

Воронцова Ольга Андреевна

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА НА
ОСНОВЕ ВОДНОГО РАСТВОРА ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ И ЕГО
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩЕЙ
СИСТЕМЫ КОШЕК**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Казань 2021

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»

Научный руководитель доктор биологических наук, доцент
Пудовкин Николай Александрович

Официальные оппоненты **Зуев Николай Петрович**
доктор ветеринарных наук, доцент, доцент
кафедры незаразной патологии ФГБОУ ВО
«Белгородский государственный аграрный
университет имени В.Я. Горина»

Киреев Иван Валентинович
кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры терапии и фармакологии
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Ведущая организация федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет»

Защита состоится 08 июня 2021г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при ФГОУ 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 ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте <http://www.казветакадемия.рф>.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г. и размещен на сайтах <http://www.vak.ed.gov.ru> и <http://www.казветакадемия.рф>.

Ученый секретарь диссертационного совета, доктор ветеринарных наук, профессор

Р.А. Асрутдинова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследований. Важным звеном патогенеза заболеваний нижних мочевыводящих путей у животных является развитие процессов деструкции клеточных мембран, клеточной паренхимы. Среди существующих путей повреждения мембранных структур ведущая роль принадлежит процессам пероксидации липидов клеточных мембран. Воспалительные заболевания мочевыводящих путей сопровождаются активацией перекисного окисления липидов в ткани почек, а также угнетением антиоксидантной системы организма (Барышев Д.Ю., Шашанов И.Р., Пахмутов И.А., Чвала А.В., 2005).

Окислительный стресс является серьезной проблемой при большинстве патологий организма животных и человека (Борискин П.В., Гуленко О.Н., Девяткин А.А., Каримова Р.Г., Леонов В.В., Павлова О.Н., Тороповский А.Н., 2020; Павлова О.Н., Гуленко О.Н., Каримова Р.Г., Борискин П.В., Девяткин А.А., Никитин А.Г., Тороповский А.Н., 2019).

Свободнорадикальное окисление липидов (СРО) – естественный метаболический процесс обновления биомембран, а также синтеза гормонов и простогландинов. В нормальных условиях СРО протекает в виде управляемой реакции, контролируемой антиоксидантной системой (АОС), которая обеспечивает механизм поддержания свободнорадикального окисления на уровне, необходимом для нормального течения окислительных процессов (Николаев С.М., Шантанова Л.Н., Мондодоев А.Г., Занданов А.О., Лемза С.В., Чукаев С.А., 2010).

Активные формы кислорода, так называемые свободные радикалы (СР), играют важную роль в биохимических и биофизических процессах в живом организме при его физиологическом и патологическом состояниях. Большинство образующихся радикалов являются высокоактивными и цитотоксичными. Они вызывают повреждения мембранных образований клеток, нуклеиновых кислот, структурных белков, коллагена. Кроме того, влияют на внутриклеточный уровень кальция, запускают каскад, ведущий к апоптозу, некрозу клеток (Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И., 1985; Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., 1972; Думпис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В., Ильин В.В., Брусина М.А., Пиотровский Л.Б., 2018; Николаев С.М., Шантанова Л.Н., Мондодоев А.Г., Занданов А.О., Лемза С.В., Чукаев С.А., 2010).

Хотя оксидативный стресс возникает при заболеваниях нижних мочевыводящих путей у млекопитающих, его роль в генезе этих повреждений до сих пор плохо изучена. В основном это связано с тем, что оксидативный стресс часто сопровождается воспалительным процессом и другими факторами, в частности гипергликемией. Мало внимания уделяется окисляемости липопротеинов, несмотря на взаимосвязь между уrolитиазом и идиопатическим циститом (Vazin N.D., 2003). Поэтому поиск новых антиоксидантов является важной задачей ветеринарной медицины.

Все больший интерес, в частности своим антиоксидантным действием, привлекают наночастицы. К нанокompозитным соединениям относятся и фуллерены. Они занимают особое место среди других наноструктур углерода, так как представляют собой единственную молекулярную форму углерода, то есть химическое соединение. Уникальность фуллеренов как класса химических соединений определяется особенностями их строения. Это выпуклые замкнутые

многогранники, образованные только четным числом атомов углерода в sp²-гибридизации, состоящие из шести- и пятичленных циклов. Они представляют собой чистый углерод. У всех других углеродных структур (алмаза, графита и т. п.) внешние валентности атомов углерода, находящихся на поверхности кристаллов, насыщены за счет присоединения атомов других веществ или групп – Н, ОН и т. п. (Пиотровский Л.Б., Литасова Е.В., Думпис М.А., 2019; Пиотровский Л.Б., 2013; Соколов В.И., Станкевич И.В., 1993; Степенщиков Д.Г., Войтеховский Ю.Л., 2016).

Фуллерен C₆₀, по сути – мощная ловушка для радикалов. В основе его антиоксидантных свойств лежит электронодефицитность его молекул и легкость присоединения свободных радикалов (Думпис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В., 2018; Думпис М.А., Литасова Е.В., Ильин В.В., Николаев Д.Н., Щукарев А.В., Пиотровский Л.Б., 2013; Думпис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В., Ильин В.В., Брусина М.А., Пиотровский Л.Б., 2018; Пиотровский Л.Б., Киселев О.И., 2006).

Интенсивное развитие ветеринарной медицины ставит перед научными работниками и практикующими ветеринарными специалистами задачи по разработке мер предупреждения заболеваний, предотвращения рецидивов, а также комплексного, научно обоснованного и эффективного фармакологического воздействия на организм больных мелких домашних животных.

Степень разработанности темы. Анализ литературных источников показал, что заболевания нижних отделов мочевыводящих путей у кошек – это синдром, обусловленный множественными причинами, включающими в себя такие нарушения, как идиопатический цистит, бактериальные инфекции, мочекаменная болезнь и новообразования (Сафронов Д.И., 2019).

В настоящее время многие исследователи предполагают, что ключевая роль в патогенезе уролитиазов принадлежит активным формам кислорода, вырабатываемым в почках за счет активации окислительных свободных радикалов, что происходит за счет взаимодействия кристаллов с эпителиальными клетками почечных канальцев (Билалов И.Н., Каримова Р.Г., 2014).

Известно, как бы грамотно не была проведена терапия заболеваний мочевыводящей системы, в конечном итоге эффекта не достичь без комплексной и патогенетической профилактики. Как правило, важные звенья патогенеза болезней мочевыводящих путей – деструкция клеточных мембран и активация процессов перекисного окисления липидов (Султонов Ш.Р., Сабурова А.М., Бобоев З.А., Атоев И.К., Махмаджонов Д.М., Курбонова Б.М., Рахмонов Ш.Д., 2018).

В литературе имеются данные о применении фуллеренов в медицинской практике. Установлено, что соединения фуллеренов имеют некоторую противовирусную активность, обладают антибактериальным действием. Экспериментально доказано, что водные растворы фуллеренов замедляют рост опухолей у мышей и увеличивают продолжительность их жизни. (Елецкий А.В., Смирнов Б.М., 1995; Пиотровский Л.Б., Киселев О.И., 2006; Пиотровский Л.Б., 2013; Думпис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В., 2018; Думпис М.А., Литасова Е.В., Ильин В.В., Николаев Д.Н., Щукарев А.В., Пиотровский Л.Б., 2014; Думпис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В., Ильин В.В., Брусина М.А., Пиотровский Л.Б., 2018; Пиотровский Л.Б., Литасова Е.В., Думпис М.А., 2019).

Однако применение соединений на основе наночастиц фуллеренов остается ограниченным. Поэтому разработка отечественных инновационных лекарственных соединений на основе фуллереносодержащих наночастиц является одним из приоритетных направлений ветеринарной медицины. Понимание молекулярных

основ действия этих частиц на клетки организма животных необходимо для определения биобезопасности их применения.

Цель и задачи исследований. Цель работы – создание нового соединения на основе водного раствора фуллерена C_{60} , его фармако-токсикологическая оценка и эффективность применения при лечении заболеваний мочевыводящей системы кошек. Для достижения заявленной цели нами были поставлены следующие задачи.

1. Создать новый препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии у животных (далее препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60}) и изучить его фармако-токсикологические свойства.

2. Провести доклинические испытания препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} .

3. Изучить особенности состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме кошек с заболеваниями мочевыводящих путей в зависимости от типа кормления; определить влияние препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} на процессы перекисного окисления липидов в организме кошек с заболеваниями мочевыводящих путей.

4. Установить влияние препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} на активность антиоксидантной системы кошек с заболеваниями мочевыводящих путей в зависимости от типа кормления и определить эффективность его применения для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии.

Научная новизна. Новый препарат создан на основе водного раствора фуллерена C_{60} . Впервые в ветеринарной практике обоснована возможность его применения кошкам. Впервые изучено влияние препарата на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной системы в организме кошек с заболеваниями мочевыводящей системы. Проведен анализ распространенности уролитиаза и идиопатического цистита среди кошек на примере г. Пензы и Пензенской области.

По результатам исследований подана заявка на патент РФ на изобретение (№ 2020111636 от 23.03.2020 г.) «Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии животных».

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы состоит в том, что изучено влияние препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной системы. Определены некоторые особенности патогенеза уролитиаза и идиопатического цистита у кошек при комплексном лечении их препаратом на основе наночастиц углерода и применении диетических кормов.

Практическая значимость работы состоит в том, что результаты исследований обосновывают возможность совместного применения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} и диетических кормов для лечения и профилактики заболеваний мочевыводящей системы кошек.

Результаты исследований внедрены в ветеринарных клиниках «Айболит-Сервис», «Кот и пес», «Ветеринарная диагностика» г. Пензы и Пензенской области, а также в «Энгельсской ветеринарной клинике», г. Энгельс Саратовской области.

Полученные данные включены в учебный процесс в ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

Методология и методы исследований. Методологическим подходом к решению поставленных задач явилось системное изучение объектов исследования, анализ и обобщение полученных результатов. Предмет исследования – ответная реакция организма кошек с заболеваниями мочевыводящей системы на комплексное лечение препаратом на основе водного раствора фуллерена C_{60} и диетическими кормами. Объекты исследования – кошки разных возрастов и пород.

В работе были использованы фармакологические, токсикологические, биохимические, морфологические, физико-химические методы.

Цифровой материал подвергался статистической обработке с вычислением критерия Стьюдента на персональном компьютере с использованием стандартной программы вариационной статистики Microsoft Excel.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. По токсикологическим свойствам препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии у животных относится к малоопасным веществам (ГОСТ 12.1.007.76) и не вызывает раздражающего и аллергического действия.

2. Результаты фармакокинетики препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} позволяют рекомендовать его для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии животных.

3. Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} оказывает положительное влияние на лечение и профилактику заболеваний мочевыводящей системы кошек.

Степень достоверности и апробация результатов исследований. Материалы диссертации доложены, обсуждены и одобрены на всероссийской научно-практической конференции «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК» (г. Казань, 2018); XIV международной научно-практической конференции «Аграрная наука – сельскому хозяйству» (г. Барнаул, 2019); конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2018 год (г. Саратов, 2019); девятой Международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии (г. Москва, 2019); V международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве» (г. Екатеринбург, 2019г.); национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и биологии» (г. Оренбург, 2020); международной научно-практической конференции «Современная ветеринарная наука: теория и практика» (г. Ижевск, 2020).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них, 3 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 2 – в журналах, входящих в базы Web of Science, Scopus.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 138 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований и заключения. Список литературы включает в себя 209 источников, из них 86 – иностранных. Работа иллюстрирована 26 таблицами и 20 рисунками.

2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Материалы и методы исследований

Исследования по теме диссертации проведены в 2017–2020 гг. в лаборатории кафедры морфологии, патологии животных и биологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». Научно-производственный опыт выполнен в ветеринарной клинике «Планета ZOO» (г. Заречный Пензенской обл.). Объектом исследования послужили кошки разных возрастных групп. Схема исследований представлена на рисунке 1.

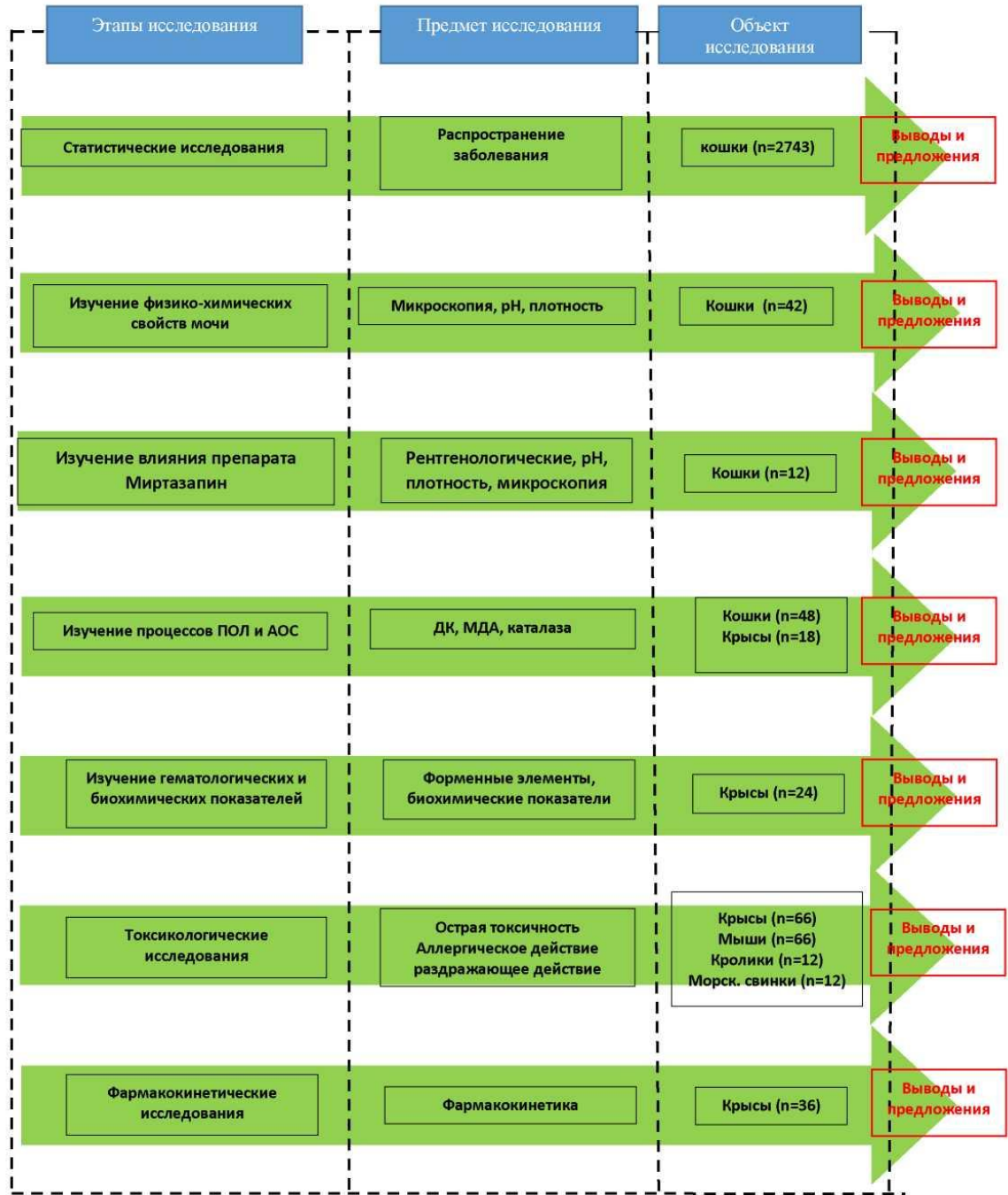


Рисунок 1 – Общая схема опыта

Острую токсичность препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} определяли на клинически здоровых самцах белых крыс и мышей, которые содержались в пластмассовых клетках согласно зоотехническим нормам.

Животных кормили по стандартному рациону (Хабриева Р.У., 2005). Масса белых крыс составляла 180–200 г, белых мышей – 18–20г.

Фармакокинетические параметры рассчитывали при однократном внутримышечном введении препарата применительно к однокамерной модели. Математическую обработку результатов по расчету интегральных – независимых фармакокинетических параметров проводили с использованием метода статистических моментов (Фирсов А.А., Пиотровский В.К., 1984).

При проведении статистических исследований нами были проанализированы случаи обращений владельцев котов и кошек с урологическим синдромом в возрасте от 6 месяцев до 12 лет, разных пород, типов кормления и условий содержания в период с 2013 по 2019 г.

На основе биохимического анализа выявляли физико-химические свойства мочи. Для этого были сформированы опытные группы кошек по принципу аналогов, по 6 голов в каждой. Животных кормили диетическим кормом в течение 30 суток. Определение физико-химических показателей мочи проводили на анализаторе Uritek-TS (США), плотности мочи – рефрактометрическим способом.

Ультразвуковое исследование мочевыводящих путей проводили на аппарате Mindray DP 6600, рентгенологическое – на рентген-аппарате Porta 120 с оцифровкой на DR-панели АКФА.

Так как мочекаменная болезнь и идиопатический цистит кошек клинически очень схожи между собой, то требуется время на постановку диагноза. Первоначально применяли симптоматическое лечение. В качестве спазмолитика первого выбора назначали препарат «Папаверин» (по 0,1–0,2 мл на 1 кг массы животного, 1–2 раза в день, 5–6 дней). Антибиотиком первого выбора являлся препарат «Синулокс» в терапевтических дозах (12,5 мг на 1 кг, 2 раза в день). Животным в тяжелом состоянии применяли инфузионную терапию в зависимости от состояния (3–7 дней). В качестве противорвотного средства использовали препарат «Серения» (0,1 мг на 1 кг, 1 раз в день, 3–4 дня).

Далее после обследования животного и получения результатов применяли соответствующую терапию. При мочекаменной болезни струвитного типа в зависимости от плотности и рН мочи назначали закисляющие корма или препараты.

При постановке диагноза идиопатический цистит очень важно для кошки изменение среды обитания и, по возможности, устранение причин стресса. Для этого назначали седативные препараты на основе фенибута, такие как «Стоп-стресс» (1 капля – 5 мг фенибута на 1 кг, 2 раза в день, 14–20 дней), «Ветспокоин» (1 таблетка на 10 кг массы, 2 раза в день, 10–15 дней или 0,2 мл на 1 кг, 2 раза в день, 10–15 дней) и т.д. В последнее время все чаще для коррекции стресса используются «Габапентин» (от 4 мг на 1 кг, 2 раза в день, до месяца) и «Миртазапин» (1,9 мг на кошку, 1 раз в 3 дня, до месяца).

Изучение влияния препарата «Миртазапин» на лечение идиопатического цистита проводили на котах. Животным первой группы, наряду с основным лечением, назначали перорально «Миртазапин» (1,9 мг ежедневно, в течение 2 недель, далее в той же дозе через день, в течение 2 месяцев). При рецидиве заболевания лечение проводили в том же объеме.

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли тиобарбитуровым методом, диеновых конъюгатов (ДК) – спектрофотометрическим методом (Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977). Антиоксидантную обеспеченность

организма оценивали по активности фермента каталазы в сыворотке крови и гомогенате тканей (Королюк М. А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарева В.Е., 1988).

Влияние коммерческих кормов и препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} на перекисное окисление липидов организма определяли по уровню содержания МДА и ДК в сыворотке крови кошек.

Цифровой материал подвергали статистической обработке с вычислением критерия Стьюдента на персональном компьютере с использованием стандартной программы вариационной статистики Microsoft Excel.

2.2 Результаты собственных исследований

2.2.1 Разработка препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии животных

Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} был разработан на кафедре морфологии, патологии животных и биологии ФГБОУ ВО Саратовского ГАУ.

Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии у животных включает в себя водный раствор фуллерена C_{60} , L-карнозина и янтарной кислоты, при следующем соотношении компонентов в мас. мг: водный раствор фуллерена C_{60} , стабилизированный плуронином F-127, – 1 мл, L-карнозин – 150 мг, янтарная кислота – 100 мг.

Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} представляет собой прозрачный раствор темно-коричневого цвета, без запаха, обладающий выраженным антиоксидантным, антигипоксическим эффектом, является ингибитором свободнорадикальных процессов, повышает стрессоустойчивость организма, низкотоксичен и удобен во введении и в дозировании. Лекарственная форма – стерильный раствор для внутримышечного введения.

2.2.2 Изучение параметров острой токсичности препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60}

Острую токсичность препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} изучали на беспородных белых мышах и белых крысах (66 животных). Белым крысам и мышам препарат вводили внутримышечно в дозах 550, 825, 1100, 5000 мг/кг (по ДВ) и внутривентрикулярно – в дозах 550, 825, 1100, 5000, 7500 мг/кг (по ДВ). За животными наблюдали в течение 14 суток после введения препарата. Объем раствора, вводимого внутримышечно, составлял для белых крыс до 1,0 мл, для белых мышей – до 0,5 мл; внутривентрикулярно для крыс – до 5 мл, для мышей – до 1 мл.

Таблица 1 – Схема опыта и результаты изучения острой токсичности препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} при внутримышечном введении животным (крысы и мыши)

Группа	Доза, мг/кг	Количество животных в опыте	Наблюдавшийся эффект	
			пало	выжило
1-я	550	6	0	6
2-я	825	6	0	6
3-я	1100	6	0	6
4-я	5000	6	0	6
5-я	Контроль	6	0	6

Таблица 2 – Схема опыта и результаты изучения острой токсичности препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} при внутрижелудочном введении животным (крысы и мыши)

Группа	Доза, мг/кг	Количество животных в опыте	Наблюдавшийся эффект	
			пало	выжило
1-я	550	6	0	6
2-я	825	6	0	6
3-я	1100	6	0	6
4-я	5000	6	0	6
5-я	7500	6	0	6
6-я	Контроль	6	0	6

Животные опытных групп (внутримышечное введение) в течение всего периода наблюдения (14 суток) передвигались по клеткам, мало отличались от контрольной группы. Реакция на внешние раздражители (звук, свет) была на уровне контроля.

При внутрижелудочном введении препарата в дозе 7500 мг/кг животные в течение первых суток были угнетены, малоподвижны, отказывались от корма. Реакция на внешние раздражители была понижена. На вторые сутки после введения препарата восстанавливались пищевое и питьевое поведение, реакции на внешние раздражители.

В течение 14 суток исследований гибели опытных животных не отмечено. В связи с этим установить LD_{50} не представилось возможным. Это позволяет считать препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} нетоксичным в испытанном диапазоне и варьировать его дозами в широких пределах.

2.2.3 Изучение раздражающего и кожно-резорбтивного действия препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60}

Оценку раздражающего и кожно-резорбтивного действия препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} проводили на морских свинках и кроликах на основании результатов постановки метода накожных аппликаций и конъюнктивальных проб. Для исследований использовали по 12 голов морских свинок и кроликов (разделенных на 2 группы).

Животным опытных групп применяли два вида препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} : первый готовили путем смешивания в 1 мл

водного раствора фуллерена C_{60} (1мг/мл по ДВ) 150 мг L-карнозина, 100 мг янтарной кислоты; второй – на основе водного раствора фуллерена C_{60} – в 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} (1мг/мл по ДВ) 5000 мг L-карнозина, 1000 мг – янтарной кислоты.

Реакцию кожи при накожном применении водных растворов фуллерена C_{60} оценивали по Шкале оценки аппликационных кожных тестов (Паттерсон. Р., Грэммер Л.К., Гринбергер П.А., 2000).

Проведенные исследования показали, что изучаемый препарат не вызывает видимых изменений на коже опытных животных.

Постановку конъюнктивальной пробы также осуществляли на морских свинках и кроликах. Готовые растворы по 1 капле вводили пипеткой под верхнее веко правого глаза, а левый глаз служил контролем (вводили дистиллированную воду) (Хабриев Р.У., 2005). После введения изучаемых соединений под конъюнктиву животным наблюдалось небольшое слезотечение, которое прекращалось в течение 15–30 мин. Согласно методике, после 6-, 24- и 48-часового периода наблюдения в состоянии животных не было зарегистрировано изменений.

Таким образом, препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} не обладает выраженным раздражающим и кожно-резорбтивным действием.

2.2.4 Обоснование доз препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} для изучения механизма его действия

Исходя из результатов проведенных экспериментов, для дальнейшего изучения действия препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} взяты дозы от 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} , 50 мг L-карнозина, 10 мг янтарной кислоты до 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} (1мг/мл по ДВ), 500 мг L-карнозина, 100 мг янтарной кислоты на 1кг массы тела, что составляет десятичные доли от максимальных, т.е. абсолютно безопасных для здоровья величины.

Для изучения действия препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} в комплексе с L-карнозином и янтарной кислотой проводили гематологический и биохимический анализ крови (таблицы 3, 4). Взятие крови проводили на 7-е сутки после введения соединений.

Для проведения исследований были сформированы 3 опытные и 1 контрольная группы белых крыс:

1-я группа – 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} (1мг/мл по ДВ), 50 мг L-карнозина, 10 мг янтарной кислоты на 1 кг массы тела;

2-я группа – 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} (1мг/мл по ДВ), 150 мг L-карнозина, 100 мг янтарной кислоты на 1 кг массы тела;

3-я группа – 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} (1мг/мл по ДВ), 500 мг L-карнозина, 100 мг янтарной кислоты на 1 кг массы тела;

Контрольная группа – 1 мл физиологического раствора.

Препарат вводили внутримышечно. Определение зависимости «доза – эффект» проводили в соответствии с Руководством по подбору дозы лекарственных препаратов, утвержденным Коллегией Евразийской экономической комиссии (12.03.2019 г.).

Таблица 3 – Морфологические показатели крови белых крыс после внутримышечного введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} ($M \pm m$; $n = 6$)

Группа	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Лейкоциты, $\times 10^9 /л$	Гемоглобин, г/л
Контроль	6,9 \pm 0,61	7,0 \pm 0,3	118,0 \pm 3,3
1-я	7,0 \pm 0,33	7,3 \pm 0,15	125,5 \pm 5,13
2-я	7,9 \pm 0,10*	7,2 \pm 0,13	129,7 \pm 4,33*
3-я	7,4 \pm 0,15	7,2 \pm 0,33	126,8 \pm 0,16

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля (здесь и далее)

Установлено, что у животных 2-й группы произошло повышение количества эритроцитов на 14,5% и гемоглобина – на 10%. У животных остальных групп достоверных различий не установлено.

После введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} уровень мочевины в сыворотке крови повысился на 17 % (2-я и 3-я группы); активность АЛТ повысилась на 11,5 и 10 % у животных этих групп соответственно относительно контроля.

Таблица 4 – Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс после внутримышечного введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} ($M \pm m$; $n = 6$)

Показатель	Контроль	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Глюкоза, ммоль/л	9,33 \pm 0,72	12,65 \pm 0,53*	12,67 \pm 0,41*	12,73 \pm 0,33*
Креатинин, ммоль/л	159,67 \pm 3,51	162,00 \pm 4,00	166,06 \pm 5,12	156,94 \pm 3,51
Мочевина, ммоль/л	8,60 \pm 0,24	9,00 \pm 0,51	10,06 \pm 0,72*	10,05 \pm 0,64*
Общий белок, г/л	76,51 \pm 3,13	85,06 \pm 2,94*	90,43 \pm 3,45*	87,54 \pm 3,00*
Альбумин, г/л	38,00 \pm 0,93	40,54 \pm 1,33	45,32 \pm 1,42*	42,52 \pm 0,66*
Глобулин, г/л	38,50 \pm 2,05	44,12 \pm 1,01*	43,99 \pm 3,14*	44,09 \pm 2,95*
АЛТ, Ед/л	69,0 \pm 1,33	72,84 \pm 4,04	76,93 \pm 2,99*	75,72 \pm 2,06*

Таким образом, установлено, что наиболее эффективной дозой, оказывающей стимулирующий эффект на изученные показатели крови, является 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} , 150 мг L-карнозина, 100 мг янтарной кислоты на 1 кг массы тела (2-я группа). Рекомендованная доза вызывает достоверное повышение гематологических и биохимических показателей животных.

2.2.5 Фармакокинетика препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} (по данным лабораторного опыта)

Исследование фармакокинетики действующего вещества (L-карнозина) препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} проведено на 36 беспородных белых крысах массой 180–190 г. Препарат вводили внутримышечно, в дозе 1 мл водного раствора фуллерена C_{60} (1мг/мл по ДВ), 150 мг L-карнозина, 100 мг янтарной кислоты. Установлено, что максимальная концентрация L-карнозина в сыворотке крови белых крыс наблюдается через 15–30 мин после введения препарата, далее происходит постепенное снижение. Результаты исследования содержания L-карнозина в организме крыс представлены на рисунке 2.

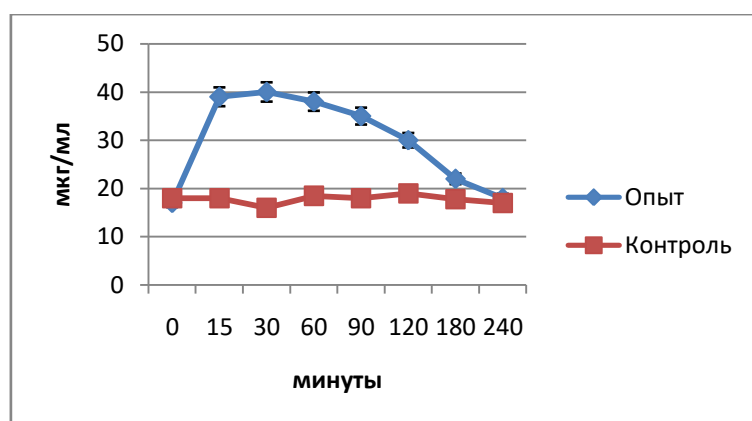


Рисунок 2 – Динамика L-карнозина в сыворотке крови белых крыс при внутримышечном введении препарата ($M \pm m$; $n=6$)

Установлено, что полная площадь под кривой зависимости концентрация – время $C(t)$ равна $33,213 \pm 0,12$ мкг·ч/мл. Этот показатель взаимосвязан с общим клиренсом. В нашем исследовании общий клиренс составил $0,013 \pm 0,001$ л/ч.

Таким образом, концентрации лекарственного средства в плазме определяются скоростью, с которой лекарство вводится, его клиренсом. Максимальная концентрация соединения в сыворотке крови равнялась 130,71 мкг/мл и была зафиксирована через 30 мин после введения препарата.

Период полуэлиминации препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} составил $3,45 \pm 0,003$ ч, период полураспада – $1,10 \pm 0,07$ ч. Стационарная концентрация – $17,54 \pm 0,003$ мкг/мл (таблица 5).

Таблица 5 – Фармакокинетические показатели препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} после введения белым крысам ($M \pm m$; $n=6$)

Название	Величина ФК показателей
Полная площадь под кривой «концентрация – время» (AUC), мкг·ч/мл	$33,213 \pm 0,12$
Среднее время удержания (MRT), ч	$22,90 \pm 1,02$
Клиренс (CL), л/ч	$0,013 \pm 0,001$
Период полуэлиминации ($T_{1/2}$), ч	$3,45 \pm 0,003$
Стационарная концентрация (C), мкг/мл	$17,54 \pm 0,003$
Периферический объем распределения (V), л	$0,35 \pm 0,002$
Константа скорости элиминации (K_{el}), 1/ч	$0,0045 \pm 0,0001$
Период полурезорбции ($T_{1/2}$), ч	$1,10 \pm 0,07$

После введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} логично просматриваются три периода накопления действующего вещества в сыворотке крови: всасывания, максимальной концентрации и элиминации. Все это согласуется с теорией классической фармакокинетики.

Установленные фармакокинетические параметры препарата необходимо учитывать при обосновании технологии применения его в ветеринарии для лечения и профилактики заразных и незаразных заболеваний и в животноводстве для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных.

2.2.6 Влияние препарата на основе водного раствора фуллерена C₆₀ на процессы перекисного окисления липидов и активность антиокислительной защиты организма белых крыс

Препарат на основе водного раствора фуллерена C₆₀ включает в себя водный раствор фуллерена C₆₀, L-карнозина и янтарной кислоты в следующем соотношении компонентов, мас./мг: водный раствор фуллерена C₆₀, стабилизированный плуроником F-127, – 1 мл (1 мг по ДВ), L-карнозин – 150 мг, янтарная кислота – 100 мг на 1 кг массы тела. Эта доза установлена как наиболее эффективная. Данное соединение вводили внутримышечно, однократно. Декапитацию животных проводили на 7-е сутки в соответствии с Европейской директивой по защите животных, используемых в научных целях (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (Text with EEA relevance): European Commission: Brussels. 2010). В крови и тканях внутренних органов определяли содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида.

Полученный препарат оказал существенное воздействие на процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы. Концентрация диеновых конъюгатов (ДК) в сыворотке крови снизилась на 20,9% (рисунок 3).

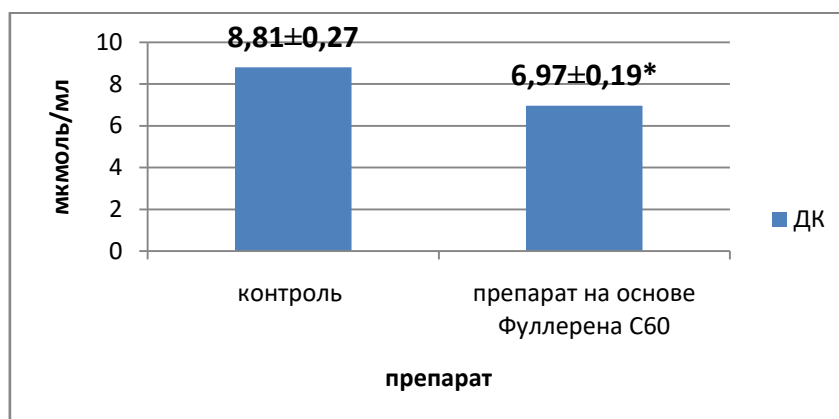


Рисунок 3– Содержание диеновых конъюгатов, мкмоль/мл, в сыворотке крови белых крыс после внутримышечного введения препарата на основе водного раствора фуллерена C₆₀, (M±m; n=6)

Концентрация малонового диальдегида (МДА) понизилась в сыворотке крови на 17,2%, в ткани головного мозга – на 12,5%, в легких – на 14,9%, в почках – на 15,3%, в печени – на 10,8%, в сердце – на 18,0%, в скелетных мышцах – на 11,2%, в желудке – на 10,5%, в тонком отделе кишечника – на 9,9% и толстом отделе кишечника – на 24,2% (таблица 6).

Активность каталазы после введения изучаемого препарата достоверно повысилась в ткани головного мозга на 10,2%, в сердечной мышце – на 11,4% и в скелетной мускулатуре – на 8,7%. В остальных тканях активность фермента находилась в пределах физиологической нормы.

Таблица 6 – Влияние препарата на основе водного раствора фуллерена C₆₀ на процессы перекисного окисления липидов организма белых крыс (M±m; n=6)

Орган и ткань	МДА		Каталаза	
	контроль	препарат на основе водного раствора фуллерена C ₆₀	контроль	препарат на основе водного раствора фуллерена C ₆₀
Плазма крови	8,41±0,16	6,97±0,26*	20,13±0,18	21,41±0,19
Мозг	13,16±0,68	11,51±0,30*	15,05±0,06	16,59±0,41*
Легкие	17,90±0,20	15,23±0,19*	47,32±0,27	50,65±0,46
Почки	15,80±0,23	13,39±0,23*	66,78±0,20	70,26±0,46
Печень	18,33±0,29	16,35±0,27*	68,85±0,18	73,17±0,28
Сердце	7,74±0,21	6,35±0,19*	28,21±0,10	31,42±0,62
Скелетные мышцы	7,76±0,31	6,89±0,13*	36,42±0,24	39,58±0,20*
Желудок	7,05±0,12	6,31±0,10*	22,74±0,48	22,94±0,21
Тонкий кишечник	8,12±0,10	7,32±0,20*	24,61±0,42	24,76±0,27
Толстый кишечник	5,92±0,17	4,49±0,15*	25,82±0,35	24,24±0,19

Таким образом, изучаемое соединение оказывает выраженное ингибирующее действие на процессы перекисного окисления липидов и активирует антиоксидантную систему защиты организма животных.

2.2.7 Особенности процессов перекисного окисления липидов в организме кошек с заболеваниями мочевыводящих путей и их коррекция

Препарат на основе водного раствора фуллерена C₆₀ вводили в дозе 3 мл на одно животное внутримышечно, 1 раз в 7 суток.

Для исследований были сформированы шесть групп животных, по принципу аналогов (по 6 голов в каждой группе). Исследования проводили на кошках, которых подбирали по принципу аналогов. Животным давали лечебно-профилактические коммерческие корма и проводили лечение. Установлено, что при кормлении содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови здоровых животных составило 6,54±0,05 мкмоль/мл (таблица 7).

Таблица 7 – Влияние коммерческих кормов на содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови кошек (M±m; n=6)

Тип кормления	Контроль	До лечения	Срок наблюдения, сут.		
			7-е	14-е	21-е
Pro Plan Veterinary Diets Urinary	6,54±0,05	8,04±0,52*	8,95±0,33*	8,03±0,54	7,12±0,12*
Monge Vet Solution urinary struvite		7,53±0,32*	8,62±0,21*	7,31±0,05	7,00±0,11
Royal canin veterinary diet urinary s/o		8,52±0,14*	7,63±0,11*	7,23±0,72*	6,62±0,06*
Hills prescription diet urinary care c/d multicare		8,94±0,23*	8,00±0,23*	7,74±0,01*	6,72±0,23*
Корма эконом класса		8,58±0,41*	8,42±0,14	7,94±0,01	6,93±0,16*
Кормление домашней едой		8,37±0,29*	8,73±0,23	7,65±0,12*	7,41±0,23*

При использовании корма Pro Plan Veterinary Diets Urinary исходное содержание ДК у больных животных равнялось $8,04 \pm 0,52$ мкмоль/мл. После кормления значение изучаемого показателя на 7-е и 14-е сутки достоверно не изменилось, к 21-м суткам концентрация ДК снизилась на 11,4%, но оставалась выше контрольного значения.

После кормления Monge Vet Solution urinary struvite концентрация ДК на 7-е сутки повысилась на 14,5% по сравнению с исходным уровнем, на 7-е и 21-е сутки этот показатель снизился до первоначального уровня.

После кормления Royal canin veterinary diet urinary s/o уровень диеновых конъюгатов на 7-е сутки повысился на 14,5%, но на 14-е и 21-е сутки снизился на 15,1 и 28,7% по сравнению с первоначальным уровнем ($8,52 \pm 0,14$ мкмоль/мл).

Наибольшее снижение концентрации ДК по сравнению с исходным уровнем отмечали после кормления животных с уролитиазом Hills prescription diet urinary care c/d multicare – на 11,8; 15,5 и 33,0% соответственно на 7, 14 и 21-е сутки.

При кормлении кормами эконом класса концентрация ДК понизилась к 21-м суткам на 23,8 %. На 7-е и 14-е сутки достоверных различий не установлено.

При кормлении домашней пищей исходное содержание ДК составило 8,37 мкмоль/мл, к 14-м и 21-м суткам концентрация ДК понизилась на 9,4 и 11,5% соответственно; к 7-м суткам достоверных различий не установлено (см. таблицу 7).

Вторым звеном процесса перекисного окисления липидов является образование малонового диальдегида. Результаты исследований по содержанию МДА в сыворотке крови представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Влияние коммерческих кормов на содержание МДА, нмоль/г, в сыворотке крови кошек ($M \pm m$; $n=6$)

Тип кормления	Контроль	До лечения	Срок наблюдения, сут.		
			7-е	14-е	21-е
Pro Plan Veterinary Diets Urinary	6,05±0,28	11,79±0,47*	13,78±0,19*	12,93±0,06*	8,26±0,15*
MongeVet Solution urinary struvite		11,56±0,25*	13,68±0,22*	12,57±0,15*	7,68±0,15*
Royal canin veterinary diet urinary s/o		12,20±0,42*	14,51±0,21*	14,47±1,01*	7,92±0,33*
Hills prescription diet urinary care c/d multicare		13,50±0,38*	13,45±0,27*	13,46±0,98*	6,94±0,08*
Корма эконом класса		14,29±0,53*	14,54±0,17*	13,53±0,15*	9,14±0,34*
Кормление домашней едой		13,34±0,45*	15,44±0,12*	13,40±0,04*	7,57±0,34*

Установлено, что содержание МДА в сыворотке крови здоровых животных равнялось $6,05 \pm 0,28$ нмоль/г. У животных с уролитиазом этот показатель повысился примерно в 2 раза. На 7-е и 14-е сутки не происходило снижения МДА в сыворотке крови животных независимо от кормления. На 21-е сутки концентрация МДА понизилась по отношению к первоначальному уровню. Однако оставалась выше по отношению к здоровым животным на 36,5; 26,9; 14,7 и 30,9 % соответственно при применении Pro Plan Veterinary Diets Urinary, Monge Vet

Solution urinary struvite, Royal canin veterinary diet urinary s/o, Hills prescription diet urinary care c/d multicare. Подобная картина наблюдалась при использовании кормов эконом класса (Вискас, Китикет, Фрискас) и домашней еды (мясо, рыба, птица, молочные продукты, каши)– на 51,5 и 25,12 % .

Исходное содержание ДК в сыворотке крови составило $6,54 \pm 0,05$ мкмоль/мл (рисунок 4). У больных животных изучаемый показатель повысился на 36,7%.

После внутримышечного введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} и кормления кормом Hills prescription diet urinary care c/d multicare происходило значительное снижение ДК – на 20,8 % (7-е сутки), 9,5 % (14-е сутки) и 11,0 % (21-е сутки) по сравнению с результатами до лечения. К 21-м суткам концентрация ДК возвращалась к уровню здоровых животных (см. рисунок 4), что говорит о благоприятном влиянии изучаемого препарата на первоначальное звено процессов ПОЛ в организме.

Установлено, что концентрация МДА у больных животных составила $13,5 \pm 0,38$ нмоль/г. После начала лечения показатель снижался к 7-м суткам на 61,8% ($9,79 \pm 0,82$ нмоль/г), к 14-м суткам – на 17,2% ($7,09 \pm 0,51$ нмоль/г); к 21-м суткам концентрация достигала уровня здоровых животных ($5,73 \pm 0,25$ нмоль/г), рисунок 5.



Рисунок 4 – Концентрация ДК в сыворотке крови кошек после кормления Hills prescription diet urinary care c/d multicare и введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} (* $p \leq 0,05$), ($M \pm m$; $n=6$)

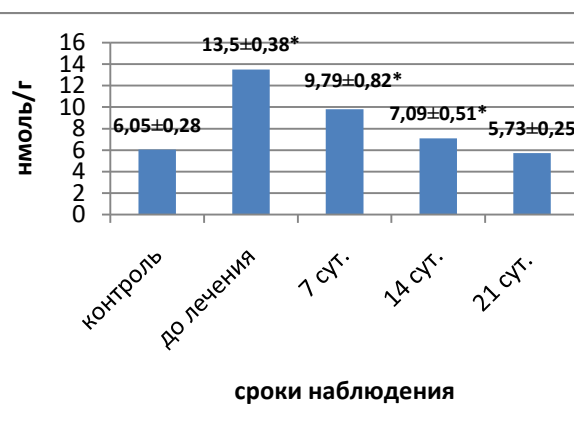


Рисунок 5 – Концентрация МДА в сыворотке крови кошек после кормления Hills prescription diet urinary care c/d multicare и введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} (* $p \leq 0,05$), ($M \pm m$; $n=6$)

Таким образом, при заболевании уролитиазом возникают нарушения в протекании процессов ПОЛ. Организм кошек реагировал на это увеличением содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в сыворотке крови. Наибольшее накопление вторичных продуктов было зафиксировано в течение первых 7 суток. На введение препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} организм кошек реагировал усиленным ингибированием процессов ПОЛ, в результате чего уровень ДК и МДА достигал показателей здоровых животных.

2.2.8 Активность каталазы в организме кошек при заболеваниях мочевыводящих путей и ее коррекция

Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} вводили внутримышечно в дозе 3 мл на животное, 1 раз в 7 суток.

Таблица 9 – Влияние коммерческих кормов на активность каталазы в сыворотке крови кошек ($M \pm m$; $n=6$)

Тип кормления	Контроль	До лечения	Срок наблюдения, сут.		
			7-е	14-е	21-е
Pro Plan Veterinary Diets Urinary	16,78±0,44	23,37±0,20*	21,10±0,32*	20,53±0,15*	18,53±0,22*
Monge Vet Solution urinary struvite		23,53±0,25*	20,95±0,17*	20,70±0,19*	17,93±0,36
Royal canin veterinary diet urinary s/o		23,35±0,28*	21,51±0,21*	20,60±0,11*	18,85±0,48*
Hills prescription diet urinary care c/d multicare		22,43±0,46*	20,06±0,18*	20,38±0,28*	19,34±0,57*
Корма эконом класса		22,07±0,32*	22,03±0,30*	21,39±0,22*	17,73±0,16
Кормление домашней едой		21,91±0,30*	23,01±0,31*	21,25±0,50*	18,04±0,44

Установлено, что у больных животных активность каталазы была повышена от 30,6 до 40,2 % (таблица 9). После использования лечебно-профилактических кормов к 7-м суткам активность каталазы незначительно снизилась по сравнению с первоначальным уровнем. Однако она оставалась выше, чем у контрольных животных, на 25,7; 23,1; 28,2; 19,6 и 31,3 % соответственно при приеме Pro Plan Veterinary Diets Urinary, Monge Vet Solution urinary struvite, Royal canin veterinary diet urinary s/o, Hills prescription diet urinary care c/d multicare и кормов эконом класса (Вискас, Китикет, Фрискас). При кормлении домашней едой (мясо, рыба, птица, молочные продукты, каши) – на 37,1%.

На 14-е сутки активность каталазы значительно не изменилась по сравнению с 7-ми сутками и была выше контрольных значений на 22,3; 23,4; 22,8; 21,5 и 27,5% соответственно при приеме Pro Plan Veterinary Diets Urinary, Monge Vet Solution urinary struvite, Royal canin veterinary diet urinary s/o, Hills prescription diet urinary care c/d multicare и кормов эконом класса (Вискас, Китикет, Фрискас). Домашняя еда (мясо, рыба, птица, молочные продукты, каши) способствовала повышению показателя на 26,7 %.

На 21-е сутки отмечали снижение активности каталазы. В некоторых случаях активность фермента дошла до уровня здоровых животных. Установлено, что активность была выше контроля на 10,4; 6,9; 12; 15,3 и 5,7% соответственно после кормления Pro Plan Veterinary Diets Urinary, Monge Vet Solution urinary struvite, Royal canin veterinary diet urinary s/o, Hills prescription diet urinary care c/d multicare и эконом класса (Вискас, Китикет, Фрискас). После кормления домашней едой (мясо, рыба, птица, молочные продукты, каши) – на 7,5% (см. таблицу 9).

После кормления Hills prescription diet urinary care c/d multicare и введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} активность каталазы у

больных животных была выше на 33,7% относительно здоровых (рисунок 6). На 7-е и 14-е сутки после лечения активность фермента была выше на 10,2 и 13,3% соответственно, относительно контроля. На 21-е сутки показатель достиг уровня здоровых животных ($15,15 \pm 0,61$ мкмоль/мл).

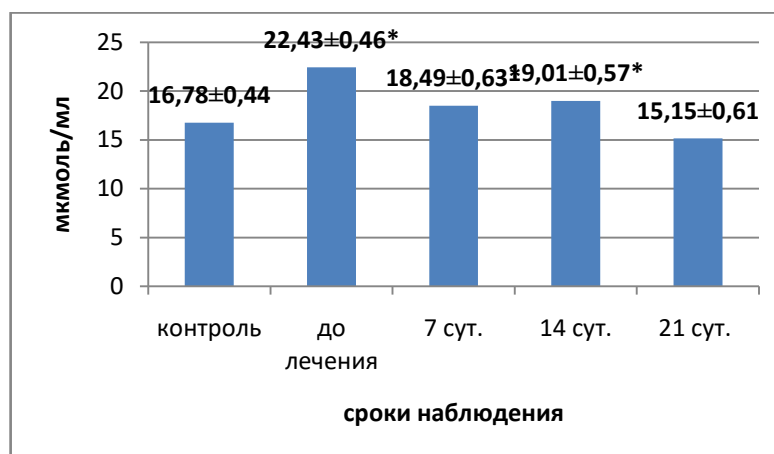


Рисунок 6 – Активность каталазы в сыворотке крови кошек после кормления Hills prescription diet urinary care c/d multicare и введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} (* $p \leq 0,05$), ($M \pm m$; $n=6$)

Таким образом, после кормления кошек Hills prescription diet urinary care c/d multicare и введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} происходит нормализация антиоксидантного статуса организма.

2.2.9 Анализ фармакологической эффективности препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} и коммерческих кормов при заболеваниях мочевыводящих путей у кошек

При контрольном осмотре и проведении необходимых диагностических исследований у всех больных животных были зафиксированы такие клинические признаки заболевания, как острая задержка мочи, частое посещение туалета, частое мочеиспускание по каплям в неположенных местах, гематурия, апатия, отказ от корма.

При заболеваниях органов мочевыводящей системы нарушается работа антиоксидантной системы и происходит сбой в процессах перекисного окисления липидов. На 7-е сутки уровень диеновых конъюгатов был повышен. После кормления коммерческими кормами этот показатель приходил в норму к 21-м суткам. Однако при кормлении животных домашней пищей концентрация ДК не изменялась. После внутримышечного введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} и кормления Hills prescription diet urinary care c/d multicare происходило значительное снижение ДК – на 20,8 % (7-е сутки), 9,5 % (14-е сутки) и 11,0 % (21-е сутки) по сравнению с данными до лечения. К 21-м суткам концентрация ДК возвращалась к уровню здоровых животных, что говорит о благоприятном влиянии препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} на первоначальное звено процессов ПОЛ в организме.

У кошек с уролитиазом по сравнению со здоровыми животными концентрация малонового диальдегида была выше примерно в 2 раза. На 7-е и 14-е

сутки не происходило снижения МДА в сыворотке крови кошек независимо от кормления. На 21-е сутки концентрация МДА понизилась по отношению к первоначальному уровню, но оставалась выше на 25,1–51,5% по отношению к здоровым животным. После комплексного лечения препаратом на основе водного раствора фуллерена C_{60} концентрация МДА снижалась и к 21-м суткам достигла уровня здоровых животных ($5,73 \pm 0,25$ нмоль/г). В данном случае снижение концентрации вторичных продуктов ПОЛ рассматривается как благоприятный прогностический признак, свидетельствующий о положительном влиянии лечебных коммерческих кормов на организм кошек, больных уролитиазом.

Установлено, что у больных животных активность каталазы была повышена на 30,6–40,2%. После кормления лечебно-профилактическими кормами к 7-м и 14-м суткам активность каталазы незначительно снизилась по сравнению с первоначальным уровнем, но была выше контрольных значений. На 21-е сутки выявлено снижение активности каталазы. В некоторых случаях активность фермента дошла до уровня здоровых животных. После кормления Hills prescription diet urinary care c/d multicare и введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} на 21-е сутки активность каталазы достигла уровня здоровых животных ($15,15 \pm 0,61$ мкмоль/мл). Полученные результаты свидетельствуют о нормализации состояния антиоксидантной системы организма, что положительно влияет на процесс выздоровления животных.

2.2.10 Анализ экономической эффективности применения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} при заболеваниях мочевыводящих путей у кошек

Исследование экономической эффективности проводили по методике, предложенной И.Н. Никитиным (2014).

При исследовании влияния препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} для кошек с идиопатическим циститом нами были сформированы две группы котов, по 6 голов в каждой. Животным опытной группы препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} вводили в дозе 3 мл (соответствует 1/33 части от флакона в 100мл) 1 раз в 7 дней, в течение двух недель. Далее в той же дозе через день на протяжении 2 месяцев. Таким образом, каждому животному опытной группы провели 8 внутримышечных введений препарата в указанной дозе. На одного кота использовали на курс 6 мл.

Средняя стоимость всех компонентов изучаемого соединения составляет по г. Пензе 5000 руб. за 100 мл, что соответствует 50,00 руб. за 1 мл. Следовательно, стоимость курса приема для каждого животного опытной группы составила 100 руб.

При обращении всем котам и опытной, и контрольной групп проводили базовый комплекс обследования. Он включает в себя общий клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи с микроскопическим исследованием осадка, ультразвуковое исследование органов брюшной и тазовой полостей, рентгенографию мочевого пузыря. Общая стоимость обследования одного животного составляла 3650 руб.

Средняя стоимость базового курса лечения, проводимого всем кошкам обеих групп, составила в среднем 1450 руб. в расчете на одно животное.

При рецидиве заболевания (в контрольной группе три кота поступили в клинику в течение 2,5 месяца с аналогичной симптоматикой) исследования и лечение проводили в том же объеме.

Таким образом, в группе кошек, получавших препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} , затраты на одно животное за 2,5 месяца составили 6300,00 руб. В контрольной группе, учитывая необходимость повторного лечения и обследования трех котов из шести, затраты за этот же период времени составили 7650 руб. на одну голову. Следовательно, экономическая выгода курса лечения идиопатического цистита у кошек с использованием препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} составляет 1350 руб. на одно животное.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии у животных включает в себя водный раствор фуллерена C_{60} , L-карнозина и янтарной кислоты, при следующем соотношении компонентов в мас. мг: водный раствор фуллерена C_{60} , стабилизированный плуроником F-127, – 1 мл (1 мг ДВ), L-карнозин – 150 мг, янтарная кислота – 100 мг. Препарат представляет собой прозрачный раствор темно-коричневого цвета, без запаха, обладает выраженным антиоксидантным, антигипоксическим эффектом, является ингибитором свободнорадикальных процессов.

2. Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии у животных относится к 4-му классу опасности (ГОСТ 12.1.007-76). При внутримышечном и внутрижелудочном введении не обладает токсическим эффектом, раздражающим и кожно-резорбтивным действием.

3. Функциональная система, обеспечивающая постоянство процессов перекисного окисления липидов, реагирует ингибированием активации свободных радикалов в организме животных. Концентрация диеновых конъюгатов в сыворотке крови кошек с заболеваниями мочевыводящих путей значительно повышалась (на 15,1–36,7%) относительно здоровых. После введения препарата на основе водного раствора фуллерена C_{60} уровень ДК у больных животных снижался на 7, 14 и 21-е сутки на 20,8; 9,5 и 11,0% соответственно по сравнению с данными до лечения. К 21-м суткам концентрация ДК возвращалась к уровню контрольных животных.

Содержание МДА в сыворотке крови контрольных животных составило $6,05 \pm 0,28$ нмоль/г. У животных с уролитиазом этот показатель повысился примерно в 2 раза. На 7-е и 14-е сутки не происходило снижения МДА в сыворотке крови кошек независимо от кормления. После начала лечения препаратом на основе водного раствора фуллерена C_{60} (3 мл на животное, внутримышечно, 1 раз в 7 суток) концентрация МДА снижалась к 7-м суткам на 61,8%, к 14-м суткам – на 17,2%; к 21-м суткам достигала уровня здоровых животных.

4. Средняя активность каталазы в сыворотке крови больных животных была повышена от 30,6 до 40,2% относительно здоровых ($15,15 \pm 0,61$ мкмоль/мл). После использования лечебно-профилактических кормов к 7-м суткам активность каталазы незначительно снизилась по сравнению с первоначальным уровнем. Однако она оставалась выше, чем у контрольных животных, на 19,6–37,1%. На 14-е сутки активность каталазы значительно не изменилась. По сравнению с 7-

мисутками была выше контрольных значений на 21,5–27,5%. После введения препарата на основе водного раствора фуллерена C₆₀ активность каталазы на 7-е и 14-е сутки после лечения была выше на 10,2 и 13,3% соответственно, относительно контроля. К 21-м суткам активность каталазы достигла уровня здоровых животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. В ветеринарную практику предложено внедрить новый препарат на основе водного раствора фуллерена C₆₀ для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии у животных.

2. Для ингибирования процессов перекисного окисления липидов в организме больных кошек рекомендуется вводить препарат на основе водного раствора фуллерена C₆₀ в дозе 3 мл на животное внутримышечно, 1 раз в 7 суток.

3. Результаты исследований внедрены в учебный процесс в ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

4. Результаты исследований внедрены в ветеринарных клиниках «Айболит-Сервис», «Кот и пес», «Ветеринарная диагностика» г. Пензы и Пензенской области, а также в «Энгельсской ветеринарной клинике», г. Энгельс Саратовской области.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проведенные исследования позволили более глубоко понять патологические процессы при заболевании мочевыводящих путей у кошек и оценить терапевтическую эффективность при данной патологии препарата на основе водного раствора фуллерена C₆₀ для профилактики и лечения свободнорадикальной патологии у животных.

Уникальный комплекс на основе водного раствора фуллерена C₆₀ позволяет в перспективе расширить сферу его применения при лечении патологий, связанных с нарушением процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы, а также в животноводстве в целом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В журналах, входящих в Перечень ВАК РФ

1. Воронцова, О.А. Применение коммерческого корма для лечения уролитиаза кошек / О.А. Воронцова, Н.А. Пудовкин, В.В. Салаутин, Т.М. Прохорова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. – 2018. – Т. 235. – №3. – С. 22–25.

2. Воронцова, О.А. Клинико-биохимическое изучение эффективности Миртазапина при лечении идиопатического цистита кошек / О.А. Воронцова, Т.И. Шутова, Н.А. Пудовкин, В.В. Салаутин // Вестник Бурятской ГСХА. – 2019. – №4. С.12–18.

3. Воронцова, О.А. Ретроспективный анализ заболеваний мочевыделительной системы кошек в г. Пензе / О.А. Воронцова, Н.А. Пудовкин, В.В. Салаутин // Вестник КрасГАУ. – 2019. – №3(144). – С. 109–115.

В журналах, входящих в Международные базы цитирования

4. Vorontsova, O.A. The experience of using drug Mirtazapine in comprehensive therapy of idiopathic cystitis in cats / O.A. Vorontsova, T.I. Shutova, N.A. Pudovkin, T.M. Prokhorova, P.V. Smutnev, I.G. Subbotin // Pharmacophore. - 2019 - 10 (6). - P. 31-36

5. Vorontsova, O. Effect of commercial medicinal feeds on the physical and chemical properties of urine / O. Vorontsova, N. Pudovkin, V. Salautin, T. Prokhorova, A. Terentyev // 13th International Scientific and Practical Conference on State and Prospects for the Development of Agribusiness, INTERAGROMASH 2020; Rostov-on-Don. – 2020. – Vol.175. – P. 1– 6.

В сборниках, входящих в РИНЦ

6. Воронцова, О.А. Возрастные особенности распространения заболеваний мочевыводящих путей у кошек /О.А. Воронцова, Н.А. Пудовкин // Аграрная наука – сельскому хозяйству: материалы XIV Междунар. науч. -практ. конф. – Барнаул, 2019. – С.272–274.

7. Воронцова, О.А. Изменение физико-химических свойств мочи у кошек с уролитиазом при применении коммерческого корма / О.А. Воронцова, Н.А. Пудовкин // Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве: материалы XIV Междунар. науч.- практ. конф. молодых ученых и специалистов. – Екатеринбург, 2019. – С. 225–228.

8 Воронцова, О.А. Динамика накопления диеновых конъюгатов в сыворотке крови кошек с заболеваниями нижних мочевыводящих путей /О.А. Воронцова, А.А. Алексеев // Актуальные проблемы ветеринарной медицины и биологии: материалы Национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет». – Оренбург, 2020. – С. 48–50.