспособности и качества продукции отечественного свиноводства.

Полученные в ходе проведённых исследований результаты в значительной степени расширяют сведения о методах и средствах коррекции патологии печени. Разработанный способ применения предлагаемой композиции рекомендуется к использованию в животноводческих хозяйствах для повышения сохранности поголовья, продуктивности и качества

получаемой продукции и внедрены в ООО «Яна Тормыш» Балтасинского района РТ.

Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе ВУЗов ветеринарного профиля по дисциплине «Внутренние незаразные болезни животных», «Патологическая анатомия», «Фармакология».

Диссертация Пугатиной А.Е. соответствует содержанию паспорта специальности научных работников: 06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных в области исследований пп. 3, 4, 9.

Методология и методы исследования. Методологические подходы в решении задач диссертационного исследования основаны на литературном поиске, посвящённом обоснованию актуальности, целей и задач исследований, анализе отечественных и зарубежных публикаций по тематике исследования, конструированию и изучению новой композиции «Янтовет».

Для достижения основной цели диссертационной работы – изучить гепатопротекторное действие нового метаболического средства «Янтовет» в условиях экспериментального и производственного опыта при заболеваниях печени у лабораторных и сельскохозяйственных животных – использован комплекс доступных современных и сертифицированных методов исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. Применение средства «Янтовет» при экспериментальном токсическом гепатите кроликов улучшает морфофункциональное состояние печени, устраняя признаки синдромов цитолиза и холестаза, нарушений пигментного и белково-липидного обмена;
2. Включение средства «Янтовет» в схему лечения токсической дистрофии печени поросят повышает терапевтическую эффективность, сохранность и продуктивность поросят по сравнению с общепринятой схемой;
3. Обоснована экономическая эффективность применения композиции янтарной кислоты и бутафосфана в схеме лечения токсической дистрофии печени поросят и безопасность полученной от них продукции.

Степень достоверности и апробация результатов. Научные исследования проведены на достаточном количестве животных, выполнены на сертифицированном оборудовании по современным методикам и подвергнуты статистической обработке. Достоверность научных исследований подтверждается актом научно-производственного опыта,

публикацией результатов исследования в рецензируемых изданиях, апробированы на специализированных научных конференциях.

Основные положения диссертационной работы были представлены, обсуждены и положительно охарактеризованы: на IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Barcelona Spain (г. Испания, 2018); на Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Наука и инновации в АПК XXI века» (г. Казань, 2018); на Всероссийской научно-практической конференции «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК» (г. Казань, 2018); на Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых учёных высших учебных заведений МСХ РФ по номинации «Ветеринарные науки» (г. Казань, 2018, 2019); на VI Молодёжной научно-практической конференции «Студенчество России: XXI век» (г. Орёл, 2018); на Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодёжи «Молодёжные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК» (г. Казань, 2019); в открытом конкурсе научных работ среди обучающихся на соискание премии имени Н.И. Лобачевского (г. Казань, 2019).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК РФ – 6, в материалах научно-практических конференций – 5, Web of Science – 1, получен 1 Патент РФ.

Объём и структура диссертации изложена на 157 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты экспериментов, заключение, практические предложения, список сокращений, список литературы и приложения. Работа содержит 23 таблицы, 44 рисунка и 3 формулы. Список литературы включает 286 источников, из которых 225 отечественных и 61 зарубежных авторов.

2. ОСНОВНЫЕ СОДЕРЖАНИЯ РАБОТЫ

2.1 Материалы и методы исследований

Экспериментальные исследования выполнены в период 2016-2019 гг. на базе кафедры терапии и клинической диагностики с рентгенологией ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и в условиях свиноводческого комплекса ООО «Яна тормыш» Балтасинского района РТ. Общее количество и объём проведённых исследований представлен в таблице 1.

Во всех экспериментах использовали композицию «Янтовет», которая представляет собой прозрачную жидкость без цвета и запаха, содержащую в своём составе: 1% янтарной кислоты, 10% бутафосфана, 0,5% новокаина и дистиллированной воды до 100 мл.

Подопытные и контрольные группы животных формировали по принципу пар – аналогов. В течение всего опыта животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления.

Таблица 1 – Методы и объём проведённых исследований

Наименование исследования	Вид животных	Количество	
		животных	исследований
Гематологические	кролики	20	720
	поросята	45	1620
Биохимические	кролики	20	960
	поросята	45	2160
Клинические	кролики	20	80
	поросята	45	180
Патологоанатомические	кролики	5	5
Гистологические	кролики	8	32
ВСЭ мяса	поросята	9	162
Всего	кролики	20	1797
	поросята	45	4122

Доклинические испытания на кроликах проводились на 20 кроликах, живой массой 2,5-2,7 кг в возрасте 3-х месяцев породы Белый великан. Животные содержались в условиях вивария ФГБОУ ВО Казанской ГАВМ с соблюдением стандартов документа «Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986) и правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ. Моделирование острого поражения печени проводили путём внутрибрюшинного введения 50% раствора CCl_4 на оливковом масле из расчёта 1 мл на кг массы тела. Опытных животных разделили на 4 группы: первая группа – введение четырёххлористого углерода (контроль), второй – на фоне отравления, начиная с 5-го дня эксперимента трехкратно каждые 3 дня внутримышечно вводили испытуемое средство в дозе 1 мл/животное, третьей – средство «Янтовет» вводили до токсического воздействия и далее по аналогичной второй группе схеме, четвёртая группа была интактной (здоровые животные). Перед началом эксперимента и на 5-ые, 15-ые, 30-ые сутки проводился гематологический

анализ. В конце исследования животных подвергали эвтаназии.

Общее клиническое исследование животных, находящихся в опыте, осуществляли по общепринятой схеме клинического исследования. УЗИ диагностика печени кроликов до эксперимента и в период исследования осуществлялась на аппарате Mindray DC-7 с использованием линейного датчика, а рентгенографические исследования с помощью рентгеновского аппарата Dongmun DIG-360.

Для изучения гистологического строения печени были применены обзорные методики окрашивания гематоксилином-эозином, использовался гематоксилин Бемера и водный 0,1% раствор эозина, а также азур II эозином.

Для оценки лечебно-профилактической эффективности композиции «Янтовет» на поросятах-отъёмышках при токсической дистрофии в условиях ООО «Яна тормыш» Балтасинского района РТ дополнительно к принятой в хозяйстве схеме лечения, включающей в себя Е-селен в общепринятых дозах, использовали «Янтовет»: первой опытной группе животных трижды за эксперимент с интервалом в 7 дней внутримышечно из расчета 0,3 мл/кг, второй опытной группе – 0,5 мл/кг живой массы, третья группа животных служила контролем.

Диагностику функционального состояния печени проводили на основании данных анамнеза, симптомов, морфо-биохимических исследований крови. С целью установления этиологических факторов был осуществлен отбор проб грунта в зоне хозяйственного пользования, а также средних проб применяемого комбикорма для определения в них содержания некоторых микроэлементов и концентрации микотоксинов. Определение микроэлементов в почве проводили атомно-абсорбционным методом на атомно-абсорбционном спектрометре Anylist 400 (США).

Отбор проб крови у кроликов из яремной вены и у поросят из орбитального венозного синуса, её анализ проводился перед началом эксперимента и через каждые десять дней до окончания опытов. Морфологические исследования включали определение уровня гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов, подсчёт лейкоцитарной формулы общепринятыми методами. Биохимические исследования проводились на анализаторе «Biochem SA» и включали определение некоторых показателей белкового обмена (содержание общего белка, альбуминов и глобулинов), углеводного (уровень глюкозы) и липидного (количество триглицеридов и холестерина) обменов, а также уровня маркеров, характеризующих функциональное состояние печени (активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ),

глутамилтранспептидазы (ГТП), общего билирубина).

Полученные в результате исследований данные подвергали вариационно-статистической обработке с применением критерия достоверности Стьюдента. Расчёт экономической эффективности применения изучаемого средства осуществлен по методике, разработанной И.Н. Никитиным ФГБОУ ВО Казанской ГАВМ.

2.2 Результаты исследования

2.2.1 Изучение гепатопротекторного действия средства «Янтовет» при экспериментальном гепатите кроликов

2.2.1.1 Оценка влияния на морфологические и биохимические показатели крови кроликов

В ходе клинических исследований установлено, что у животных в течение первых 3-х суток после применения токсиканта развивались клинические симптомы интоксикации, которые выражались в угнетении и адинамии, животные слабо реагировали на внешние раздражители, у них отмечалась анорексия, диспепсические явления.

Контрольные взвешивания опытных животных показали, что у кроликов с экспериментальным гепатитом живая масса за период эксперимента уменьшалась на 130 г, тогда как в контрольной (интактной) группе среднесуточный прирост составил 370 г. В группах, где животные получали изучаемую композицию, была отмечена умеренно положительная динамика прироста массы соответственно на 40 и 150 г.

Исследованиями установлено, что введение тетрахлорметана угнетает кроветворение, что выражается снижением уровня гемоглобина в крови опытных животных по сравнению с фоновыми значениями и с таковыми у интактных животных в среднем 43%. К 15-м суткам эксперимента отмечен положительный эффект от применения средства «Янтовет» во второй и третьей группах, где уровень гемоглобина стал повышаться и достиг к концу эксперимента фоновых значений, однако отличался от такового показателя крови интактных животных.

Аналогичная динамика выражена и в изменении количества эритроцитов, на 5-е сутки после токсического влияния уровень эритроцитов в крови снизился на 33-36% у всех животных подопытных групп, в последующие сроки он незначительно возрастал во всех группах, но более значимые изменения происходили в третьей группе. К 30-му дню исследований показатель в данной группе был ниже на 11,2%, чем уровень у здоровых животных, однако превышал таковой у первой группы на 13%. Количество лейкоцитов резко возрастало во всех группах и оставалось выше

физиологически нормальных значений практически до конца срока наблюдений. При изучении лейкоцитарной формулы установлено, что изменения происходят за счёт увеличения процентного соотношения сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов.

Таким образом, экспериментальная модель токсического гепатита, вызванная внутрибрюшинным введением тетрахлорметана (ТХМ), сопровождается угнетением гемопоэза, а применение испытуемой композиции вызывает частичное снижение токсических свойств ТХМ, за счёт содержащейся янтарной кислоты, которая вызывает инактивацию свободнорадикальных процессов ПОЛ.

При токсическом гепатите, индуцированном ТХМ, отмечается функциональная недостаточность печени и угнетение её функций. При анализе биохимических показателей на пятый день эксперимента установлены биохимические изменения, такие как гипопроteinемия, гиперлипидемия (таблица 2). При развитии острого токсического гепатита содержание общего белка и альбумина в сыворотке крови опытных кроликов, по отношению к фоновым и контрольным значениям, снижается в среднем на 20-25%, что говорит о функциональной недостаточности печени. Данная тенденция сохраняется у кроликов с картиной токсического поражения печени до конца срока исследования, тогда как в группах, где на разных сроках применяли композицию «Янтовет», негативное действие на белковый обмен было менее выражено.

Таблица 2 – Изменение биохимических показателей в сыворотке крови подопытных кроликов ($M \pm m$, $n=5$)

Показатель	Группа	Сроки исследований, сутки			
		Фон	5	15	30
Общий белок, г/л	1 опытная	67,60±0,91	51,60±1,82*	48,00±1,90*	49,40±1,04*
	2 опытная	66,80±1,08	50,40±2,46*	50,40±1,04*	62,00±1,37*
	3 опытная	68,00±1,58	51,60±1,04*	58,60±1,35*	63,80±2,33
	контроль	68,00±1,27	65,00±1,84	65,40±1,79	66,00±1,90
Альбумин, г/л	1 опытная	32,78±0,90	22,24±0,81*	23,28±0,38*	22,78±0,71*
	2 опытная	33,30±0,31	27,52±0,25*	28,98±0,75*	27,22±1,04*
	3 опытная	35,12±1,24	28,22±0,42*	27,38±0,31*	30,80±0,49
	контроль	33,54±0,85	34,62±1,50	35,96±1,03	35,80±1,36
Глобулины, г/л	1 опытная	34,82±1,36	29,36±0,49*	24,72±1,04*	26,62±0,71*
	2 опытная	33,50±0,81	22,88±2,41*	21,42±1,19*	34,78±1,49
	3 опытная	32,88±2,59	23,38±0,91*	31,22±1,42	33,00±2,24
	контроль	34,46±2,0	30,38±0,43	29,44±1,07	30,20±1,19
Глюкоза, ммоль/л	1 опытная	7,68±0,12	10,72±0,36*	7,84±0,33	5,20±0,54*
	2 опытная	7,52±0,13	11,28±0,44*	7,12±0,28	5,90±0,16*
	3 опытная	7,30±0,11	10,38±0,30*	7,70±0,41	7,36±0,14
	контроль	7,52±0,13	7,54±0,10	7,44±0,17	7,48±0,19

Примечание: * – $p \leq 0,01$ по отношению к фону.

В третьей группе, где изучаемое средство применяли до начала интоксикации и в момент развития воспалительного процесса, к 15-му дню исследований среднее значение общего белка приближается к нижним границам референсных значений, а к 30-му дню практически достигает фоновых значений. Во второй группе, где введение средства «Янтовет» осуществлялось после появления клинической картины гепатита, данный показатель нормализуется к 30-му дню исследований, когда разница к контрольным и фоновым значениям составляет 4-7%.

При экспериментальном токсическом гепатите в сыворотке крови кроликов на 5-е сутки эксперимента происходит достоверное увеличение уровня глюкозы. Введение испытуемого средства кроликам третьей группы приводит к нормализации этого показателя уже к 15-му дню исследований, приближаясь к фоновым и контрольным значениям, тогда как у кроликов первой и второй групп уровень глюкозы в сыворотке крови снижается и к 30-му дню исследований остаётся ниже фоновых показателей соответственно на 30,3 и 21,5%.

Изменение содержания холестерина и его концентрация довольно часто связано с функциональным состоянием печени. В условиях экспериментального острого токсического гепатита наиболее достоверные изменения в крови у опытных кроликов происходили в первую неделю исследований, когда уровень общего холестерина и триглицеридов возрастал в 4-5 раз по сравнению с первоначальными данными. При этом установлен положительный эффект от применения испытуемой композиции, в третьей группе повышение данных биохимических показателей было менее значимым. К 15-му дню эксперимента уровень холестерина и триглицеридов при использовании средства «Янтовет» во второй и третьей опытных группах возвращается к исходным значениям и не отличается от показателей крови здоровых животных, тогда как в первой группе, не получавшей терапии, снижение данных биохимических показателей наблюдали вплоть до 30-го дня эксперимента. Так, уровень триглицеридов в сыворотке крови кроликов первой группы ниже фоновых значений на 39,7%, а уровень холестерина – на 12,4%, что свидетельствует о развитии хронического воспалительного процесса и печёночной недостаточности.

При использовании тетрахлорметановой модели токсического поражения печени были зафиксированы выраженные изменения активности ферментов-маркеров её функционального состояния (таблица 3).

В нашем эксперименте наблюдалось существенное увеличение активности ферментов АЛТ и АСТ уже на 5-е сутки эксперимента

соответственно в 7-9 раз по сравнению со значениями контрольной группы. У первой группы уровень АЛТ увеличился в 7 раз к фоновому значению, у второй группы вырос в 6 раз, а у третьей группы – в 7,6, что говорит о наличии серьёзных морфофункциональных нарушениях печени. На 30-е сутки эксперимента уровень АЛТ в крови исследуемых животных опытных групп уменьшался по отношению к 5-му дню эксперимента: у первой опытной группы отмечали недостоверный характер изменений в 1,6 раза, у второй группы – в 4 раза, у третьей группы – в 3 раза соответственно.

Таблица 3 – Изменение печёночных маркеров в сыворотке крови подопытных кроликов ($M \pm m$, $n=5$)

Показатель	Группа	Сроки исследований, сутки			
		Фон	5	15	30
Общий билирубин, мкмоль/л	1 опытная	4,52±0,25	15,16±0,53*	14,40±0,44*	12,36±0,71*
	2 опытная	4,24±0,37	15,20±0,44*	11,36±0,48*	10,94±0,21*
	3 опытная	4,92±0,41	13,28±0,43*	12,64±0,64*	9,50±0,38*
	контроль	4,72±0,47	5,12±0,55	4,42±0,43	4,92±0,58
АЛТ, Е/л	1 опытная	42,20 ±3,66	348,98±22,91*	331,80±26,83*	278,60±22,35*
	2 опытная	44,60±5,66	315,00±23,43*	202,00±17,54*	117,00±5,28*
	3 опытная	40,60±3,67	349,40±24,56*	147,80±12,97*	100,00±4,70*
	контроль	39,20±3,66	41,80±4,94	43,20±3,91	45,40±3,27
АСТ, Е/л	1 опытная	17,20±2,30	178,80±4,83*	133,80±9,03*	99,40±4,35*
	2 опытная	15,00±1,17	178,20±11,45*	92,20±5,03*	86,60±3,55*
	3 опытная	15,00±1,37	125,80±8,40*	96,60±4,34*	52,25±3,10*
	контроль	14,00±1,84	15,60±0,84	15,80±1,43	15,00±1,0
ГГТ Е/л	1 опытная	5,83±0,86	54,54±5,54*	36,30±2,25*	17,48±1,23*
	2 опытная	4,60±0,27	41,78±2,25*	17,00±1,62*	12,92±0,96*
	3 опытная	4,96±0,45	29,70±1,59*	20,04±2,08*	7,24±0,64
	контроль	6,10±0,33	5,25±0,51	4,96±0,35	6,08±0,54

Примечание: * – $p \leq 0,01$ по отношению к фону.

Уровень АСТ у первой группы увеличился в 9 раз относительно фона, у второй группы – в 10 раз, а у третьей – в 7 раз. На 30-е сутки исследований активность АСТ в крови животных во всех трёх опытных группах снижалась у первой группы в 2,6 раза, у второй группы – в 6 раз, у третьей группы – в 4,6 раза.

Показатели активности лактатдегидрогеназы у опытных кроликов в сыворотке крови имели несущественный характер изменений на 5-е сутки эксперимента, однако превысили данные, полученные в контрольной группе животных в 1,5 раза. На 30-ые сутки исследования уровень ЛДГ в крови во всех трёх опытных групп исследуемых животных отличался от фоновых показателей незначительно и был близок к норме физиологических значений.

Уровень ГГТ в крови кроликов на 5-е сутки повысился у всех трёх опытных групп: у первой и второй группы - в 8 раз по сравнению с

фоновыми значениями, а в третьей группе, где композицию применяли до начала эксперимента, в 5 раз. На 15-ые и 30-ые дни исследования уровень ГГТ в крови понизился во всех группах исследуемых животных.

Наши исследования позволили зафиксировать достоверное увеличение содержания билирубина в крови кроликов с экспериментальным токсическим поражением печени. Концентрация общего билирубина на 5-е сутки эксперимента в сыворотке крови животных первой и второй опытной групп в 3 раза превысила данный показатель по сравнению с фоновыми значениями и таковыми у животных контрольной группы. В третьей группе, где превентивно применяли испытуемое средство, данный показатель увеличился соответственно в 2 раза. На 30-е сутки наблюдения уровень общего билирубина сыворотки крови превышал контрольные данные в 2–2,5 раза у животных второй и третьей групп и в 3 раза в первой опытной группе, не получавшей терапевтической поддержки.

Таким образом, проведёнными исследованиями установлено, что при токсическом повреждении печени ТХМ наблюдается ряд биохимических эффектов, характеризующих функциональную недостаточность печени. Однако применение испытуемого средства частично нивелирует токсический эффект, что подтверждается ранним восстановлением биохимических показателей по сравнению с животными, которым коррекция не проводилась, при этом более выраженное нормализующее действие установлено от превентивного использования композиции.

2.2.1.2 Ультразвуковые исследования печени кроликов

УЗИ-исследованием установлено, что у интактных кроликов печень не выступала за край рёберной дуги, легко узнаваемым ориентиром в брюшной полости являлась диафрагма в виде гиперэхогенной линии, плотно прилегающей к печени. Паренхима печени по эхогенности была равна эхогенности паренхимы селезёнки. Эхоструктура печени была однородной, мелкозернистой умеренной гипоехогенности с небольшим количеством эхонегативных и эхопозитивных структур, со слабо выраженной сетью внутрипечёночных сосудов, сосудистый рисунок отличался тем, что визуализировались только крупные сосуды (воротная вена или каудальная полая вена).

На 7-е сутки эксперимента после введения токсиканта при ультразвуковом исследовании кроликов всех подопытных групп регистрировали увеличение печени в размере, повышение эхогенности капсулы органа, признаки портальной гипертензии, эхогенность паренхимы оставалась неизменной, в ряде случаев повышалась до неоднородно-гиперэхогенной, при этом контуры печени оставались ровными и чёткими,

стенки желчного пузыря уплотнялись и утолщались. Данные изменения соответствовали признакам токсического гепатита. Применение изучаемого средства «Янтовет» в опытных группах ускоряло восстановление структуры паренхимы печени, а превентивное использование композиции предотвращало развитие гепатоза, купируя структурные изменения, которые фиксировались ультразвуковыми исследованиями.

2.2.1.3 Морфологическая и гистологическая картина печени кроликов

Гистологические исследования структуры печени у подопытных и контрольных кроликов, проведённые через месяц эксперимента, показали, что токсическое вещество воздействует с меньшим уровнем повреждающего действия, если оно осуществляется после применения испытуемой композиции. Следовательно, данная композиция снижает степень повреждения гепатоцитов и других клеток организма. Результаты гистологического исследования полностью коррелируют с установленными биохимическими и физиологическими показателями.

У животных первой группы печёночные балки местами прерываются из-за полного разрушения эпителиальных клеток. Сохранившиеся гепатоциты отличаются выраженными признаками вакуольной дистрофии. Токсическое действие влияло и на структуры органа, имеющие мезенхимальное происхождение. В области триад наблюдали незначительные скопления инфильтратов клеток лимфоидного ряда. У животных второй группы также наблюдались схожие патологоморфологические изменения структуры печени, но с меньшей степенью деструкции. Рисунок гистологического строения органа у животных третьей группы был умеренно выраженным, но были и изменения, свидетельствующие о сохранении патологического воздействия. Гепатоциты имели признаки выраженной зернистой дистрофии.

2.2.2 Оценка лечебной эффективности средства «Янтовет» при токсической дистрофии печени поросят

2.2.2.1 Этиологические факторы токсической дистрофии печени поросят в ООО «Яна тормыш» Балтасинского района РТ

Данная патология имеет полиэтиологическое происхождение. Кормление поросят-отъёмышей в хозяйстве проводится сухими комбикормами собственного производства. Проведённый

микотоксикологический анализ комбикормов, где определялись микотоксины (Т-2 токсин, афлатоксин, ДОН, Зеараленон, Охратоксин А), не выявил превышение ПДК. Однако можно предположить, что суммарное воздействие микотоксинов могло оказывать повреждающее воздействие на печень и способствовать развитию патологического процесса. Кроме того необходимо учитывать синергизм действия микотоксинов и их кумуляцию в органах и тканях животных.

Нашими исследованиями показано, что уровень селена недостаточен, как в почве, так и в комбикормах, изготовленных из местного сырья, и это также является одной из причин появления токсической дистрофии печени в данном хозяйстве. Содержание селена в почве не превышало 0,05 мг/кг, в кормах – 0,01 мг/кг, что значительно ниже оптимального содержания. Анализ рациона, используемого для кормления поросят, также показал, что обеспеченность по лимитирующим веществам составила по цистину и метионину – 63 %, по витамину Е – 85 %.

2.2.2.2 Клинико-физиологический статус поросят и гематологические показатели крови на фоне применения средства «Янтовет»

При клиническом осмотре состояние всех животных оценивалось как удовлетворительное. При этом животные были вялыми, угнетёнными, пищевая возбудимость снижалась, редко наблюдалась рвота. У больных поросят наблюдалось снижение двигательной активности, они больше лежали, зарывшись в подстилку, или принимали позу "сидячей собаки". Желтушность слизистых оболочек и кожи не проявлялась или была очень незначительная. Температура тела была в пределах нормы. Заболевание сопровождалось тахипноэ и тахикардией. Живая масса поросят с признаками токсической дистрофии печени была ниже по сравнению с клинически здоровыми сверстниками на 8-10%. При клиническом мониторинге опытных животных с токсической дистрофией печени, которым применяли испытываемую схему, установили, что течение заболевания имело более сглаженный характер.

Количество эритроцитов, гемоглобина при фоновом исследовании не имело статистически достоверных различий по сформированным группам и колебалось в пределах нижних границ физиологической нормы. Достоверные изменения по всем морфологическим показателям были выражены только к концу эксперимента (на 30-е сутки). Так, за период эксперимента уровень

гемоглобина в опытных группах увеличился на 23,5 и 31,3% и был выше к концу эксперимента, чем в контроле на 16,8 и 26,0% соответственно. Аналогичная тенденция сохранялась и в отношении количества эритроцитов, увеличение числа которых за 30 дней исследования составило по отношению к фону соответственно 15,3 и 20,1%, тогда как у контрольных животных оно практически не изменялось. В начале опыта количество лейкоцитов у всех поросят было ниже нормативных значений, что может свидетельствовать об угнетении лимфопоэза. В наших исследованиях у животных опытных групп за период эксперимента количество лейкоцитов незначительно возрастало и достигало нижних границ физиологической нормы, что можно расценивать как положительную динамику. В контрольной группе эти изменения менее значительны, на 20-е и 30-е сутки опыта разница между опытными и контрольной группой составляет 11,8 и 7,5% соответственно. При анализе лейкоцитарной формулы в начале эксперимента у поросят установлена эозинопения и нейтрофилия за счёт увеличения сегментоядерных нейтрофилов. К 20-м суткам исследования процентное соотношение эозинофилов приходило в норму. При этом также уменьшилось во всех опытных группах количество сегментоядерных нейтрофилов и к 30-м суткам эксперимента достигало возрастной физиологической нормы.

В целом применение средства «Янтовет» оказывало стимулирующий эффект на гемопоэз, нормализуя сниженный уровень гемоглобина и эритроцитов до значений физиологических нормативов.

При фоновом исследовании крови установили, что показатели биохимического статуса соответствовали данным, характерным для хронических поражений печени: содержание общего белка находилось на нижней границе физиологических нормативов, причём уровень альбуминов был значительно снижен, также уменьшено и количество глюкозы в крови, что говорит о снижении синтетической функции печени (таблица 4).

Определяемые функциональные печёночные маркеры в крови подопытных животных свидетельствовали о наличии патологии в данном органе: повышены содержание общего билирубина и активность ферментов АСТ, АЛТ, ГГТ. До начала эксперимента все биохимические показатели у поросят как опытных, так и контрольной групп были аналогичными, и разница статистически недостоверна.

Таблица 4 – Биохимические показатели крови поросят-отъемышей
($M \pm m$, $n=5$)

Показатель	Группа	Сроки исследований, сутки			
		фон	10	20	30
Общий белок, г/л	1 опытная	59,00±1,27	67,80±1,67*	74,40±1,15*	74,00±1,46*
	2 опытная	60,20±1,19	65,80±1,56	75,60±0,97*	80,4±0,57*
	контроль	61,00±1,27	63,80±2,01	67,80±2,25	67,20±1,56
Альбумин, г/л	1 опытная	30,20±1,64	33,00±1,12*	34,60±0,84*	34,60±0,84*
	2 опытная	27,60±0,76	30,20±0,89	33,60±0,91*	39±1,12*
	контроль	27,54±2,06	28,64±1,38	27,60±0,76	31,00±1,06
Глюкоза, ммоль/л	1 опытная	3,56±0,16	5,22±0,13*	5,52±0,25*	5,76±0,09*
	2 опытная	3,82±0,12	5,46±0,23*	5,92±0,18*	5,82±0,13*
	контроль	3,60±0,11	3,78±0,13	4,42±0,19	4,46±0,15
Холестерин, ммоль/л	1 опытная	1,94±0,10	2,48±0,09*	2,72±0,13*	3,08±0,05*
	2 опытная	2,08±0,07	2,40±0,08	2,86±0,12*	3,58±0,18*
	контроль	1,94±0,09	1,98±0,07	2,14±0,15	2,18±0,10

Примечание: * – $p \leq 0,01$ по отношению к фону.

Использование поросятам для коррекции токсической гепатодистрофии изучаемого средства способствовало улучшению биохимических показателей крови, характеризующих состояние белкового обмена у животных. Так, достаточно низкий в начале экспериментов уровень общего белка повышался во всех группах, но в опытных группах увеличение было более значимым, и с 20-го дня разница была статистически достоверной по сравнению с контрольной группой, которая составила на конец эксперимента 10,1-19,7%. Схожая динамика установлена и в отношении уровня альбумина. Так, разница по данному показателю в первой опытной группе по отношению к контролю была наибольшей на 20-е сутки исследований и составила 25,4%, во второй – на 30-е сутки опыта (25,8%), тогда как у животных контрольной группы уровень во все сроки исследований был ниже физиологической нормы.

Уровень глюкозы на начало эксперимента находился ниже физиологической нормы, и повышение его наблюдалось во всех группах уже на 10-е сутки с начала лечения, что составило в первой опытной группе 38,1% и во второй - 44,4%. В первой опытной группе данный показатель был выше по сравнению с контрольной группой: на 20-е сутки исследования – на 24,9%, а на 30-е сутки – на 29,2%. Во второй опытной группе разница с контролем составила соответственно 33,9% и 30,5%. К концу эксперимента уровень глюкозы был в пределах референсных значений у всех животных.

Гипохолестеринемия при экзогенных интоксикациях может быть обусловлена снижением синтеза холестерина и, вероятно, некоторым

нарушением всасывания его из кишечника, в том числе связанным с диареей. При фоновом исследовании низкий уровень наблюдался у всех подопытных поросят, но в опытных группах на протяжении всего срока исследования показатель возрастал. К концу опыта его концентрация повышалась в пределах нормативных значений и была достоверно выше, чем в контрольной группе соответственно на 41,3 и 64,2%.

Гепатопротекторный эффект лечения и физиологически обусловленные компенсаторные свойства паренхимы печени приводили к нормализации пигментного обмена. Повышенный в начале исследования на 20-25% уровень общего билирубина у больных животных под влиянием изучаемого препарата снижался соответственно периодам исследования: на 10-е сутки эксперимента снижение составило 1,2-8,8% соответственно в первой и второй опытной группе; на 20-е сутки соответственно – 5,3-19,9%, а на 30-е сутки 32,2-33,6% по сравнению с контролем, достигая в опытных группах верхних границ физиологических норм. В контрольной группе уровень билирубина изменялся незначительно и был выше нормативов на всем протяжении опыта.

Динамика изменения активности некоторых ферментов при оценке влияния изучаемого средства в сыворотке крови подопытных поросят представлены в таблице 5. В процессе проведения эксперимента снижение активности ферментов под влиянием назначенного лечения происходило во всех группах, однако более ощутимые изменения происходили в опытных группах. Так, в начале исследования активность АЛТ превышала нормативные значения практически в два раза у всех подопытных поросят, при терапевтическом воздействии средства на опытных животных снижение по сравнению с контролем составило 15,7-30,2% и достигло верхних границ референтных значений.

Аналогичная тенденция просматривается в отношении активности фермента АСТ, увеличение которого выше нормы было на 40-50%. К концу срока исследования в опытных группах данный показатель достигал нормальных физиологических значений, тогда как в контрольной группе изменения были весьма незначительны. В начале эксперимента было установлено существенное повышение активности ГГТ. Под влиянием терапии в опытных группах данный показатель к концу эксперимента снижается практически в 2 раза и достигает пределов нормы, тогда как в контрольной остаётся на достаточно высоком уровне.

Таблица 5 – Активность ферментов – печёночных маркеров в крови поросят-отъёмышей ($M \pm m$, $n=5$)

Показатель	Группа	Сроки исследований, сутки			
		фон	10	20	30
Общий билирубин, мкмоль/л	1 опытная	12,18±0,51	10,80±0,68	8,72±0,46*	7,66±0,28*
	2 опытная	10,94±0,43	11,98±0,41	10,30±0,59	7,5±0,34*
	контроль	11,84±0,65	11,84±0,65	10,88±0,53	11,30±0,61
АЛТ, Е/л	1 опытная	81,40±2,71	64,20±4,89	48,20±1,92*	43,00±2,76*
	2 опытная	62,40±1,35	63,80±3,42	47,80±2,82	35,60±1,72*
	контроль	76,00±3,26	73,00±1,46	68,00±2,69	51,00±1,94
АСТ, Е/л	1 опытная	96,60±3,46	82,80±6,37	62,20±2,95*	50,60±1,35*
	2 опытная	85,40±1,68	82,20±2,53	69,40±3,75*	49,2±1,19*
	контроль	97,80±4,19	96,40±2,71	85,60±3,15	83,40±4,78
ГГТ, Е/л	1 опытная	59,80±2,43	53,20±3,65	31,20±2,46*	31,60±3,33*
	2 опытная	68,60±2,99	58,80±1,52	36,00±1,41*	29,00±1,77*
	контроль	64,00±2,74	68,80±3,44	66,40±2,59	67,40±4,16

Примечание: * – $p \leq 0,01$ по отношению к фону.

Применение испытуемого средства благоприятно влияло и на продуктивные качества. Через месяц после начала эксперимента прослеживалась тенденция к увеличению среднесуточных привесов у животных опытных групп, которые превосходили сверстников из контрольной группы на 5,9 и 8,0%. Данная динамика сохранилась и в последующий месяц наблюдения, где среднесуточные привесы поросят были выше, чем в контроле соответственно на 6,4 и 9,9%. Результаты проведенных исследований показали, что мясо, полученное от подопытных животных, по органолептическим, физико-химическим и микроскопическим показателям соответствует требованиям действующих нормативно-технических документов, предусмотренных для доброкачественного мяса здоровых животных.

Таким образом, нашими гематологическими исследованиями установлено, что применение средства «Янтовет» в дозе 0,3 мл/кг и 0,5 мл/кг массы тела оказывало стимулирующий эффект на гемопоэз у поросят, улучшало функциональную способность печени, а также положительно отражалось на их продуктивности и сохранности. Лучший эффект установлен при применении средства из расчёта 0,5 мл/кг массы тела, которая принята за оптимальную.

2.2.2.3 Ветеринарно-санитарная оценка мяса поросят

Одним из заключительных этапов исследований была ветеринарно-санитарная оценка мяса поросят, которая показала, что мясо, полученное от подопытных животных, по органолептическим, физико-химическим и микроскопическим показателям соответствует требованиям действующих нормативно-технических документов, предусмотренных для доброкачественного мяса здоровых животных.

2.2.2.4 Экономическое обоснование применения средства «Янтовет»

В результате проведённых расчётов установлено, что Экономический эффект применения в схеме лечения средства «Янтовет» составил 3954,56 руб., а эффективность ветеринарных мероприятий из расчёта на 1 рубль затрат составил 2,30 руб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные исследования, проведённые на индуцированном токсическом повреждении печени у кроликов и спонтанной токсической дистрофии у поросят, позволили сделать следующие выводы и практические предложения:

1. Результаты проведённых исследований указывают на допустимость использования модели экспериментального тетрахлорметанового токсического гепатита на кроликах, что имеет определённые преимущества над моделями у крыс и мышей из-за возможности изучения морфофункциональных показателей крови в динамике и использования инструментальных методов диагностики. Повреждение печени животных четырёххлористым углеродом сопровождалось развитием острого гепатита у кроликов, на что указывает появление признаков синдромов цитолиза и холестаза, нарушения белково-липидного обмена.
2. Трёхкратное применение средства «Янтовет» кроликам в условиях индуцированного четырёххлористым углеродом поражения печени улучшает её морфофункциональное состояние, при котором отмечается относительная стабилизация активности ферментов-трансаминаз и концентрации билирубина; превентивное применение по ряду биохимических,

энзимологических, гистологических показателей оказывает более ощутимый эффект.

3. Установлена полиэтиологичность токсической дистрофии печени поросят в условиях хозяйства, основными причинами которой являются сочетанное действие микотоксинов в кормах, дефицит селена в почве и кормах, а также витамина Е и серосодержащих аминокислот в рационе.

4. По результатам биохимических исследований установлена оптимальная доза композиции «Янтовет» при применении поросятам с токсической дистрофией из расчёта 0,5 мл/кг живой массы и её гепатопротекторный эффект, который характеризовался

- повышением содержания общего белка на 19,7% и альбуминов – на 25,9%;
- увеличением концентрации в сыворотке крови глюкозы на 30,5% и холестерина – на 64,2%;
- снижением активности ферментов АСТ на 41,0%, АЛТ – на 30,2%, ГГТ – на 57,0% и концентрации общего билирубина – на 33,6%.

5. Применение композиции «Янтовет» в схеме лечения поросят с токсической гепатодистрофией повышает эффективность комплексной терапии, при которой

- повышается сохранность на 6,7%;
- увеличивается среднесуточный прирост живой массы на 9,9%;
- ветеринарно-санитарная оценка мяса, полученного от опытных животных, свидетельствует о доброкачественности и соответствии его ГОСТу.

6. Экономический анализ показал, что включение средства «Янтовет» в схему лечения токсической дистрофии печени поросят в ООО «Яна тормыш» Балтасинского района РТ обеспечивает экономический эффект 2,30 рубля на 1 рубль затрат.

Практические рекомендации

1. В схему лечения токсической дистрофии печени поросят рекомендуется включать средство «Янтовет» трёхкратно с интервалом в 5-7 дней внутримышечно из расчёта 0,5 мл/кг массы животного.

2. Основные положения диссертационной работы используются в учебном процессе в ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ, ФГБОУ ВО Дагестанский ГАУ им. М.М. Джамбулатова.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

(* – публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ)

1. Пугатина, А.Е. Оценка влияния препарата «Янтовет» на биохимические показатели крови при экспериментальном гепатите кроликов / А.Е. Пугатина, О.А. Грачева // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2017. – Т. 232 (IV) – С.116-119.*
2. Пугатина, А.Е. Некоторые биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите / А.Е. Пугатина // Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Наука и инновации в АПК XXI века», посвященной 145-летию Казанской ГАВМ. – Казань. – 2018. – С.95-97.
3. Пугатина, А.Е. Динамика морфологических показателей при экспериментальном гепатите кроликов / А.Е. Пугатина, О.А. Грачева // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань. – 2018. – Т. 234 (II) – С.162-165.*
4. Пугатина, А.Е. Изучение гепатозащитных свойств нового препарата на модели поражения печени тетрахлорметаном / А.Е. Пугатина // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК», посвященной 145-летию Академии 30 мая 2018 года. – Казань. – 2018. – С. 133-138.
5. Пугатина, А.Е. Моделирование токсического поражения печени на кроликах / А.Е. Пугатина // Материалы VI Молодёжной научно-практической конференции «Студенчество России: XXI век», ФГБОУ ВО Орловский ГАУ. – 13 декабря. – 2018. – С. 429-439.
6. Пугатина, А.Е. Параметры печёночных маркеров при моделировании токсического поражения на кроликах / А.Е. Пугатина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019. – № 1 (75) – С. 124-126.*
7. Пугатина, А.Е. Биохимический контроль лечения при токсической дистрофии печени поросят / А.Е. Пугатина // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». – 2019. – Т. 5. – № 1 – С. 35-41.*
8. Пугатина, А.Е. Морфология печени кроликов при экспериментально вызванном гепатите и коррекции его средством метаболического действия / А.Е. Пугатина // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 237 (I) – С 156-161.*

9. Пугатина, А.Е. Эффективность препарата «Янтовет» при токсической дистрофии печени поросят / А.Е. Пугатина // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи «Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК» 28 марта 2019 г. – Казань. – 2019. – С. 103-107.
10. Пугатина, А.Е. Изучение гепатопротективного действия препарата при токсической дистрофии печени поросят / А.Е. Пугатина // Аграрный научный журнал. – 2019. – Вып. 8 – С. 53-57.*
11. Pugatina, A.E. Experimental model of toxic hepatitis on rabbits / A.E. Pugatina, O.A. Gracheva, M. G. Zukhrabov, D.R. Amirov, B.F. Tamimdarov // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science .– Spain, 2018. – 2019. – 315 – P. 1-6.
12. Pugatina, A.E. Study Of Hepatoprotective Effect Of The Drug In Toxic Liver Dystrophy Of Piglets / A.E. Pugatina, O.A. Gracheva, D.M. Mukhutdinova, I.G. Galimzyanov, D.R. Amirov, Z.M. Zukhrabova, A.R. Shageeva // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences – 2019. – Vol. 10 (2). – P. 1317-1322.
13. Патент РФ № 2019101400/10, 18.01.2019. Лекарственное средство для нормализации метаболических процессов у животных // Патент России № 2019101400/10. 2019. / Грачева О.А., Грачев А.Е., Пугатина А.Е.