

Клиренс-тесты как метод диагностики патологий гепатобилиарной системы у животных

© 2023. В. С. Понамарёв ✉, О. С. Попова, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной
медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

В современных условиях промышленного сельского хозяйства организм животного работает на пределе своих возможностей, что приводит к дистрофическим болезням различных органов и систем. Разработка эргономичных способов своевременной диагностики данных патологий на ранних стадиях способствует поддержанию количественных и качественных показателей продуктивности животных и продлению времени их хозяйственного использования. Особенно сильной нагрузке подвергается печень с огромным количеством выполняемых ею функций. Цель статьи – обзор имеющихся клиренс-тестов для ранней диагностики патологий гепатобилиарной системы у животных с рассмотрением их преимуществ и недостатков. В результате поиска тематических публикаций в различных библиографических базах отобрано 45 наиболее цитируемых научных статей. В обзоре рассмотрены клиренс-тест с индоцианином зелёным, амидопириновый дыхательный тест, тест элиминации сорбитола, тест элиминации галактозы, фенилаланиновый дыхательный тест и метод гепатобилиарной сцинтиграфии. Функциональные тесты позволяют не только диагностировать и дифференцировать гепатопатологии, но и визуализировать их течение и восстановление печени. В отличие от лабораторных тестов, клиренс-тесты позволяют оценить работу печени в динамике. К недостаткам клиренс-тестов относятся слабая их изученность для массового применения, а также частые случаи индивидуальных отличий в элиминации специфических веществ. Для снижения имеющихся недостатков возможно комбинирование клиренс-тестов с другими лабораторными методами диагностики гепатопатий у животных.

Ключевые слова: гепатопатия, клиренс-тест с индоцианином зелёным, амидопириновый дыхательный тест, тест элиминации сорбитола, тест элиминации галактозы, фенилаланиновый дыхательный тест, метод гепатобилиарной сцинтиграфии

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, <https://rscf.ru/project/23-26-00011>

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Понамарёв В. С., Попова О. С., Кострова А. В., Агафонова Л. А. Клиренс-тесты как метод диагностики патологий гепатобилиарной системы у животных. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока.* 2023;24(6):924-938. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938>

Поступила: 18.05.2023

Принята к публикации: 02.10.2023

Опубликована онлайн: 20.12.2023

Clearance tests as a diagnosis method of hepatobiliary system pathologies in animals

© 2023. Vladimir S. Ponomarev ✉, Olga S. Popova, Anastasia V. Kostrova,
Lyudmila A. Agafonova

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

In present-day conditions of industrial agriculture, the animal's body works at the limit of its capabilities, which leads to degenerative diseases of various organs and systems. The development of ergonomic ways of modern diagnosis of these pathologies at the early stages contributes to the maintenance of quantitative and qualitative indices of productivity of animals and to the extension of the time of their economic use. The liver with a great number of functions performed is subjected to the highest load. The aim of the article is to review the available clearance tests in order to diagnose the pathology of the hepatobiliary system of animals at the early stage, considering advantages and disadvantages of the tests. As the result of the search of themed issues in various bibliographic databases there have been selected 45 mostly cited scientific articles. The article reviews such clearance tests as indocyanine green clearance test, aminopyrine breath test, sorbitol elimination test, galactose elimination test, phenylalanine breath test, and hepatobiliary scintigraphy method. Functional tests allow not only diagnosing and differentiating hepatopathologies, but also visualizing their course and liver recovery. Unlike laboratory tests, clearance tests make it possible to evaluate the work of the liver in dynamics. The disadvantages of clearance tests are lack of information for their wide use and frequency of particular differences in elimination of specific substances. To reduce the proportion of existing shortcomings, it is possible to combine clearance tests with other laboratory methods for diagnosing hepatopathy in animals.

Keywords: hepatopathy, indocyanine green clearance test, aminopyrine breath test, sorbitol elimination test, galactose elimination test, phenylalanine breath test, hepatobiliary scintigraphy method

Acknowledgments: the study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-26-00011, <https://rscf.ru/project/23-26-00011>

The authors thank the reviewers for their contribution to the expert evaluation of this work.

Conflict of interest: the authors declared no conflict of interest.

For citations: Ponamarev V. S., Popova O. S., Kostrova A. V., Agafonova L. A. Clearance tests as a diagnosis method of hepatobiliary system pathologies in animals. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2023;24(6):924-938. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938>

Received: 18.05.2023

Accepted for publication: 02.10.2023

Published online: 20.12.2023

Современные этапы промышленного сельского хозяйства требуют от животных максимальной продуктивности с сохранением нормальной физиологии. Исходя из этого, организм животного работает на пределе своих возможностей, что приводит к дистрофическим болезням различных органов и систем. Такие заболевания носят хронический характер и клинически проявляются не сразу. Разработка эргономичных способов своевременной диагностики данных патологий способствует поддержанию высокой продуктивности животных, сохранению качества и продлению времени их хозяйственного использования¹ [1, 2].

Больше всего от повышенной нагрузки на организм животного страдает система пищеварения. Это происходит из-за того, что для получения больших объемов продукции увеличиваются и объемы дачи высококонцентрированных кормов. Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) крупного рогатого скота физиологически не предназначен для переваривания такого количества концентратов, из-за чего происходят различные отклонения в его работе. Особенно сильной нагрузке подвергается печень с огромным количеством выполняемых ею функций. Но при этом заболевания печени переходят в стадию клинических проявлений, когда уже большая часть органа повреждена [3]. Диагностика патологий гепатобилиарной системы в современной ветеринарии проводится с использованием клинических, инструментальных и лабораторных данных [4, 5].

Лабораторными методами диагностики определяют: наличие гепатобилиарной патологии; локализацию очага поражения в печени; окончательный тип патологии и мониторинг ответа на терапию или прогрессирование заболевания. Лучшим методом определения патологий печени, на данный момент, является биопсия печени [5]. Но данные методы трудоемки, экономически затратны и инвазивны.

Перспективным направлением в диагностике гепатопатий являются клиренс-тесты, которые позволяют быстро и эффективно диагностировать заболевания печени на ранних этапах [5].

Клиренс в медицине (англ. clearance) – скорость очищения плазмы крови, других сред или тканей организма от какого-либо вещества в процессе его биотрансформации, перераспределения в организме и (или) выделения из организма². Клиренс-тест или исследование клиренса применяют в фармакологии и токсикологии для изучения кинетики лекарственных препаратов, в том числе тех, изменение элиминации которых свидетельствует об изменении функции микросомального окисления в печени, а в медицине и ветеринарии – для оценки выделительной и метаболической функции органов, величины регионарного кровообращения, обмена веществ. В клинической практике исследование клиренса наиболее широко применяется для диагностики нарушений функций почек и печени.

Цель статьи – обзор имеющихся клиренс-тестов для ранней диагностики патологий гепатобилиарной системы у животных с рассмотрением их преимуществ и недостатков.

Материал и методы. Поиск и обработка научных публикаций были выполнены согласно рекомендациям Х. Снайдер (H. Snyder) к написанию обзорных статей [6]. На английском и русском языках в библиографических базах (Elibrary, «КиберЛенинка», Pubmed, Scopus (Elsevier), Web of Science (Clarivate)) был осуществлен поиск тематических публикаций по ключевым словам: клиренс-тест с индоцианином зеленым, амидопириновый дыхательный тест, тест элиминации сорбитола, тест элиминации галактозы, фенилаланиновый дыхательный тест, метод гепатобилиарной сцинтиграфии с дальнейшим выделением наиболее цитируемых. Статьи, опубликованные ранее 2013 года, использовали только в случае наличия в них критически важной для раскрытия темы информации, отсутствующей в более поздних публикациях.

Химические формулы рассмотренных соединений приведены согласно систематической номенклатуре ИЮПАК (<https://iupac.org/what-we-do/nomenclature/>).

¹Понамарев В. С. Фармако-токсикологическая оценка комплексного препарата с гепатопротекторной активностью: дис. канд. вет. наук. Санкт-Петербург, 2021. 148 с.

²Петровский Б. В. Большая Медицинская Энциклопедия (БМЭ). 3-е изд. М: Советская энциклопедия, 1989. 15912 с.

Основная часть. Динамические клиренс-тесты обеспечивают прямое измерение действительного, функционального состояния печени и позволяют оценить степень гепатобилиарной недостаточности на момент исследования [7, 8]. Животные с патологиями печени могут и не иметь значительного снижения функционального резерва печени, соответственно, и прогностическая ценность отдельных печёночных тестов незначительна. Только динамические или количественные тесты печёночной функции могут выявить функциональную недостаточность и более точно отразить прогноз заболевания.

В качестве тестов количественной оценки функции печени, которые основаны на оценке клиренса различных экзогенных субстанций в современной медицине и ветеринарии используются: амидопириновый дыхательный; элиминации галактозы; фенилаланиновый дыхательный; элиминации сорбитола; на метаболизм лидокаина; клиренс-тест с индоцианином зеленым (ИЦЗ); метод гепатобилиарной сцинтиграфии. Наиболее перспективными признаны клиренс-тесты с ИЦЗ и лидокаином. Результаты этих динамических проб широко используются

гепатологами как неинвазивное определение резервов печени [9].

Дыхательные тесты (амидопириновый и фенилаланиновый) являются одними из первых клиренс-тестов для обнаружения патологии печени [10]. Они основаны на мечении химического вещества ^{13}C изотопом углерода, который метаболизируется и выводится с углекислым газом через дыхательную систему. Выдыхаемый воздух собирается с помощью маски или контейнера. У животных проведение данных тестов ограничено из-за сложности исполнения.

Амидопириновый дыхательный тест – первый из дыхательных тестов, предложенный для оценки функциональной активности гепатоцитов у больных животных с различными видами патологии печени [11].

Механизм его действия заключается в метаболизме 1-фенил-2,3-диметил-4-диметил-аминопиразол-5-она (амидопирин), меченого ^{13}C изотопом углерода, в микросомальной системе печени [12, 13]. Химически амидопирин схож с нестероидными противовоспалительными препаратами фенилбутазон и антипирин (рис. 1).

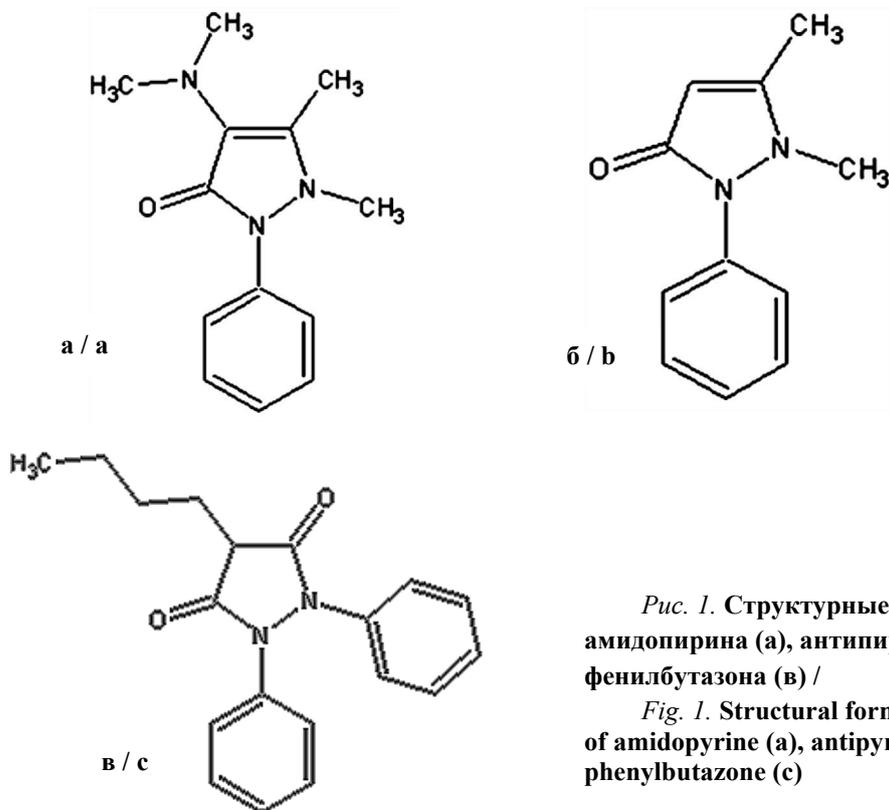


Рис. 1. Структурные формулы амидопирина (а), антипирина (б), фенилбутагона (в) /

Fig. 1. Structural formulas of amidopyrine (a), antipyrine (b), phenylbutazone (c)

После деметилирования амидопирина системой цитохрома P450 в гепатоцитах образуется формальдегид и 4-аминоантипирин. А формальдегид, окисляясь до бикорбаната,

частично выделяется с выдыхаемым воздухом. Количество $^{13}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе сравнивают с количеством ^{13}C изотопа, введенного в организм, и вычисляют процентную дозу [14].

Именно за счет участия системы цитохрома P450 амидопирин возможно использовать для оценки функционального состояния печени.

Также у амидопирина низкая степень печеночной экстракции, что обуславливает способность теста отражать функциональное состояние гепатобилиарной системы, независимо от печёночного кровотока. При этом способность деметилирования амидопирина прямо коррелирует с массой печени.

В гуманной медицине амидопириновый дыхательный тест используют для диагностики острых и хронических гепатитов, циррозов разнообразной этиологии. Также есть предложение использовать данный тест для оценки поражения печени гепатотоксичными лекарственными препаратами. Но у данного теста есть ряд недостатков. По отношению к некоторым поражениям печени (острый и хронический гепатиты и циррозы печени) он дает неспецифичный результат [11].

В ветеринарной медицине амидопириновый тест успешно используют в диагностике патологий гепатобилиарной системы различной этиологии у мелких домашних и экзотических животных. Ранее амидопирин вводили энтерально, но некоторые исследования показывали потерю химического вещества в ЖКТ животных. Д. Кьярамонте, Й. М. Штайнер с соавторами (D. Chiaramonte, J. M. Steiner et al.) было предложено внутривенное введение

амидопирина [14]. Также для упрощения теста у животных сейчас возможно проводить анализ крови, а не выдыхаемого воздуха. Этот тест основывается на реакции деметилирования.

У собак повышение уровня деметилирования амидопирина свидетельствует о повышении активности печеночных ферментов. Причиной активизации данных ферментов может быть терапия фенобарбиталом. При использовании данного метода лечения применение амидопиринового теста даст ложно завышенный результат. Сходная картина может наблюдаться при использовании глюкокортикостероидов или болезнь Кушинга у собак. При тяжелых формах гепатопатологии (тяжелый гранулематозный гепатит, генерализованный гепатоцеллюлярный холестаз) уровень метаболизма амидопирина может снижаться более чем на 60 % относительно нормального [14].

Тест элиминации галактозы. Галактоза – один из простых сахаров, моносахарид из группы гексоз, изомер глюкозы (рис. 2). Входит в состав многих полисахаридов, в том числе лактозы. 90 % галактозы метаболизируется и экскретируется организмом через гепатобилиарную систему [15, 16]. В печени галактоза проходит стадию фосфорилирования с помощью фермента галактокиназы, превращаясь в глюкозо-1-фосфат. Именно уровень данной реакции анализируется с помощью теста элиминации галактозы.

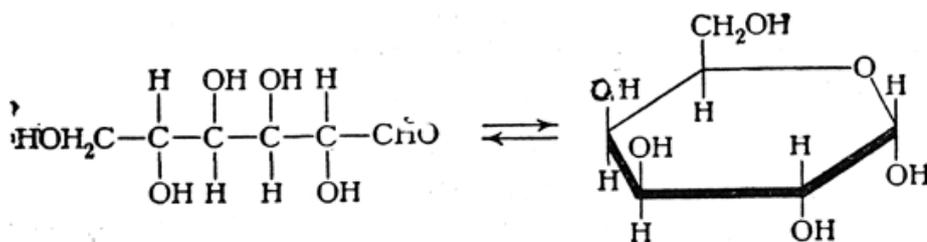


Рис. 2. Линейная и циклическая структурные формулы галактозы /
Fig. 2. Linear and cyclic structural formulas of galactose

В ходе теста происходит исследование плазмы крови или мочи спектрофотометрическим методом. В основе лабораторного анализа лежит реакция галактозы и никотинамидадениндинуклеотида (НАД) с образованием галактолактона и НАДН [16]. Также есть способ обнаружения галактозы с использованием фотоэлектроколориметра и орцинового реактива и последующим диск-электрофорезом³. Метод основывается на том, что освобожденная от белка галактоза взаимодействует с орциновым реак-

тивом, и окрашивает раствор в розовый цвет, интенсивность которого показывает концентрацию гексоз. Сыворотку крови сначала обрабатывают 96° этанолом для осаждения белков, затем центрифугируют и к осадку добавляют орциновый реактив (смесь серной кислоты и орцина). Полученный раствор выдерживают в термостате при 80 °С и далее помещают в лед. После этого проводят фотоэлектроколориметрию с зеленым светофильтром, результат сравнивают с контрольной пробой⁴.

³Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. 2-е изд., перераб. и доп. Мн.: Беларусь, 1982. 366 с.

⁴Там же.

Далее для дифференциации концентрации маннозы и галактозы есть два способа – определение содержания гликопротеидов маннозы с помощью триптофана; либо диск-электрофорез. Реакция с триптофаном проводится с помощью фотоэлектроколориметра. Для данного метода используют этиловый спирт для осаждения белковых фракций, борно-серный раствор для гидролиза гликопротеина и усиления окраски раствора, раствор триптофана. Метод диск-электрофореза позволяет разделить все белковые фракции сыворотки крови на разные слои. Это происходит благодаря буферам разного состава, различными показателями pH и размерами пор. Ход работы состоит из 6 шагов: приготовление геля; нанесение сыворотки крови; собственно электрофорез; извлечение колонок геля; окрашивание белковых фракций с использованием амидового черного; количественное определение отдельных фракций проводят оптическими методами – прямой денситометрией или денситометрией фотоснимков⁵.

Данный клиренс-тест позволяет оценивать функциональную активность печени, метаболическую способность гепатоцитов, а также детоксикационную функцию печени. Снижение данного показателя свидетельствует о недостаточности гепатобилиарной системы. Такие

показатели возможны при острой печеночной недостаточности, хронических заболеваниях печени и после хирургических операций на печени [17]. Тест используют для оценки эффективности лечения и контроля метаболизма препаратов, которые активно выводятся через печень (промазин, цефопиразон) [15, 18]. Высокий коэффициент экстракции делает ферментирование галактозы процессом, независимым от кровотока печени и ее функциональной массы.

Для получения максимально достоверного значения элиминации галактозы её используют в относительно больших дозах для реализации максимального количества ферментов. Еще одним недостатком теста является необходимость проводить неоднократный отбор крови для визуализации снижения концентрации галактозы в плазме. Также данный клиренс-тест не дает характеристику регионального повреждения печени [17].

При проведении теста на крысах было выявлено две фазы метаболизма галактозы: быстрого распределения и элиминации. В ходе моделирования гепатопатий у крыс подтвердилась эффективность теста элиминации галактозы: показатель в опытной группе был в 1,6 раза выше. Отсутствовала корреляция между уровнем элиминации галактозы и АСТ и АЛТ (рис. 3) [15].

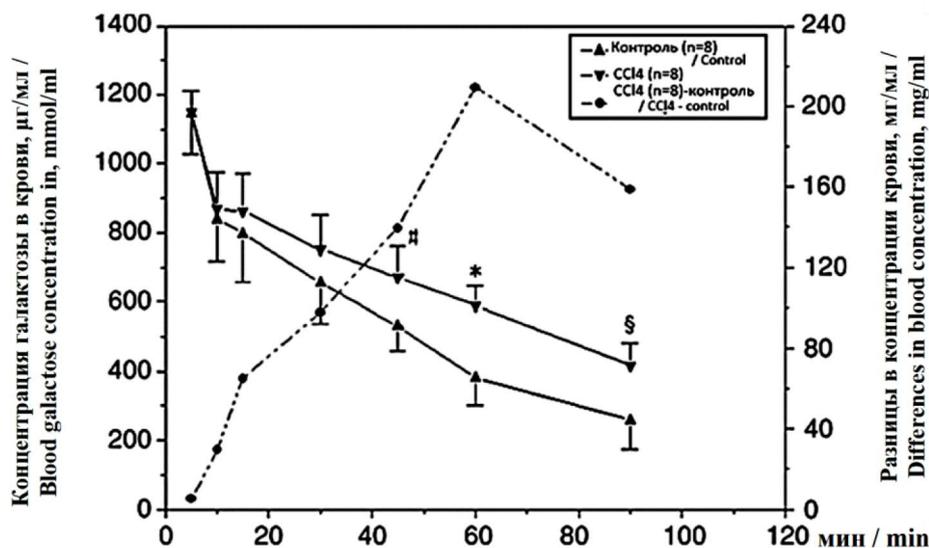


Рис. 3. Среднее значение (\pm SD) зависимости концентрации галактозы в венозной крови от времени после быстрой внутривенной инъекции 0,5 г/кг галактозы контрольным крысам ($n = 8$) и крысам, получавшим четыреххлористый углерод (CCl_4) для моделирования гепатопатии ($n = 8$). Различия концентраций галактозы в крови через 45, 60 и 90 минут после инфузии демонстрируют очень значимые различия между этими двумя группами. CCl_4 достиг пика на 60 минуте и уменьшился на 90 минуте (* $P < 0,01$, ** $P < 0,001$, *** $P < 0,005$) [15] /

Fig. 3. Mean (\pm SD) time dependence of galactose concentration in venous blood after a rapid intravenous injection of 0.5 g/kg galactose in control rats ($n = 8$) and rats treated with carbon tetrachloride (CCl_4) to simulate hepatopathy ($n = 8$). Differences in blood galactose concentrations at 45, 60 and 90 minutes post-infusion demonstrate very significant differences between the two groups. CCl_4 peaked at 60 minutes and decreased at 90 minutes (* $P < 0,01$, ** $P < 0,001$, § $P < 0,005$) [15]

⁵Колб В. Г., Камышников В. С. Указ. соч.

Фенилаланиновый дыхательный тест – впервые использовали в 1997 году для определения функциональной способности гепатоцитов у пациентов с терминальной стадией гепатопатии [19]. Тест имеет ту же основу, что и амидопириновый: введение вещества с меченым C^{13} изотопом, и дальнейшая его регистрация в выдыхаемом воздухе. Биохимическая база состоит в способности клеток печени окислять фенилаланин (рис. 4).

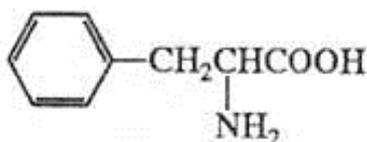


Рис. 4. Структурная формула фенилаланина /
Fig. 4. Structural formula of phenylalanine

Фенилаланин окисляется до тирозина и под действием тирозин-аминотрансферазы превращается в гидроксифенилпировиноградную кислоту, которая превращается в гомогентизиновую с образованием CO_2 [19, 20]. Окисление самого фенилаланина проходит за счет специального фермента фенилаланин-гидроксилазы. Данный фермент в организме находится исключительно в гепатоцитах, благодаря чему фенилаланиновый тест обладает высокой специфичностью. По мнению некоторых исследователей, данный тест является лучшей альтернативой амидопириновому, так как он безопаснее и не имеет побочных эффектов [11].

При моделировании острой гепатопатологии на крысах было показано, что скорость экскреции C^{13} снижалась у животных опытной группы, за счет снижения общей активности фенилаланин гидроксилазы [19].

С использованием фенилаланинового теста возможно проводить дифференциальную диагностику между хроническим гепатитом и ранними стадиями жирового гепатоза печени, определять тяжесть поражения печени, при этом отличаясь от других методов диагностики простотой и неинвазивностью. Также клиренс-тест позволяет определить дисфункцию гепатобилиарной системы, связанной с механической желтухой [20].

Тест элиминации сорбитола. Сорбитол или сорбит – шестиатомный спирт, обладающий сладким вкусом (рис. 5). Является распространенным сахарозаменителем и подсластителем. В организме сорбитол метаболизируется за счет уровня сорбитолдегидрогеназы, специ-

ального фермента, депонирующегося в печени [21, 22, 23]. Этот фермент катализирует реакцию сорбитол с НАД, превращая их во фруктозу и НАДН [24]. Обычно уровень сорбитолдегидрогеназы коррелирует с уровнями АЛТ и АСТ [25].

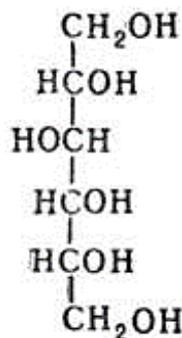


Рис. 5. Структурная формула сорбита /
Fig. 5. Sorbitol structural formula

Тест элиминации сорбитола является хорошим показателем гепатоцеллюлярного заболевания, который увеличивается при умеренном и тяжелом внутри- и внепеченочном холестазах. В качестве исследуемой пробы можно отбирать и кровь, и мочу. Определение сорбитола в биоматериале проводят с помощью метода спектрофотометрии. Существуют разные способы проведения данного исследования [26, 27, 28]. Согласно одному из методов, плазму крови сначала необходимо депротеинизировать с использованием хлорной кислоты. Далее пробу центрифугировали для получения супернатанта, и его последующей нейтрализации K_2CO_3 . Затем проводят второе центрифугирование и к надосадочной жидкости добавляют фосфатный буфер (рН 9,5), сорбитолдегидрогеназу и никотинамидадениндинуклеотид. Полученный раствор оставляют при $20\text{ }^\circ\text{C}$ на 1 час, и после этого проводят спектрофотометрию с чистым раствором буфера в качестве контроля [28].

Существует метод Коркорана и Пейджа с модификацией [27, 28]. Для проведения данного метода необходимы: периодат калия в серной кислоте; хлорид олова в соляной кислоте; хромотроповая кислота в серной кислоте; серная кислота. Пробу сначала консервируют бензойной кислотой. Все реактивы добавляют к пробе в определенной последовательности – сначала добавляют реактив периодической кислоты, содержимое немедленно и тщательно перемешивают палочкой и оставляют на 8 минут. Последующие этапы процедуры должны выполняться без перерыва или задержки. Через 8 минут

добавляют реагент хлорида олова, снова хорошо перемешивают реакционную смесь и помещают на баню с холодной водой. Затем прибавляют реактив хромотроповой кислоты и перемешивают содержимое. Пробу с палочкой для перемешивания погружают в кипящую водяную баню на 30 минут. После извлечения и охлаждения добавляют серную кислоту, содержимое тщательно перемешивают и удаляют палочки для перемешивания. Полученный раствор считают на спектрофотометре относительно дистиллированной воды. При использовании этого метода цвет и плотность раствора стабильны и сохраняются неизменными в течение нескольких часов [27, 28].

Тест можно использовать для диагностики жировой дистрофии печени, в том числе вызванной дефицитом холина, а также при нарушении окислительно-восстановительных процессов в печени [29, 30]. Данный тест позволяет оценить печеночный кровоток [30].

Недостатком теста является короткий период полураспада сорбитолдегидрогеназы и необходимость проведения теста в течение 6 часов после взятия образца.

Тест на метаболизм лидокаина. Лидокаиновый тест (MEGX-моноэтилглицинксилидид) для оценки функциональных резервов печени используется с 1995 года, как простой динамический тест для оценки тяжести хронического заболевания печени [9, 31].

В крови лидокаин находится в трех состояниях: свободный, связанный с альбумином и связанный с α -1-кислым гликопротеином. Лидокаин метаболизируется в печени. Около 60 % дозы подвергается N-деалкилированию в системе цитохрома P450 с помощью ферментов CYP3A4 и CYP1A2 с образованием моноэтилглицинксилидида и глицинксилидида (рис. 6)⁶ [32]. Лидокаин не токсичен для организма в используемых дозах, имеет короткий период полувыведения и высокий коэффициент экстракции печени, что выгодно отличает его от других клиренс-тестов [31, 33].

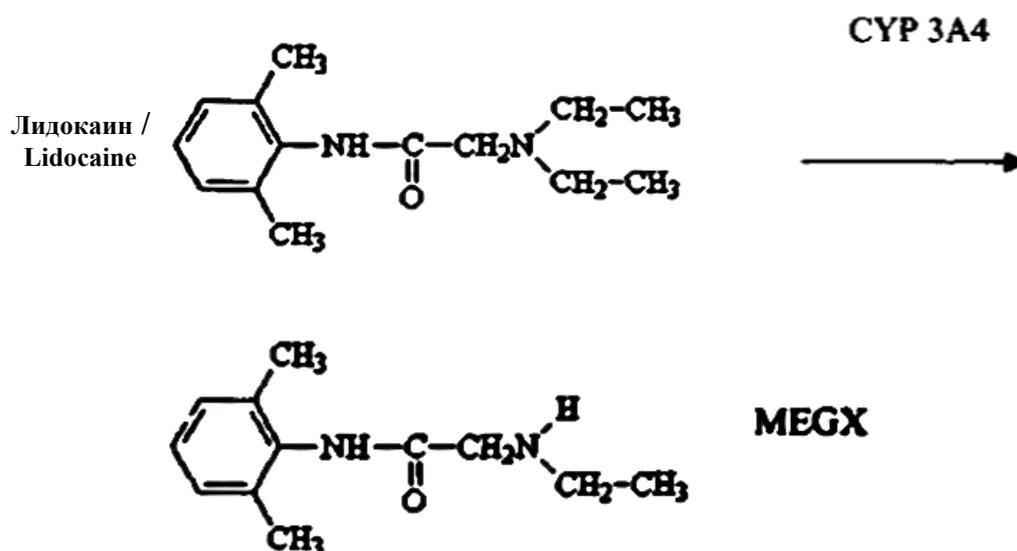


Рис. 6. Структура лидокаина и MEGX-моноэтилглицинксилидита⁷ /
 Fig. 6. Lidocaine and MEGX-monoethylglycine xylidite structure⁷

MEGX определяют флюорометрическим методом после экстракции его из плазмы крови⁸. Экстракция MEGX проходит с использованием боратного буфера (рН 9,5) и дихлорметана. Далее раствор подвергают дериватизации для получения производного MEGX-NBD (рис. 7). Дериватизацию проводят с 4-фтор-7-нитробензофуразаном (NBD-F)⁹. Затем 50 мкл раствора подвергают хроматографии. Время выхода MEGX 8,2±0,3 минуты,

ватизации для получения производного MEGX-NBD (рис. 7). Дериватизацию проводят с 4-фтор-7-нитробензофуразаном (NBD-F)⁹. Затем 50 мкл раствора подвергают хроматографии. Время выхода MEGX 8,2±0,3 минуты,

⁶Раменская Г. В. Высокоэффективная жидкостная хроматография в оценке биотрансформации лекарственных средств (фармакогенетика и фармакокинетика): дис... д-ра фарм. наук. М., 2005. 355 с.

⁷Там же.

⁸Там же.

⁹Там же.

внутреннего стандарта 12,3±0,3 минуты¹⁰. Количественное определение MEGX проводят методом внутреннего стандарта. Согласно этому методу, калибровочный график строят

по отношению площади пика MEGX с пиком внутреннего стандарта в пробе при разных концентрациях¹¹.

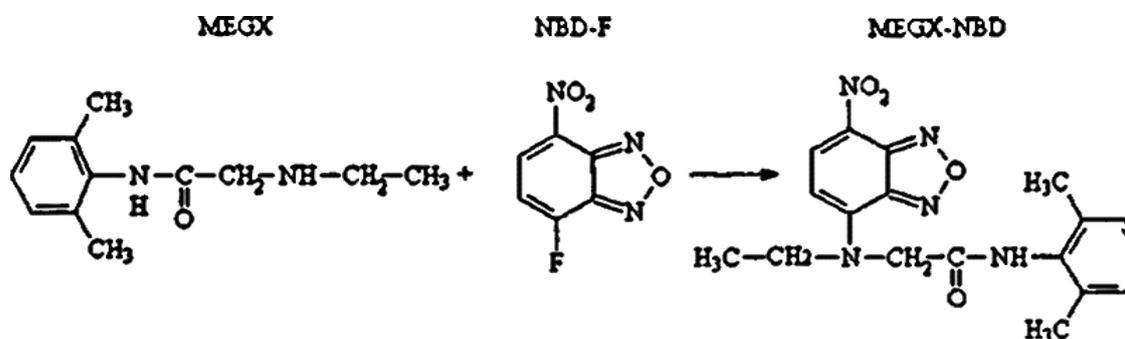


Рис. 7. Дериватизация MEGX с NBD-F¹² /
Fig. 7. Derivatization of MEGX with NBD-F¹²

Использование теста необходимо для дифференциации жировой дистрофии печени от её нормального состояния, а также прогнозирования её течения. Различие между разными гепатопатиями не так заметно при анализе теста. Лидокаиновый тест способен определить детоксикационную функцию печени [16]. Данный тест успешно используют для прогнозирования и диагностики животных с портосистемным шунтом [33]. Печень может повреждаться и вторично при различных заболеваниях. Имеется исследование по проведению лидокаинового теста на крысах с моделированным сахарным диабетом. Полученные результаты указывают на нарушение гепатобилиарной системы и увеличение времени элиминации метаболитов лидокаина [32].

На концентрацию MEGX влияет уровень кровотока, рацион кормления (особенно белки). При печеночной дисфункции период полувыведения лидокаина повышается в 2 раза и более [16]. В исследованиях на собаках не была выявлена корреляция результатов теста с полом, возрастом и кормлением животных. Сообщается, что MEGX является стабильным метаболитом, так как несколько циклов замораживания-оттаивания и хранение при температуре

-20 °С в течение 8 месяцев существенно не изменили концентрацию [33].

Для дальнейшего исследования актуальным считается изучение показателей клиренс-теста в зависимости от долей фракции лидокаина в крови [33].

Клиренс-тест с индоцианином зеленым (ИЦЗ). Индоцианин зеленый является диагностическим флуоресцентным красителем (рис. 8) [34].

ИЦЗ не проникает в ткани органов организма, 95 % связывается с β-аполипротеином В и выводится из организма не метаболизируясь [35, 36]. Выведения ИЦЗ из плазмы крови проходит в две фазы. Нормальный период полувыведения ИЦЗ у лошадей составляет <3,7 мин, у коз – 2,13±0,19 мин, у овец – ≤4 мин. Клиренс с ИЦЗ дольше у телят (5-15 мин), чем у взрослого крупного рогатого скота (≤5 мин) [37]. Выводится практически всё вещество (70-90 %) [9] клетками паренхимы печени со скоростью около 0,1 мг/мин/кг с желчью в неметаболизированном, несвязанном виде через желчевыводящие пути АТФ-зависимой транспортной системой. Максимальная концентрация в желчи наблюдается через 0,5-2 часа после введения и зависит от количества введенного индоцианина зеленого^{13, 14}.

¹⁰Раменская Г. В. Указ. соч.

¹¹Там же.

¹²Там же.

¹³Индоцианин Зеленый-Пульсион (Indocyanine Zelenyi-Pulsion) инструкция по применению. VIDAL: справочник лекарственных средств. [Электронный ресурс].

URL: https://www.vidal.ru/drugs/indocyanine_zelenyi-pulsion_38661 (дата обращения: 02.03.2023).

¹⁴Кулябина Т. В. Процессы окрашивания биологических объектов растворами индоцианина зеленого. Автореф. дис... канд. физ.-матем. наук. Саратов, 2007.18 с.

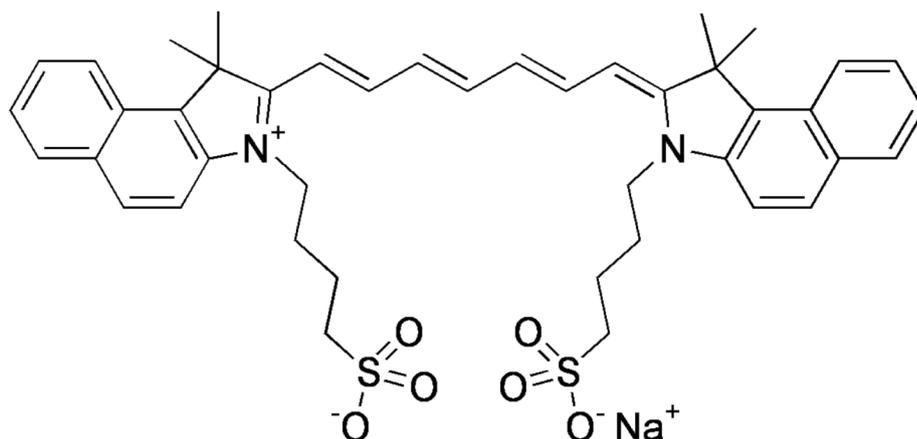


Рис. 8. Структурная формула индоцианина зеленого /
Fig. 8. Indocyanine green structural formula

В гуманной и ветеринарной медицине клиренс-тест с ИЦЗ проводится для измерения кровотока в печени, ее экскреторной (детоксикационной) функции и энергетический статус. Тест используют для диагностики и мониторинга хронической печеночной недостаточности, дисфункции печени, с возможностью наблюдения за восстановлением органа.

Стандартным методом количественного определения клиренса с ИЦЗ в печени является фотометрический анализ *ex vivo* последовательных образцов крови, полученных в течение 15 мин после внутривенной однократной инъекции [16]. Существует метод флуоресцентной томографии с ИЦЗ, который позволяет наблюдать за процессами в гепатобилиарной системе в режиме реального времени, но имеет ряд недостатков – невозможно определить границы пораженных отделов, и некоторые аппараты не могут идентифицировать ИЦЗ в организме. Есть показатели, которые возможно регистрировать при использовании ИЦЗ: скорость плазменной элиминации ИЦЗ; уровень остаточной концентрации индоцианина в плазме через 15 минут после введения диагностического красителя; при наличии данных о минутном объеме кровообращения – клиренс красителя и объем циркулирующей крови [38].

Гипербилирубинемия, снижение печеночного кровотока и значительный холестаза могут ложно удлинять клиренс с ИЦЗ, а гипоальбуминемия может ложно укорачивать его. Клиренс с ИЦЗ у коз чаще всего затягивается генерализованным липидозом печени, вторичным по отношению к токсикозу беременных. Сообщается, что определение времени клиренса с ИЦЗ, а не периода полувыведения, более полезно для выявления заболеваний печени.

Время клиренса с ИЦЗ у здоровых накормленных и 3-дневных голодающих лошадей составляет 10 и 6 мл/мин/кг соответственно [37].

По данным исследований, выявлена корреляция скорости плазменной элиминации ИЦЗ с уровнем общего билирубина, уровнем альбумина, протромбиновым индексом, международным нормализованным отношением и индексом гистологической активности некро-воспалительного процесса в печени [38]. Результат клиренс-теста с ИЦЗ также зависит от времени кормления животного. Период полувыведения ИЦЗ значительно укорачивается при проведении теста после кормления. Это связано с усилением кровотока печени после кормления. Соответственно, и продолжительное голодание искажает результаты клиренс-теста. При 4-дневном голодании было выявлено значительное удлинение периода полувыведения ИЦЗ [39].

Метод гепатобилиарной сцинтиграфии. Динамическая сцинтиграфия гепатобилиарной системы является высокоинформативным методом в выявлении патологий. Этот малоинвазивный метод диагностики является физиологичным и практически не имеет противопоказаний.

Томографическое исследование печени позволяет оценивать форму, размеры, положение органа относительно стандартных топографических ориентиров, количество функционально сохранных клеток ретикулоэндотелия печени, а также распределение накопления препарата в ткани печени при различных заболеваниях (хронические гепатиты, циррозы и т.д.).

Динамическое радиологическое обследование позволяет выполнить диагностику [37, 40, 41]:

- воспалительных и обменных заболеваний печени, желчного пузыря;
- непроходимости желчевыводящих путей, ЖКБ;
- функциональных расстройств желчного пузыря;
- воспаления желчевыводящих путей, кист желчных протоков;
- аномалии и пороки развития желчевыводительной системы, абдоминального синдрома неясной этиологии.

В ветеринарии крупных животных данная процедура затруднена по причине малой доступности специальных томографов соответствующих размеров. Но имеются данные по гепатобилиарной сцинтиграфии у свиней, жеребят, ягнят, мелких домашних и лабораторных животных [37, 40, 41].

С помощью данного метода, возможно оценивать 3 категории параметров [42] прохождения радиологического препарата (РП):

- из крови в гепатоциты;
- из гепатоцита в желчный пузырь;
- из желчного пузыря в тонкую кишку.

В качестве РП чаще всего используют вещества ^{99m}Tc -меброфенин и ^{99m}Tc -дизофенин, которые попадают в печень в связанном с белками состоянии. Эта связь легко разрушается в пространстве Диссе. Далее молекулы препарата связываются с рецепторами на мембране гепатоцитов и поглощаются гепатоцитами через независимый от натрия переносчик, выделяясь в желчный пузырь в нативном состоянии [41].

Необходимо оценивать весь путь прохождения РП в организме, так как при различных заболеваниях изменяются разные параметры. Во время сцинтиграфии регистрируют следующие показатели: вымывание РП из сердца, время максимального накопления РП в печени, вымывание РП из печени, появление РП в желчном пузыре, регистрация РП в тонком кишечнике. Также возможна визуализация размеров печени. У кошек за физиологическую норму приняты следующие цифры: вымывание РП из сердца – менее 2 мин, время максимального накопления РП в печени – менее 5 мин, вымывание РП из печени – до 30 мин, появление РП в желчном пузыре – 5 мин, регистрация РП в тонком кишечнике – 8 мин (через 3 мин после появления в желчном пузыре) [40]. У собак измеряли период полувыведения

препарата из печени – 16-19 мин, регистрация в желчном пузыре через 15-20 мин, а в кишечнике через 1 час [41].

Первичная гепатопатология (увеличение АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, билирубина) на сцинтиграфии определяется увеличением сердечного вымывания и длительной установки максимальной концентрации в печени, при этом появление РП в желчном пузыре и тонком кишечнике остается в норме. Первичный внутрипеченочный холестаза характеризуется нормальным или увеличенным установлением максимальной концентрации в печени и идентификацией в желчном пузыре. Смешанная гепатоцеллюлярная дисфункция и внутрипеченочный холестаза характеризовались задержкой сердечного и печеночного вымывания, установкой максимальной концентрации и первой идентификацией в желчном пузыре. Внепеченочная обструкция характеризуется отсутствием идентификации желчного пузыря и тонкого кишечника [40].

Также было замечено, что у животных с гепатопатиями есть тенденция к перераспределению РП в другие ткани организма, например легкие [41].

У лошадей возможно использование РП в качестве клиренс-теста для диагностики гепатопатий [41]. Этот метод включает сбор нескольких образцов крови каждые 15 минут с момента введения определяемого препарата в течение 240 минут после внутривенного введения радиофармацевтического препарата. И затем строят кривую экскреции препарата из крови. С помощью данного метода возможна диагностика гипербилирубинемии, связанной с анорексией, у лошадей [41].

Заключение. Функциональные тесты позволяют не только диагностировать и дифференцировать гепатопатологии, но и визуализировать их течение и восстановление печени. В отличие от лабораторных тестов, клиренс-тесты позволяют оценить работу печени в динамике. В настоящее время исследователями ведутся перспективные разработки новых химических соединений-кандидатов (в отношении использования их фармакокинетических свойств), скорость элиминации которых может рассматриваться как специфический показатель функционального состояния печени, в том числе и при патологиях, что подтверждает перспективность данного научного направления.

Эти диагностические подходы также имеют определённые недостатки. К ним относятся: малый объём проведённых исследований на животных для статистически подтверждённых гипотез, сложность в проведении подобных исследований, необходимость специальной аппаратуры и т. д.

Для исключения вышеперечисленных минусов в литературе есть результаты комбинирования клиренс-тестов с различными

балльными шкалами для создания комплексной прогностической системы с целью повышения их прогностической ценности и точности [43, 44, 45]. В настоящее время активно изучаются корреляционные взаимосвязи между так называемыми «классическими» диагностическими показателями функционального состояния печени и результатами клиренс-тестов для повышения достоверности при их использовании.

Список литературы

1. Кириллов А. А., Юшманов П. Н., Батраков А. Я. Этиология, распространение и экономический ущерб при заболеваниях печени у коров. *Международный вестник ветеринарии*. 2015;(1):7-12. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23371673> EDN: RSHTIM
2. Курдеко А. П. Распространение и клинико-гематологическая характеристика гепатоза у высокопродуктивных коров. *Международный вестник ветеринарии*. 2016;(3):133-138. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26740177> EDN: WNEATL
3. Алехин Ю. Н., Понамарев В. С., Попова О. С. Патогенетические основы сочетанного применения лекарственных препаратов групп гепатопротекторов и фитосорбентов. *Международный вестник ветеринарии*. 2022;(2):47-52. DOI: <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.2.47> EDN: HXQRWN
4. Морозова Т. Г., Борсуков А. В. Применение комплексной эластографии печени в рамках мультипараметрического ультразвукового исследования. *Лучевая диагностика и терапия*. 2017;(2(8)):78. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29752360> EDN: ZBBVRJ
5. Попова О. С., Понамарёв В. С., Кострова А. В., Агафонова Л. А. Обзор современных методов диагностики заболеваний гептобилиарной системы. *Международный вестник ветеринарии*. 2023;(1):113-122. DOI: <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2023.1.113> EDN: PLXLNR
6. Snyder H. Literature Review as a Research Methodology: An Overview and Guidelines. *Journal of Business Research*. 2019;104:333-339. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.07.039>
7. Краснов О. А., Павленко В. В., Краснов А. О. Клиническая и прогностическая значимость критериев оценки функциональных резервов печени при заболеваниях печени и выполнении ее резекции. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2014;17(4):66-77. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23093702> EDN: TLJIVB
8. Мнацаканян М. К., Рубцова Н. А., Хамидов Д. Х., Петров Л. О., Сидоров Д. В., Каприн А. Д. Методы предоперационного прогнозирования пострезекционной печеночной недостаточности. *Онкология. Журнал им. П. А. Герцена*. 2022;11(5):70-77. DOI: <https://doi.org/10.17116/onkolog20221105170> EDN: URIYBA
9. Краснов О. А., Павленко В. В., Краснов К. А., Краснов А. О., Пельц В. А., Старцев А. Б., Аминов И. Х., Сохарев А. С., Керопян С. Е. Современные методы оценки функционального резерва печени в резекционной хирургии органа. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2014;(6):37. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22955500> EDN: TIISKL
10. Рапопорт С. И., Шубина Н. А. Дыхательные тесты в диагностике заболеваний печени. *Клиническая медицина*. 2016;94(12):885-892. DOI: <https://doi.org/10.18821/0023-2149-2016-94-12-885-892> EDN: XVHVDJ
11. Кулаль Мохамед Эль Хаули. Дыхательные тесты в оценке функции печени. *Крымский терапевтический журнал*. 2006;(1):25-35. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/dyhatelnye-testy-v-otsenke-funktsii-pecheni>
12. Медведев Ю. В., Бакулин И. Г., Немцова Е. Г., Сайганов С. А., Бакулина Н. В. Инновации в применении ¹³C-метацетинового дыхательного теста для оценки степени фиброза печени. *Доктор.Ру*. 2019;8(163):6-12. DOI: <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-163-8-6-12> EDN: FQINDH
13. Бакулин И. Г., Медведев Ю. В. ¹³C-метацетиновый дыхательный тест при оценке функционального резерва печени. *Фарматека*. 2016;(S5):71-80. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28155411> EDN: XSDGEF
14. Chiaramonte D., Steiner J. M., Broussard J. D., Baer K., Gumminger S., Moeller E. M., Williams D. A., Shumway R. Use of a ¹³C-aminopyrine blood test: first clinical impressions. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2003;67(3):183-188. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12889723/>
15. Young T. H., Tang H. S., Chao Y. C., Lee H. S., Hsiung C. H., Pao L. H., Hu O. Y. Quantitative rat liver function test by galactose single point method. *Laboratory Animals*. 2008;42(4):495-504. DOI: <https://doi.org/10.1258/la.2007.06040e>
16. Родимова С. А., Кузнецова Д. С., Бобров Н. В., Вдовина Н. В., Загайнов В. Е., Загайнова Е. В. Современные методы оценки восстановительного потенциала печени после ее резекции (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2019;11(4):175-190. DOI: <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.4.20> EDN: DKGPL0
17. Sørensen M. Determination of hepatic galactose elimination capacity using 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-galactose PET/CT: reproducibility of the method and metabolic heterogeneity in a normal pig liver model. *Scandinavian Journal Gastroenterology*. 2011;46(1):98-103. DOI: <https://doi.org/10.3109/00365521.2010.510574>

18. Munk D. E., Björklund J., Lund Laursen T., Vilstrup H., Ott P., Grønbaek H., Damgaard Sandahl T. The galactose elimination capacity test to monitor liver disease course in patients with Wilson's disease. *Scandinavian Journal Gastroenterology*. 2022;57(5):589-594. DOI: <https://doi.org/10.1080/00365521.2021.2024248>
19. Yan W. L., Sun D. Y., Lin X. T., Jiang Y. B., Sun X. L. [1-13C] phenylalanine breath test results reflect the activity of phenylalanine hydroxylase in carbon tetrachloride acute injured rat liver. *Life Sciences*. 2006;78(8):838-843. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.073>
20. Aoki M., Ishii Y., Ito A., Khono T., Takayama T. Phenylalanine breath test as a method to evaluate hepatic dysfunction in obstructive jaundice. *Journal of Surgical Research*. 2006;130(1):119-123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2005.08.015>
21. Петрович Ю. А., Воложин А. И., Зубцов В. А., Трусова Н. Ф., Киченко С. М. К механизму повышения активности сорбитолдегидрогеназы сыворотки крови и печени крыс при избытке сахарозаменителя сорбитола в пище. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2007;(1):4-6.
22. Петрович Ю. А., Воложин А. И., Зубцов В. А., Киченко С. М. Влияние повышенного количества сорбитола и сахарозы в пище на активность ферментов и массу печени крыс в разные сезоны года. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2007;(2):14-16.
23. Петрович Ю. А., Воложин А. И., Зубцов В. А., Киченко С. М. Биоритмы активности дегидрогеназ печени, крови и изменения массы тела крыс при обычном корме и при избытке сахарозаменителей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007;144(12):686-690.
24. Satué K., Gardon J. C., Muñoz A. Use of Laboratory Testing to Diagnose Liver and Biliary Dysfunction in the Horse. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research*. 2013;2(10):807-813. URL: <http://www.ghrnet.org/index.php/joghr/article/view/504>
25. Zijlstra M., Greig D., Rios C., van den Broek J., Rothuizen J., Gulland F. Sorbitol Dehydrogenase (SDH) as a Predictor of Hepatocellular Damage in Three Species of Pinnipeds. *IAAAM*. 2010. URL: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=4473863&pid=11307>
26. Clemmesen J. O., Tygstrup N., Ott P. Hepatic plasma flow estimated according to fick's principle in patients with hepatic encephalopathy: Evaluation of indocyanine green and d-sorbitol as test substances. *Hepatology*. 1998;27(3):666-673. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.510270305>
27. West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for Determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. *Experimental Biology and Medicine*. 1949;70(1):141-142. DOI: <https://doi.org/10.3181/00379727-70-16853>
28. Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. *Journal of Biological Chemistry*. 1947;5(1):130.
29. Hillbom M. E., Pikkarainen P. H. Rates of Elimination of Sorbitol and Ethanol in the Choline-Deficient Fatty Liver. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1971;28(3):267-270. DOI: <https://doi.org/10.3109/00365517109095699>
30. Li Y. M., Lv F., Xu X., Ji H., Gao W. T., Lei T. J., Ren G. B., Bai Z. L., Li Q. Evaluation of liver functional reserve by combining D-sorbitol clearance rate and CT measured liver volume. *World Journal of Gastroenterology*. 2003;9(9):2092-2095. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v9.i9.2092>
31. Neumann S., Frenz M., Streit F., Oellerich M. Formation of monoethylglycinexylidide (MEGX) in clinically healthy dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2011;75(4):317-320. URL: https://www.researchgate.net/publication/223980704_Formation_of_monoethylglycinexylidide_MEGX_in_clinically_healthy_dogs
32. Gawrońska-Szklarz B., Musiał D. H., Pawlik A., Paprota B. Effect of experimental diabetes on pharmacokinetic parameters of lidocaine and MEGX in rats. *Polish Journal of Pharmacology*. 2003;55(4):619-624.
33. Devriendt N., Serrano G., Croubels S., Stock E., Vadermeulen E., Paep D., von Luckner J., de Rooster H. Evaluation of serum lidocaine/monoethylglycinexylidide concentration to assess shunt closure in dogs with extrahepatic portosystemic shunts. *Journal Veterinary Internal Medicine*. 2021;35(4):261-268. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.16030>
34. Фаррахова Д. С., Романишкин И. Д., Яковлев Д. В., Маклыгина Ю. С., Олейников В. А., Федотов П. В., Кравчик М. В., Бездетная Л., Лощенов В. Б. Взаимосвязь спектроскопических и структурных свойств j-агрегатов индоцианина зеленого. *Biomedical Photonics*. 2022;11(3):4-16. DOI: <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2022-11-3-4-16> EDN: WTIEVJ
35. Кондратенко Т. С., Гревцева И. Г., Чевычелова Т. А., Овчинников О. В. Нелинейно-оптические свойства Индоцианина зеленого. *Енисейская фотоника-2022: тез. докл. Т. 2*. Красноярск: ИФ СО РАН, 2022. С. 116-117.
36. Панченков Д. Н., Иванов Ю. В., Тупикин К. А., Астахов Д. А., Лискевич Р. В. Интраоперационная визуализация желчных протоков с помощью индоцианина зеленого при лапароскопической холецистэктомии. *Анналы хирургической гепатологии*. 2019;24(4):131-138. DOI: <https://doi.org/10.16931/1995-5464.20194131-138> EDN: IBCVIQ
37. Foreman J. H. Overview of Hepatic Disease in Large Animals. *MSD MANUAL*. 2023. URL: <https://www.msdsvet-manual.com/digestive-system/hepatic-disease-in-large-animals/overview-of-hepatic-disease-in-large-animals#v3265327>
38. Дзидзава И. И., Котив Б. Н., Кашкин Д. П., Смородский А. В., Слободяник А. В. Клиренс-тест с индоциановым зелёным как прогностический фактор риска для выживаемости у больных циррозом печени с синдромом портальной гипертензии. *Новости хирургии*. 2010;18(5):37-48. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17818843> EDN: OZYEJD
39. Ono M., Ohtaki T., Tanemura K., Ishii M., Tsumagari S. Relationship between indocyanine green clearance test and feed intake and impaired hepatic function in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2011;73(11):1497-1479. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0161>

40. Newell S. M., Selcer B. A., Roberts R. E., Cornelius L. M., Mahaffey E. A. Hepatobiliary Scintigraphy in the Evaluation of Feline Liver Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1996;10(5):308-315. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1996.tb02068.x>
41. Morandi F. Liver scintigraphy in veterinary medicine. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2014;44(1):15-23. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2013.08.002>
42. Head L. L., Daniel G. B. Correlation between hepatobiliary scintigraphy and surgery or postmortem examination findings in dogs and cats with extrahepatic biliary obstruction, partial obstruction, or patency of the biliary system: 18 cases (1995-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2005;227(10):1618-1624. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1618>
43. Oellerich M., Burdelski M., Lautz H. U., Rodeck B., Duewel J., Schulz M., Schmidt F. W., Brodehl J., Pichlmayr R. Assessment of pretransplant prognosis in patients with cirrhosis. *Transplantation*. 1991;51(4):801-806. DOI: <https://doi.org/10.1097/00007890-199104000-00013>
44. Gindro T., Arrigoni A., Martinasso G., Rosina F., Perardi S., Cappello N., Benedetti P., Actis G. C., Verme G., Rizzetto M. Monoethyl glycine xylidide (MEGX) test evaluation in primary biliary cirrhosis: comparison with Mayo score. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 1997;9(12):1155-1159. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9471020/>
45. Testa R., Valente U., Risso D., Cagliaris S., Giannini E., Fasoli A., Botta F., Dardano G., Lantieri P. B., Celle G. Can the MEGX test and serum bile acids improve the prognostic ability of Child-Pugh's score in liver cirrhosis? *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 1999;11(5):559-564. DOI: <https://doi.org/10.1097/00042737-199905000-00016>

References

1. Kirillov A. A., Yushmanov P. N., Batrakov A. Ya. Etiology, prevalence and economic damage at liver disease in cows. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii* = International Bulletin of Veterinary Medicine. 2015;(1):7-12. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23371673>
2. Kurdeko A. P. Distribution and clinical-hematologic characteristics of hepatitis at highly productive cows. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii* = International Bulletin of Veterinary Medicine. 2016;(3):133-138. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26740177>
3. Alekhin Yu. N., Ponamarev V. S., Popova O. S. Pathogenetic bases of the combined use of drugs from the groups of hepatoprotectors and phytosorbents. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii* = International Journal of Veterinary Medicine. 2022;(2):47-52. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.2.47>
4. Morozova T. G., Borsukov A. V. The use of complex liver elastography within multiparametric ultrasound. *Luchevaya diagnostika i terapiya* = Diagnostic radiology and radiotherapy. 2017;(2(8)):78. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29752360>
5. Popova O. S., Ponamarev V. S., Kostrova A. V., Agafonova L. A. Use of modern methods for diagnostics of diseases of the hepatobiliary system. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii* = International Journal of Veterinary Medicine. 2023;(1):113-122. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2023.1.113>
6. Snyder H. Literature Review as a Research Methodology: An Overview and Guidelines. *Journal of Business Research*. 2019;104:333-339. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.07.039>
7. Krasnov O. A., Pavlenko V. V., Krasnov A. O. Clinical and prognostic significance of liver functional reserves evaluation criteria for liver diseases and resections. *Voprosy rekonstruktivnoy i plasticheskoy khirurgii* = Issues of Reconstructive and Plastic Surgery. 2014;17(4):66-77. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23093702>
8. Mnatsakanyan M. K., Rubtsova N. A., Khamidov D. Kh., Petrov L. O., Sidorov D. V., Kaprin A. D. Methods for preoperative prediction of postresection hepatic failure. *Onkologiya. Zhurnal im. P. A. Gertsena* = P. A. Herzen Journal of Oncology. 2022;11(5):70-77. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17116/onkolog20221105170>
9. Krasnov O. A., Pavlenko V. V., Krasnov K. A., Krasnov A. O., Peltc V. A., Startcev A. B., Aminov I. Kh., Sokharev A. S., Keropian S. E. Modern methods on assessment of functional reserve of liver in resection surgery. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2014;(6):37. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22955500>
10. Rapoport S. I., Shubina N. A. Respiratory tests in diagnostics of renal diseases. *Klinicheskaya meditsina* = Clinical Medicine (Russian Journal). 2016;94(12):885-892. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18821/0023-2149-2016-94-12-885-892>
11. Koulal Mohamad El Hawly. Breath tests in liver function assessment. *Krymskiy terapevticheskiy zhurnal* = Crimean Journal of Internal Diseases. 2006;(1):25-35. (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dyhatelnye-testy-v-otsenke-funktsii-pecheni>
12. Medvedev Yu. V., Bakulin I. G., Nemtsova E. G., Sayganov S. A., Bakulina N. V. Innovative use of ¹³C-methacetin breathing test to assess the rate of hepatic fibrosis. *Doktor.Ru* = Doctor.ru. 2019;8(163):6-12. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-163-8-6-12>
13. Bakulin I. G., Medvedev Yu. V. ¹³C methacetin breath test for the evaluation of liver functional reserves. *Farmateka*. 2016;(S5):71-80. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28155411>
14. Chiaramonte D., Steiner J. M., Broussard J. D., Baer K., Gumminger S., Moeller E. M., Williams D. A., Shumway R. Use of a ¹³C-aminopyrine blood test: first clinical impressions. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2003;67(3):183-188. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12889723/>
15. Young T. H., Tang H. S., Chao Y. C., Lee H. S., Hsiung C. H., Pao L. H., Hu O. Y. Quantitative rat liver function test by galactose single point method. *Laboratory Animals*. 2008;42(4):495-504. DOI: <https://doi.org/10.1258/la.2007.06040e>

16. Rodimova S. A., Kuznetsova D. S., Bobrov N. V., Vdovina N. V., Zagainov V. E., Zagaynova E. V. Modern Methods for Assessing the Regenerative Potential of the Liver after Partial Hepatectomy (Review). *Sovremennye tehnologii v medicine* = Modern technologies in medicine. 2019;11(4):175-190. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.4.20>
17. Sørensen M. Determination of hepatic galactose elimination capacity using 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-galactose PET/CT: reproducibility of the method and metabolic heterogeneity in a normal pig liver model. *Scandinavian Journal Gastroenterology*. 2011;46(1):98-103. DOI: <https://doi.org/10.3109/00365521.2010.510574>
18. Munk D. E., Björklund J., Lund Laursen T., Vilstrup H., Ott P., Grønbaek H., Damgaard Sandahl T. The galactose elimination capacity test to monitor liver disease course in patients with Wilson's disease. *Scandinavian Journal Gastroenterology*. 2022;57(5):589-594. DOI: <https://doi.org/10.1080/00365521.2021.2024248>
19. Yan W. L., Sun D. Y., Lin X. T., Jiang Y. B., Sun X. L-[1-¹³C] phenylalanine breath test results reflect the activity of phenylalanine hydroxylase in carbon tetrachloride acute injured rat liver. *Life Sciences*. 2006;78(8):838-843. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.073>
20. Aoki M., Ishii Y., Ito A., Khono T., Takayama T. Phenylalanine breath test as a method to evaluate hepatic dysfunction in obstructive jaundice. *Journal of Surgical Research*. 2006;130(1):119-123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2005.08.015>
21. Petrovich Yu. A., Volozhin A. I., Zubitsov V. A., Trusova N. F., Kichenko S. M. To the mechanism of enhancing the activity of serum and hepatic sorbitol dehydrogenase in rats fed excess sweetener sorbitol. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* = Pathological physiology and experimental therapy. 2007;(1):4-6. (In Russ.).
22. Petrovich Yu. A., Volozhin A. I., Zubitsov V. A., Kichenko S. M. Effects of high quantities of sorbitol and saccharose in the diet on enzymes activity and liver mass in rats in different seasons of the year. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* = Pathological physiology and experimental therapy. 2007;(2):14-16. (In Russ.).
23. Petrovich Yu. A., Volozhin A. I., Zubitsov V. A., Kichenko S. M. Biorhythms of activities of liver and blood dehydrogenases and changes in body weight of the rats feeding normal diet or excess of sugar substitutes. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* = Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2007;144(12):686-690. (In Russ.).
24. Satué K., Gardon J. C., Muñoz A. Use of Laboratory Testing to Diagnose Liver and Biliary Dysfunction in the Horse. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research*. 2013;2(10):807-813. URL: <http://www.ghrnet.org/index.php/joghr/article/view/504>
25. Zijlstra M., Greig D., Rios C., van den Broek J., Rothuizen J., Gulland F. Sorbitol Dehydrogenase (SDH) as a Predictor of Hepatocellular Damage in Three Species of Pinnipeds. IAAAM. 2010. URL: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=4473863&pid=11307>
26. Clemmesen J. O., Tygstrup N., Ott P. Hepatic plasma flow estimated according to fick's principle in patients with hepatic encephalopathy: Evaluation of indocyanine green and d-sorbitol as test substances. *Hepatology*. 1998;27(3):666-673. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.510270305>
27. West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for Determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. *Experimental Biology and Medicine*. 1949;70(1):141-142. DOI: <https://doi.org/10.3181/00379727-70-16853>
28. Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. *Journal of Biological Chemistry*. 1947;5(1):130.
29. Hillbom M. E., Pikkarainen P. H. Rates of Elimination of Sorbitol and Ethanol in the Choline-Deficient Fatty Liver. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1971;28(3):267-270. DOI: <https://doi.org/10.3109/00365517109095699>
30. Li Y. M., Lv F., Xu X., Ji H., Gao W. T., Lei T. J., Ren G. B., Bai Z. L., Li Q. Evaluation of liver functional reserve by combining D-sorbitol clearance rate and CT measured liver volume. *World Journal of Gastroenterology*. 2003;9(9):2092-2095. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v9.i9.2092>
31. Neumann S., Frenz M., Streit F., Oellerich M. Formation of monoethylglycinexylidide (MEGX) in clinically healthy dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2011;75(4):317-320. URL: https://www.researchgate.net/publication/223980704_Formation_of_monoethylglycinexylidide_MEGX_in_clinically_healthy_dogs
32. Gawrońska-Szklarz B., Musiał D. H., Pawlik A., Paprota B. Effect of experimental diabetes on pharmacokinetic parameters of lidocaine and MEGX in rats. *Polish Journal of Pharmacology*. 2003;55(4):619-624.
33. Devriendt N., Serrano G., Croubels S., Stock E., Vadermeulen E., Paepe D., von Luckner J., de Rooster H. Evaluation of serum lidocaine/monoethylglycylxylidide concentration to assess shunt closure in dogs with extrahepatic portosystemic shunts. *Journal Veterinary Internal Medicine*. 2021;35(4):261-268. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.16030>
34. Farrakhova D. S., Romanishkin I. D., Yakovlev D. V., Maklygina Yu. S., Oleynikov V. A., Fedotov P. V., Kravchik M. V., Bezdetnaya L., Loshchenov V. B. Correlation of spectroscopic and structural properties of indocyanine green j-aggregates. *Biomedical Photonics*. 2022;11(3):4-16. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2022-11-3-4-16>
35. Kondratenko T. S., Grevtseva I. G., Chevychelova T. A., Ovchinnikov O. V. Nonlinear optical properties of indocyanine green. *Yenisei Photonics-2022: abstracts of reports. Vol. 2. Krasnoyarsk: IF SO RAN, 2022. pp. 116-117.*
36. Panchenkov D. N., Ivanov Yu. V., Tupikin K. A., Astakhov D. A., Liskevich R. V. Fluorescent imaging with indocyanine green for intraoperative bilie ducts examination during laparoscopic cholecystectomy. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii* = Annals of HPB Surgery. 2019;24(4):131-138. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.16931/1995-5464.20194131-138>
37. Foreman J. H. Overview of Hepatic Disease in Large Animals. MSD MANUAL. 2023. URL: <https://www.msdsvet-manual.com/digestive-system/hepatic-disease-in-large-animals/overview-of-hepatic-disease-in-large-animals#v3265327>
38. Dzidzava I. I., Kotiv B. N., Kashkin D. P., Smorodskiy A. V., Slobodyanik A. V. Indocyanine green clearance test as a prognostic risk factor for survival in cirrhotic patients with portal hypertension syndrome. *Novosti khirurgii*. 2010;18(5):37-48. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17818843>

39. Ono M., Ohtaki T., Tanemura K., Ishii M., Tsumagari S. Relationship between indocyanine green clearance test and feed intake and impaired hepatic function in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2011;73(11):1497-1479. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0161>
40. Newell S. M., Selcer B. A., Roberts R. E., Cornelius L. M., Mahaffey E. A. Hepatobiliary Scintigraphy in the Evaluation of Feline Liver Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1996;10(5):308-315. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1996.tb02068.x>
41. Morandi F. Liver scintigraphy in veterinary medicine. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2014;44(1):15-23. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2013.08.002>
42. Head L. L., Daniel G. B. Correlation between hepatobiliary scintigraphy and surgery or postmortem examination findings in dogs and cats with extrahepatic biliary obstruction, partial obstruction, or patency of the biliary system: 18 cases (1995-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2005;227(10):1618-1624. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1618>
43. Oellerich M., Burdelski M., Lautz H. U., Rodeck B., Diewel J., Schulz M., Schmidt F. W., Brodehl J., Pichlmayr R. Assessment of pretransplant prognosis in patients with cirrhosis. *Transplantation*. 1991;51(4):801-806. DOI: <https://doi.org/10.1097/00007890-199104000-00013>
44. Gindro T., Arrigoni A., Martinasso G., Rosina F., Perardi S., Cappello N., Benedetti P., Actis G. C., Verme G., Rizzetto M. Monoethyl glycine xylidide (MEGX) test evaluation in primary biliary cirrhosis: comparison with Mayo score. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 1997;9(12):1155-1159. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9471020/>
45. Testa R., Valente U., Risso D., Cagliaris S., Giannini E., Fasoli A., Botta F., Dardano G., Lantieri P. B., Celle G. Can the MEGX test and serum bile acids improve the prognostic ability of Child-Pugh's score in liver cirrhosis? *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 1999;11(5):559-564. DOI: <https://doi.org/10.1097/00042737-199905000-00016>

Сведения об авторах

✉ **Понамарёв Владимир Сергеевич**, кандидат вет. наук, ассистент кафедры фармакологии и токсикологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Черниговская ул., д. 5, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6852-3110>, e-mail: pseudopyos@mail.ru

Попова Ольга Сергеевна, кандидат вет. наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и токсикологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Черниговская ул., д. 5, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0650-0837>

Кострова Анастасия Викторовна, аспирант, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Черниговская ул., д. 5, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru

Агафонова Людмила Александровна, студент 5 курса факультета ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Черниговская ул., д. 5, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru

Information about the authors

✉ **Vladimir S. Ponomarev**, PhD in Veterinary Science, Assistant at the Department of Pharmacology and Toxicology, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Chernigovskaya St., 5, Saint-Petersburg, Russian Federation, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6852-3110>, e-mail: pseudopyos@mail.ru

Olga S. Popova, PhD in Veterinary Science, associate professor, associate professor at the Department of Pharmacology and Toxicology, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Chernigovskaya St., 5, Saint-Petersburg, Russian Federation, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0650-0837>

Anastasia V. Kostrova, post-graduate student, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Chernigovskaya St., 5, Saint-Petersburg, Russian Federation, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru

Lyudmila A. Agafonova, 5th year student, the Faculty of Veterinary Medicine, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Chernigovskaya St., 5, Saint-Petersburg, Russian Federation, 196084, e-mail: secretary@spbguv.m.ru

✉ – Для контактов / Corresponding author