

является следствием вторичного патологического процесса на почве хронических заболеваний свода и стенки копыльца, при плохих санитарно-гигиенических условиях.

Спустя 5 суток после удаления новообразования у всех животных заживление поражения происходило с разной степенью интенсивности. В среднем площадь раневых дефектов в контрольной группе уменьшилась на 16,32%, в опытной группе соответственно на 18,9%.

К $7 \pm 1,71$ суткам у опытной группы наблюдали развитие грануляционной ткани в месте тканевого дефекта. У контрольной группы фаза регенерации началась несколько позже, к $9 \pm 1,58$ суткам.

На 15 суткам динамика заживления поражения у коров исследуемых групп носила однотипный характер: формирование соединительной ткани по площади дефекта, это заметно уменьшало площадь поражения, в среднем у животных контрольной групп она была на 84,32% меньше. У коров опытной групп дефектов не обнаружено.

Заключение. Разработанная нами схема лечения коров с тиломами с применением ветеринарного препарата «Мастовет» обеспечивает более быстрое восстановление функции поврежденных тканей. Мастовет обладает антисептическим, противовоспалительным и ранозаживляющим действиями, что обусловлено компонентами препарата.

Литература. 1. Масюкова, В. Н. Профилактика хирургической инфекции в ветеринарной медицине : учебно-методическое пособие для студентов факультета ветеринарной медицины и слушателей ФПК / В. Н. Масюкова, В. А. Журба. – Витебск, 2007. – С. 24. 2. Медведский, В. А. Гигиена животноводческих объектов. – Витебск, 2001. – С. 248. 3. Руколь, В. М. Профилактика и лечение болезней конечностей и копытец крупного рогатого скота / В. М. Руколь // Ветеринарное дело. – 2013. – № 9 (27). – С. 16–24.

УДК 616.15-074:615.9-07:615.2:57.082.2

ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИЗУЧЕНИИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «L-CARNITINE»

Сабирзянова Л.И., Гусева В.А.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Введение. На сегодняшний день левокарнитин применяется в разных областях человеческой и ветеринарной медицины. Левокарнитин необходим для транспортировки длинноцепочечных жирных кислот в митохондрии, для нормальной работы сердца и скелетных мышц. Добавка левокарнитина приобрела популярность в последние годы как в отношении спортивных результатов человека, так и в индустрии домашних и сельскохозяйственных животных, хотя было проведено достаточно мало исследований по данной тематике. В ветеринарной практике имеются исследования о применении левокарнитина в качестве кормовой добавки, влияющей на производительность, энергетический обмен, продуктивность и метаболические реакции крови у высокопродуктивных коров; на восстановление мышц после физической нагрузки и снижение окислительного стресса во время напряженных тренировок у рабочих собак и лошадей.

На сегодняшний день на территории Российской Федерации нет зарегистрированной инъекционной лекарственной формы левокарнитина для

ветеринарного применения. Исходя из вышесказанного, целью нашей работы было проведение доклинических исследований препарата «L-Carnitine» для ветеринарного применения, в частности субхронической токсичности на лабораторных животных.

Материалы и методы исследований. Изучение параметров субхронической токсичности инъекционной лекарственной формы «L-Carnitine» проводили согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005), по ГОСТ 32644-2014, ГОСТ 33215-2014 и с учётом требований Приказа Министерства сельского хозяйства РФ от 6 марта 2018 года № 101 "Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения" [1-4]. Все эксперименты проведены с соблюдением правил, определенных Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Исследования токсичности были проведены на аутбредных крысах в октябре 2021 года в виварии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины. В исследовании участвовали самки весом 190-210 грамм, закупленные в Федеральном государственном унитарном предприятии «Питомник лабораторных животных «РАППОЛОВО».

Перед исследованием все животные были подвергнуты профилактическому карантинированию. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках (заболеваемость и смертность). Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены в группы методом случайного выбора по принципу аналогов.

В ходе исследования были использовали клетки для содержания лабораторных мышей и крыс М-5 (475x350x200 мм) 3W со съёмным поддоном. Для кормления животных использовался комбикорм полнорационный для лабораторных животных ЛБК-120 (Тосненский комбикормовый завод), соответствующий ГОСТ 34566-2019. Профильтрованная водопроводная вода давалась в стандартных автоклавированных поилках. Для внутримышечных и подкожных введений использовали шприцы инсулиновые BD Micro-Fine Plus 0,5мл/U-100 30G (0,30 мм x 8 мм).

При изучении субхронической токсичности при внутримышечном и подкожном введении, «L-Carnitine» вводили в 2 уровнях доз: 0,08 и 0,04 мг/кг по препарату (1/5 и 1/10 от 2мг/кг).

Опытная группа № 1 получала внутримышечно дозу «L-Carnitine» 0,08 мг/кг; опытная группа №2 получала внутримышечно дозу «L-Carnitine» 0,04 мг/кг; опытная группа № 3 получала подкожно дозу «L-Carnitine» 0,08 мг/кг; опытная группа № 4 получала подкожно дозу «L-Carnitine» 0,04 мг/кг; опытная группа № 5 получала внутримышечно дозу «NaCl» 0,08 мг/кг; опытная группа № 6 получала подкожно дозу «NaCl» 0,08 мг/кг.

Гематологические исследования проводили сразу после забора цельной крови с ЭДТА с использованием автоматического анализатора Micros 60. Количество лейкоцитов включало: общее количество лейкоцитов (WBC, 10^3 /мкл), лимфоциты, нейтрофилы (включая нейтрофильные и базофильные гранулоциты), моноциты и эозинофилы. Лимфоциты, нейтрофилы, моноциты выражали в гига на литр и в процентах.

Дополнительно готовили мазки крови и сушили на воздухе перед окраской по Паппенгейму. Для этого мазки клеток окрашивали смесью растворов краски Май-

Грюнвальда и Романовского - Гимза. Дифференцировку полиморфноядерных (PMN) лейкоцитов проводили вручную с помощью световой микроскопии (Микроскоп AXIOSTAR PLUS ZEISS (CARL ZEISS) (GERMANY) Видеокамера Pixera pro 150 es) на основе их морфологических и цитохимических характеристик окрашивания. Клетки PMN классифицировали как зрелые клетки, когда ядра были разделены, по крайней мере, на два морфологически различных сегмента (сегментарные нейтрофилы), или классифицировали как незрелые клетки. На образец подсчитывали 100 клеток, лейкоцитарную формулу в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму, – трехпольным методом по Филипченко.

Результаты исследований. Убой и отбор проб биологического материала от 5 животных из каждой группы проводили на следующий день после окончания введения препарата (43 день исследования), убой и отбор биологического материала от оставшихся животных – через 10 суток после окончания введения (53 день исследования). Результаты представлены в таблицах 1-4.

Таблица 1 - Гематологические показатели крови крыс 1 и 2 группы на 43-й день эксперимента

| Показатели | Группа 1 | Группа 2 | Контрольная группа |
|----------------------------------|------------|------------|--------------------|
| Гематокрит л/л. | 49,2±7,5 | 54,2±2,2 | 54,8±4,1 |
| Гемоглобин, г/л. | 120,2±7,3 | 119,6±5,4 | 118,6±6,9 |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л. | 12,4±3,2 | 16,8±4,7 | 10,4±5,5 |
| Лимфоциты % | 68,4±6,7 | 71,2±4,3 | 66,4±4,2 |
| Моноциты. % | 6,6±2,4 | 5,2±2,8 | 5,6±0,9 |
| Нейтрофилы Сегментоядерные, %. | 20,2±4,6 | 20,0±2,3 | 24,0±3,8 |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л. | 182,0±16,2 | 152,6±23,9 | 158,6±21,3 |
| Эритроциты, 10 ¹² /л. | 7,6±0,8 | 7,6±0,4 | 7,7±0,5 |
| Протромбиновый индекс, %. | 234,2±62,7 | 195,5±22,1 | 173,7±26,9 |

Как следует из представленных в таблице 1 данных, опытная группа 1, получающая 1/5 дозы от 2мг/кг L-Carnitine, имеет различие в показателях. Повышение гемоглобина, лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов и протромбинового индекса по сравнению с контрольной группой. Опытная группа 2, получающая 1/10 дозы от 2мг/кг L-Carnitine, имеет повышение гемоглобина, лейкоцитов, лимфоцитов и протромбинового индекса по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2 - Гематологические показатели крови крыс 1 и 2 группы на 53-й день эксперимента

| Показатели | Группа 1 | Группа 2 | Контрольная группа |
|----------------------------------|-----------|------------|--------------------|
| Гематокрит л/л. | 53,0±4,5 | 51,2±1,3 | 48,4±3,1 |
| Гемоглобин, г/л. | 119,8±7,0 | 120,6±2,1 | 116,0±8,4 |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л. | 11,4±2,1 | 14,2±2,7 | 15,3±3,4 |
| Лимфоциты. % | 75,2±5,0 | 63,8±4,8 | 70,8±6,3 |
| Моноциты. % | 0 | 0 | 0 |
| Нейтрофилы Сегментоядерные, %. | 20,8±3,3 | 24,0±2,9 | 22,0±4,3 |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л. | 113,0±6,7 | 157,2±17,0 | 152,0±28,3 |
| Эритроциты, 10 ¹² /л. | 6,7±0,4 | 7,3±0,7 | 7,7±1,2 |
| Протромбиновый индекс, %. | 135,7±7,5 | 131,4±6,8 | 148,4±7,3 |

Из таблицы 2 видно, что после прекращения высоких доз внутримышечных инъекции L-карнитина в опытной группе 1 на 10 день снижение в показателях лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов, протромбинового времени. В опытной группе 2 на 10 день отмены препарата снизилось количество лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, эритроцитов, протромбинового индекса по сравнению с контрольной группой.

Таблица 3 - Гематологические показатели крови крыс 3 и 4 группы на 43-й день эксперимента

| Категория признака | Группа 3 | Группа 4 | Контрольная группа |
|-------------------------------------|------------|------------|--------------------|
| Гематокрит л/л. | 53,2±3,6 | 52,6±2,8 | 51,8±4,4 |
| Гемоглобин, г/л. | 121,8±6,8 | 117,8±7,9 | 117,0±8,0 |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л. | 18,1±2,9 | 18,0±5,0 | 13,0±3,6 |
| Лимфоциты, % | 67,8±6,5 | 68,6±7,2 | 61,8±9,7 |
| Моноциты, % | 4,6±2,1 | 4,0±2,5 | 5,2±1,3 |
| Нейтрофилы Палочкоядерные, %. | 2,4±1,1 | 2,8±1,3 | 2,4±1,1 |
| Нейтрофилы сегментоядерные, % | 24,6±4,4 | 22,4±6,7 | 25,4±10,7 |
| Протромбиновый индекс, %. | 155,5±15,4 | 160,2±33,8 | 223,8±32,1 |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л. | 153,0±25,0 | 183,0±56,6 | 159,4±30,7 |
| Эритроциты, 10 ¹² /л. | 7,5±0,5 | 7,6±0,4 | 7,6±0,5 |

В таблице 3 в опытной группе 3, получающей 1/5 дозы от 2мг/кг подкожной инъекции «L-Carnitine», на 43 день исследования увеличено количество гематокрита, гемоглобина, лейкоцитов, лимфоцитов. В опытной группе 4 получающей 1/10 дозы от 2мг/кг подкожных инъекции L-карнитина на 43 день исследования повышены гематокрит, лейкоциты, лимфоциты, тромбоциты по сравнению с контрольной группой.

Таблица 4 - Гематологические показатели крови крыс 3 и 4 группы на 53-й день эксперимента

| Категория признака | Группа 3 | Группа 4 | Контрольная группа |
|-------------------------------------|------------|------------|--------------------|
| Гематокрит л/л | 53,2±2,5 | 50,6±3,0 | 50,8±2,4 |
| Гемоглобин, г/л | 121,6±4,0 | 121,2±3,5 | 112,6±12,6 |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л | 17,8±3,6 | 15,6±4,7 | 16,9±5,6 |
| Лимфоциты, % | 66,6±5,6 | 65,0±3,0 | 71,2±4,8 |
| Моноциты, % | 1,8±1,5 | 1,2±0,4 | 3,4±2,5 |
| Нейтрофилы Сегментоядерные, % | 29,0±7,9 | 22,4±3,5 | 21,6±5,3 |
| Протромбиновый индекс, % | 132,7±27,3 | 132,7±6,3 | 135,3±14,5 |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л | 129,8±23,9 | 169,6±18,1 | 146,2±14,5 |
| Эритроциты, 10 ¹² /л | 7,6±0,6 | 7,5±0,8 | 7,4±0,8 |

Из таблицы 4 видно, что после отмены препарата «L-Carnitine» на 10 день в опытной группе 3 снизилось количество лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов, а в группе 4 снизилось количество лейкоцитов, лимфоцитов по сравнению с группой контроля.

Заключение. В результате проведения исследований субхронической токсичности на лабораторных животных лекарственного препарата «L-Carnitine» для ветеринарного применения выявлено, что подавляющее большинство исследованных гематологических показателей подопытных групп и контрольной находились в пределах референтных значений. Инъекции L-карнитина модулируют лейкопоэз и тромбоцитопоэз. Мембраностабилизирующие эффекты L-карнитина посредством взаимодействия с белками цитоскелетной мембраны возможно могут быть причиной более высокого количества тромбоцитов при инъекциях «L-Carnitine». Препарат, реагирует с жирными кислотами, и этот механизм может влиять на биологическую функцию клеток. Незначительное повышение лейкоцитов и лимфоцитов в опытных группах связано с иммуномодулирующими механизмами, которые еще четко не определены. «L-Carnitine» может способствовать активации лейкоцитов путем усиления их энергетического метаболизма за счет окисления липидов или путем индукции секреции и высвобождения иммуно-модуляторных гормонов. Изменения протромбинового индекса в опытных группах предположительно носят не специфическую, а универсальную адаптивную реакцию организма крысы в ответ на достижение определенного порогового уровня длительного стресса на забор крови. Также можно сделать вывод о том, что препарат оказывает благотворное влияние на стабильность эритроцитов, эритропоэз.

Литература. 1. ГОСТ 32644-2014. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность - метод определения класса острой токсичности (Переиздание) : межгос. стандарт : изд. офиц. : дата введения 2015-06-01. - Москва : Стандартинформ, 2019 . - 13 с. [GOST 32644-2014. Test methods for the effects of chemical products on the human body. Acute oral toxicity - a method for determining the class of acute toxicity (Reissue): Interstate. standard : ed. official : introduction date 2015-06-01. - Moscow: Standartinform, 2019. - 13 s. (In Russ)]. 2. ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур (Переиздание) : межгос. стандарт : изд. офиц. : дата введения 2016-07-01. - Москва : Стандартинформ, 2019 . - 13 с. [GOST 33215-2014 Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the equipment of premises and the organization of procedures (Reissue): interstate. standard : ed. official : introduction date 2016-07-01. - Moscow: Standartinform, 2019. - 13 s. (In Russ)]. 3. Приказ МСХ РФ от 06.03.2018 г. № 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения. [Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation dated March 6, 2018 No. 101 "On approval of the rules for conducting a preclinical study of a medicinal product for veterinary use, a clinical study of a medicinal product for veterinary use, and a study of the bioequivalence of a medicinal product for veterinary use (In Russ)]. 4. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических лекарственных средств / Р. У. Хабриев - 2-изд., перераб. и доп. – Москва : ОАО "Издательство "Медицина", 2005. - 832 с. Khabriev R. U. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological drugs / R. U. Khabriev - 2nd ed., revised. and additional - Moscow: JSC "Publishing house" Medicine ", 2005. - 832 p.