

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента Мерзленко Руслана Александровича на диссертационную работу Козлова Сергея Васильевича «Новые методы фармакологической коррекции и профилактики заболеваний печени у сельскохозяйственных и мелких непродуктивных животных», представленную к защите на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных в диссертационный совет Д 220.061.01 при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»**

**Актуальность исследований.** Среди внутренних незаразных болезней сельскохозяйственных и мелких непродуктивных животных гепатопатии имеют повсеместное распространение и наносят животноводству ощутимый ущерб, вследствие снижения продуктивности, гибели и выбраковки животных, ухудшения качества продуктов животноводства, увеличения затрат на лечебно-профилактические мероприятия. Основными причинами данной патологии являются несоблюдение условий содержания и кормления животных, приводящие к нарушению обмена веществ, кетозу молочных коров, выраженности цитолитического и гепаторенального синдрома и развитию гепатоза, остеодистрофии, гиповитаминозам А, Е, С, микроэлементозам, поражениям органов воспроизводства, снижению резистентности животных, повышению чувствительности организма к возбудителям эндогенных и экзогенных инфекций.

Проблеме лечения и профилактики заболеваний печени у животных посвящено много работ как отечественных, так и зарубежных ученых. Однако большинство предложенных практикующим ветеринарным врачам гепатопротекторов не всегда достаточно эффективны и доступны по цене, требуют корректировки и совершенствования с учетом состояния естественной резистентности животных и факторов, вызывающих заболевание.

Исходя из этих позиций выполненное С.В. Козловым исследование, посвященное разработке новых лекарственных средств и поиску перспективных методов фармакологической коррекции поражений печени, является актуальным по своей тематической направленности, оригинальным по методологии поиска, имеющим новизну и практическую ценность по конечному результату.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Основные научные

положения, выводы и рекомендации по использованию научных выводов, представленные в диссертационном исследовании обоснованы и подтверждены результатами большого количества исследований, проведенных в соответствии с целью и задачами диссертационной работы.

Методы, использованные автором в работе, специфичны, адекватны и отвечают современному научно-методическому уровню исследований. Цифровые данные подвергнуты статистической обработке и не вызывают сомнений.

**Научная новизна исследования** состоит в следующем:

1. Автором впервые разработаны и стандартизированы новые лекарственные формы силимарина на основе полимерных матриц и конъюгатов с наночастицами селена и золота для лечения заболеваний печени у животных.

2. Впервые изучены физико-химические, биодинамические и фармако-токсикологические свойства новых лекарственных форм силимарина.

3. Впервые изучена роль наночастиц селена и золота, используемых в качестве носителя действующего вещества, в усилении гепатопротекторных свойств при дегенеративных поражениях печени у животных.

4. Впервые определено гепатопротекторное действие новых лекарственных форм силимарина на лабораторных моделях и установлен характер морфологических изменений, возникающих в ткани печени под воздействием разработанных прототипов лекарственных препаратов.

5. Впервые установлена терапевтическая эффективность новых лекарственных форм силимарина при лечении собак больных гепатитами, поросят с токсической дистрофией печени и при гепатозе у коров.

6. Впервые разработан комплекс лечебно-профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у продуктивных животных с применением разработанных новых лекарственных форм силимарина, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок.

Новизна исследований защищена 9 патентами РФ на изобретение.

**Значимость для науки и практики полученных автором результатов.** На основании выполненных исследований, автором научно обоснована концепция создания комплексного подхода применения препаратов на основе коллоидных частиц металлической и неметаллической природы при лечении и профилактике заболеваний гепатобилиарной системы у животных. Изучена роль комплекса наночастиц в формировании биодинамики лекарственного вещества и в прерывании патологического

процесса. Предложены новые инъекционные лекарственные формы силимарина на основе мицелл и наночастиц селена и золота.

Практическая значимость работы состоит в том, что для лечения патологий печени предложены новые гепатопротекторные, инъекционные лекарственные формы силимарина на основе мицелл и наночастиц селена и золота.

**Оценка оформления, содержания и завершенности работы.**  
Диссертация изложена на 362 листах машинописного текста и включает: введение, обзор научной литературы, собственные исследования, включающие разделы: методология, материал и методы исследования, результаты собственных исследований и их анализ, обсуждение полученных результатов, заключение, список сокращений, список литературы и 19 приложений. Список литературы содержит 402 источника, в том числе 174 иностранных. Работа содержит 88 таблиц, 45 иллюстраций.

В главе «Введение» автор освещает актуальность изучаемой проблемы, определяет цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, представляет основные положения, выносимые на защиту, приводит сведения о степени достоверности и публичной апробации материалов диссертационного исследования.

Глава 2 «Обзор литературы» включает в себя пять разделов.

В первом разделе диссертант анализирует отечественные и иностранные источники по заболеваемости, этиологии и патогенезу заболеваний печени у животных.

Во втором разделе приводятся подробные сведения о лекарственных средствах, применяемых для коррекции патологических состояний печени у животных.

Третий раздел посвящен описанию флавоноидных препаратов растительного происхождения, способных выполнять гепатопротекторную функцию, на основе экстрактов плодов расторопши пятнистой.

В четвертом разделе приведен литературный анализ по повышению биодоступности и терапевтической эффективности лекарственных средств путем создания мицеллярных растворов липофильных лекарственных средств и применения наночастиц в качестве носителей лекарственных веществ.

Пятый раздел содержит информацию об эффективности биологически активных веществ в терапии патологических состояний печени у животных.

На основании проведенного обзора литературы по анализу заболеваемости болезней печени у животных и их фармакологической коррекции автор четко определил актуальность проблемы, поставил цель научного исследования и сформулировал задачи.

Глава 3 «Собственные исследования» включает в себя два раздела.

В разделе 3.1 «Методология, материал и методы исследования» представлена общая схема проведения диссертационного исследования, включающая семь последовательных этапов, и подробно описана методика проведения каждого этапа, начиная с разработки стабильных образцов инъекционных форм силимарина на основе мицелл и наночастиц (селена и золота) и заканчивая обоснованием экономической эффективности и целесообразности применения разработанных препаратов в ветеринарной практике. Все токсикологические, клинические, цитологические, гематологические и биохимические исследования сыворотки крови, мочи на лабораторных, непродуктивных и продуктивных животных проведены с использованием современных методик на сертифицированном оборудовании. Цифровой материал исследований подвергнут статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel 2010 и пакета статистического анализа данных StatPlus 2009 professional 5.8.4 for Windows (StatSoft Inc., USA).

Раздел 3.2 «Результаты исследований и их анализ» состоит из 8 подразделов (3.2.1-3.2.8). Не может не imponировать факт, что в каждом из них приведены подробные методики планируемых автором опытно-поисковых исследований, что значительно улучшает восприятие полученных результатов.

В подразделе 3.2.1 приведены технологии получения мицеллярного раствора силимарина и конъюгированного с наночастицами селена и золота.

В подразделе 3.2.2 представлены данные исследований по физико-химическим свойствам препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц, полученные с помощью хроматографического анализа и трансмиссионного электронного микроскопа (ТЕМ) Libra 120 (Carl Zeiss, Germany).

В подразделе 3.2.3 описаны проведенные на лабораторных животных доклинические испытания предлагаемых автором препаратов с определением острой и хронической токсичности, оценки раздражающего действия, алергизирующих свойств и иммунотоксичности.

По результатам экспериментальных исследований установлено, что курсовое введение препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц («СилимаринМ», «СилимаринКС», «СилимаринКЗ») не обладают иммунотоксическим действием на организм животных в терапевтических дозах.

В подразделе 3.2.4 приведены результаты исследований по оценке безопасности препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц на наличие побочных явлений при различных путях введения лабораторным (мыши, морские свинки, кролики) и целевым (собаки, кошки, поросята, крупный рогатый скот) животным.

В результате проведенных исследований автором установлено, что курсовое внутримышечное и внутривенное введение изучаемых препаратов лабораторным и целевым животным не вызывало симптомов характерных для аллергических реакций и не приводило к заметным нарушениям их клинического состояния.

Подраздел 3.2.5 посвящен изучению специфической гепатопротекторной активности препаратов на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц в экспериментах на изолированных гепатоцитах (*in vitro*) и лабораторных животных (*in vivo*).

При изучении специфической гепатопротекторной активности препаратов силимарина на основе коллоидных частиц (селена и золота) и полимерных матриц в экспериментах на культуре изолированных гепатоцитов (*in vitro*) печени крыс автор доказал, что препараты обладают гепатозащитным эффектом, препятствуют разрушению гепатоцитов при поражении клеток токсическими веществами (четырёххлористый углерод).

Проведенными исследованиями по сравнительной оценке гепатопротекторных свойств исследуемых препаратов на модели острого токсического гепатита у мышей индуцированном тетрахлорметаном автор подтвердил их гепатопротекторные свойства.

Подраздел 3.2.6 посвящен изучению терапевтической эффективности изучаемых препаратов силимарина в общей схеме лечения животных с заболеваниями печени.

В производственных опытах на больных жировой дистрофией коровах, собаках с вторичным инвазионным гепатитом и поросятах-отъемышах с токсической дистрофией печени автором достоверно установлено, что препарат силимарина на основе коллоидного селена при парентеральном введении с терапевтической целью проявил ярко выраженное гепатопротекторное и антиоксидантное действие, в результате чего активнее осуществляются регенеративные процессы и связывание токсических веществ.

В подразделе 3.2.7 подробно описан комплекс лечебно-профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у животных с применением разработанных препаратов, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок.

При производственной апробации новой мицеллярной инъекционной формы на основе метилурацила в разработке которого автор принимал непосредственное участие, установлено, что несмотря на столь широкий спектр активности и низкую стоимость субстанции метилурацила, его основным недостатком является слабая растворимость в воде и органических растворителях (до 0,9 %), что и обуславливает отсутствие инъекционных препаратов на его основе. В этой связи была разработана новая водорастворимая лекарственная форма метилурацила.

Кроме того, автор принимал участие в разработке и производственном испытании водорастворимой сбалансированной витаминно-минеральной кормовой добавки «Волстар» на поросятах отъемного периода. Им было доказано, что данная витаминно-минеральная добавка в дозировке 0,5-1 мл на 10 кг живой массы способствует нормализации обмена веществ у поросят, а также повышению жизнеспособности молодняка и увеличению продуктивности.

При изучении безопасности внутримышечного применения водно-дисперсионного раствора метилурацила «Иммуносейв» клинически здоровым поросятам отъемного периода и телятам молочного периода диссертант показал, что данный препарат стимулирует гемопозитическую функцию организма, повышает конверсию питательных веществ корма, о чем свидетельствует повышение общего белка за счет фракции альбуминов в сыворотке крови опытных поросят относительно контроля и как следствие приводит к увеличению среднесуточных привесов относительно контроля.

При изучении комплексной схемы лечения токсической дистрофии у поросят с применением инъекционной формы метилурацила в качестве иммуномодулирующего и адаптогенного средства и витаминной кормовой добавки «Волстар» автором доказано, что данные препараты в комплексе с гепатопротекторным препаратом «СилимаринКС) способствуют восстановлению функциональной активности печени и повышению приростов живой массы животных.

Автором также было доказано, что включение поросятам-отъемышам разработанных препаратов, а также препаратов, стимулирующих процесс регенерации и витаминных кормовых добавок в комплекс профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы, приводит к повышению среднесуточных привесов на 28 % и снижению заболеваемости на 16,6 %.

В завершении автор экономически обосновывает высокую эффективность применения комплексной схемы по профилактике токсической дистрофии печени поросят, включающей препарат силимарина конъюгированный с наночастицами селена, мицеллярный раствор

метилурацила и витаминную кормовую добавку «Волстар».

В главе 4 «Обсуждение полученных результатов» автор в сжатой форме отражает объем и анализ выполненных им исследований путем сопоставления собственных результатов с результатами, полученными учеными и практиками при решении аналогичной проблемы.

Завершают научное исследование обоснованное, представляющее научную и практическую ценность для животноводства и ветеринарии, соответствующее цели и задачам заключение, рекомендации производству и перспективы разработки темы.

#### **Личный вклад соискателя**

Диссертационная работа Козлова С.В. является результатом личных исследований, проведенных в период с 2006 по 2017 годы, убедительно доказавших их эффективность. В ходе работы разработан ряд лекарственных средств, направленных на повышение устойчивости печени к действию патогенных факторов, нормализацию функциональной активности и стимуляцию регенерационных процессов в ней. Проведена их сравнительная терапевтическая эффективность. Определен наиболее перспективный препарат для лечения и профилактики патологий гепатобилиарной системы у животных. Разработан комплекс лечебно-профилактических мероприятий патологий гепатобилиарной системы у животных.

**Автореферат диссертации** оформлен в соответствии с требованиями ВАК, в полном объеме отражает содержание работы. Содержание автореферата и научных публикаций соответствуют основным положениям диссертации.

Положительно оценивая диссертационное исследование Козлова Сергея Васильевича в порядке дискуссии хотелось бы знать мнение диссертанта и получить ответы на следующие вопросы:

1. Каким образом можно объяснить механизм действия метилурацила и витаминно-минеральной добавки «Волстар» в комплексе с препаратом «Силимарин КС) при лечении токсической дистрофии у поросят, в части восстановления функциональной активности печени и стимулировании приростов их живой массы?

2. Чем обосновано внутримышечное введение больным гепатозом коровам разработанных Вами гепатопротекторных средств (Силимарин М, Силимарин КС и Силимарин КЗ) именно в дозе 100 мг/кг живой массы по лекарственной форме?

3. Какие основные этиологические факторы обуславливают заболеваемость коров гепатозами в условиях животноводческого хозяйства КФХ «Давыдов» и других молочных комплексов Саратовской области?

4. В методе по выделению гепатоцитов не описывается метод очистки полученной вами клеточной популяции опишите его если он есть или поясните только ли с гепатоцитами вы работали или клеточной смесью? Так же поясните состав клеточной среды, которую вы использовали поясните что означает среда ДМЕМ обогащенная эмбриональной сывороткой?

5. Препараты на основе селена обладают довольно высокой токсичностью с чем связана низкая токсичность вашего препарата на основе силимарина и наночастиц селена?

6. По литературным данным все поверхностно активные вещества (ПАВ) вызывают деполяризацию клеток ретикулоэндотелиальной системы, что приводит к развитию аллергических реакций при парентеральном их введении. Вы используете ПАВы для создания стабильной инъекционной формы Метилурацила. Метилурацил является иммуномодулятором. Не может ли Метилурацил вызывать усиление аллергизирующих свойств поверхностно активного вещества? Проводились ли Вами исследования по изучению аллергизирующих свойств препарата Иммуносейв при парентеральном его введении?

Следует также отметить, что по ходу текста диссертации встречаются незначительные опечатки, которые не снижают общей высокой оценки рецензируемой диссертационной работы.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Козлова Сергея Васильевича представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение крупномасштабной научной проблемы - концепции создания комплексного подхода применения препаратов на основе коллоидных частиц металлической и неметаллической природы при лечении и профилактике заболеваний гепатобилиарной системы у животных. Работа является самостоятельно выполненным, законченным научным исследованием, написана гармонично, обладает внутренним единством, изложена профессиональным языком, достаточно иллюстрирована.

Диссертационная работа «Новые методы фармакологической коррекции и профилактики заболеваний печени у сельскохозяйственных и мелких непродуктивных животных» по актуальности, научной новизне, объему проведенного исследования, теоретической и практической значимости полученных результатов соответствует критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемых к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор Козлов Сергей Васильевич заслуживает присуждения ученой степени доктора



ветеринарных наук по специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

**Официальный оппонент:**

Доктор ветеринарных наук (06.02.01),  
профессор ФГБОУ ВО «Белгородский  
государственный аграрный университет  
имени В.Я. Горина», профессор  
кафедры инфекционной и  
инвазионной патологии



Мерзленко Руслан Александрович

(Гражданин Российской Федерации)

22.10.2018 г.

Подпись д-ра. вет. н., профессора Мерзленко В.А. заверяю:



Начальник отдела кадров

Манохина Л. В.

Адрес для контакта:

308503, пос. Майский, Белгородского района, Белгородской области,  
ул. Вавилова, 1 ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный  
университет имени В.Я. Горина»

Тел. (4722)39-24-69, электронная почта: [merzlenko2012@yandex.ru](mailto:merzlenko2012@yandex.ru)