

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника отдела токсикологии и качества кормов ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» Головки Елены Николаевны по диссертационной работе Добрыня Юлии Михайловны на тему: «Экспериментальная оценка морфофункциональных показателей организма крыс и пребиотического действия при применении биологически активной субстанции на основе *Medusomyces gisevii*», представленной в диссертационный совет Д220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» для защиты на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных

Актуальность избранной темы

Появление и развитие эндогенных воспалительных процессов, аллергических реакций, сдвигов в иммунной системе, серьезных инфекционных заболеваний и метаболических расстройств, зачастую, так или иначе, связано с нарушением микробного статуса организма. Основной нишей обитания наибольшего числа представителей микробиоценоза является кишечник. Учитывая современные научные сведения, подтверждающие исключительную роль кишечной микрофлоры в обеспечении корректного функционирования организма, перспективным направлением ветеринарии является поиск путей корректирования ее баланса, а также устранения и профилактики возникающих нарушений. Проблема поиска и внедрения новых биопротекторов микробиоты организма, позволяющих скорректировать как можно большее число звеньев дисбиотического патогенеза и избежать его последствий, является актуальной при всем многообразии средств достижения цели. В работе с такими патологиями по большей части используются пробиотики и пребиотики, которые осуществляют действие на организм узконаправленно и опосредованно через воздействие на микрофлору, что диктует необходимость использования дополнительных иммуномодуляторов и прочих вспомогательных препаратов. Тема диссертационного исследования Добрыня Ю.М. является актуальной в



связи с тем, что ветеринарная медицина испытывает необходимость в создании дополнительных средств для управления многосторонним патогенезом дисбактериоза.

Достоверность и обоснованность научных выводов и результатов, сформулированных в диссертации

Степень достоверности научных выводов и положений не вызывают сомнения, поскольку определяются глубиной научно-методического подхода к постановке цели и задач; методически верной постановкой экспериментальной части исследования; использованием достаточного количества животных в эксперименте; логически правильным принципом создания экспериментальных групп; использованием современных методов и широкой приборной базы; статистической обработкой результатов медицинских и биологических исследований в программе Primer of Biostatistics, 4th Edition, S.A. Glantz, Mc Graw-Hill. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций определяется комплексным подходом соискателя к решению поставленных задач, который включает проведение детального обзора современной научной литературы по изучаемому вопросу и применение широкого перечня методов исследования (клинико-лабораторных, микробиологических, гематологических, иммунологических, биохимических, гистологических, статистических). Результаты проведенных исследований, представленные в диссертационной работе, выполнены с использованием достаточного количества крыс-самцов линии Вистар (240 животных), репрезентативной выборки в экспериментальные группы. Выводы и рекомендации логически вытекают из результатов исследований соискателя и являются основой для формулировки научных положений.

Новизна научных исследований

Автором диссертационного исследования впервые в ветеринарной биотехнологической практике разработана биологически активная субстанция

чайного гриба «БАС-ЧГ» на основе зооглеи *Medusomyces gisevii*, используемая в виде кормовой добавки для животных. Автором впервые представлены данные о влиянии «БАС-ЧГ» на нормофлору, условно-патогенную и патогенную микрофлору кишечника моногастричных лабораторных животных. Обнаружено, что применение субстанции «БАС-ЧГ» на фоне вызванного антибиотиком дисбактериоза, приводит к оптимизации состава нормофлоры, подавлению условно-патогенной и патогенной микрофлоры. Впервые проведено изучение влияния «БАС-ЧГ», обладающей синбиотическим действием (включает эубиотики (пробиотики) и пребиотики) на широкий спектр морфофункциональных показателей организма. Автором подтверждено, что «БАС-ЧГ» проявляет иммуномодулирующие, противовоспалительные, корригирующие метаболизм свойства. Патентом №2630457 РФ «Способ получения биологически активной субстанции с пребиотическим эффектом на основе *Medusomyces gisevii*» (в соавторстве) подтверждена новизна исследований Добрыня Ю.М.

Теоретическая и практическая значимость работы

Значимость диссертационного исследования определяется тем, что практические и научные проблемы, поднимаемые в ней, напрямую связаны с решением актуальных для ветеринарной медицины задач обеспечения здоровья домашних и сельскохозяйственных моногастричных животных через решение проблемы желудочно-кишечных и общесистемных расстройств, связанных с нарушением баланса внутренней экосистемы организма. Полученные в научно-исследовательской работе результаты расширяют сведения о современных ветеринарных препаратах комплексного влияния на организм (пребиотического, противовоспалительного, иммуномодулирующего) а также о морфофункциональных особенностях организма, проявляющихся на фоне дисбиотических процессов, методах и средствах их коррекции. Результаты работы, проведенной автором, безусловно, представляют значительный практический и теоретический интерес, поскольку вносят определенный вклад в

ветеринарную медицину, в частности, в разделы «Ветеринарная патология, морфология» и «Внутренние незаразные болезни и терапия». В практическом плане важно то, что сформулированные автором выводы, положения и предложения производству базируются на достоверном экспериментальном материале, могут быть использованы практическими специалистами и в работе образовательных учреждений. Разработанная субстанция «БАС-ЧГ» может быть апробирована на других видах домашних и сельскохозяйственных животных, включая полигастричных, рекомендована соискателем для включения ее в схемы терапии моногастричных животных с нарушениями микрофлоры желудочно-кишечного тракта и развивающихся на этом фоне патологических процессов. Результаты диссертационного исследования применимы в учебном процессе высшего профессионального образования для таких дисциплин как «Цитология и гистология», «Ветеринарная патология», «Кормление животных с основами кормопроизводства», «Микробиология», «Иммунология», «Внутренние незаразные болезни и терапия», «Диетология», а также используются в лаборатории экспериментальной биологии и биотехнологии Научно-образовательного центра ГОУ ВО «Московский государственный областной университет», ООО «Крестьянское (фермерское) хозяйство «НИКОЛИНА НИВА», ИП Зинченко И.В. «Ветеринарный центр «На Пирогова», ООО «Русквас».

Соответствие диссертации и автореферата критериям

«Положения о присуждении ученых степеней»

Диссертация в полной мере соответствует критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней». Она написана соискателем самостоятельно. Сбор и анализ литературы, планирование, организация и проведение исследований, а также статистическая обработка результатов выполнялись автором лично. Доля участия соискателя Добрыня Ю.М. при выполнении диссертационной работы составляет 85 %. Диссертация содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты. Автореферат объемом один условный печатный лист содержит основные

разделы диссертации и раскрывает ее научные положения. Выводы и практические предложения, изложенные в диссертации и автореферате, идентичны. Диссертация и автореферат изложены доступным языком, хорошо читаются. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ. В опубликованных материалах отражены результаты всех основных этапов работы. Публикации, в которых изложены результаты диссертационной работы, соответствуют требованиям п. 13 «Положения о присуждении ученых степеней».

Содержание работы

Диссертация изложена на 149 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 9 таблицами, 33 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, списка сокращений и условных обозначений, приложений. Список использованной литературы содержит 356 источников, при этом хочется отметить большое количество зарубежных авторов (102), что свидетельствует о достаточном анализе современного состояния изученности научной проблемы по теме диссертации. Текст диссертации написан удовлетворительно грамотным научным языком, легко читается, сопровождается развернутыми таблицами, качественными макро- и микрофотографиями, это дополнительно свидетельствует об убедительности работы и позволяет лучше воспринимать результаты исследований.

Характеристика разделов диссертации

Главы диссертации расположены в стандартном порядке. В разделе «Введение» диссертантом описывается актуальность выбранной темы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость проведенных исследований, положения, выносимые на защиту. Постановка цели и задач закономерно вытекают из материала, приведенного в актуальности и последующей главы «Обзор литературы». Все пункты введения изложены логично, последовательно

и убедительно. В разделе «Обзор литературы» содержится два подраздела, в которых четко и логично излагаются имеющиеся в современной отечественной и зарубежной научной литературе факты, касающиеся выбранной тематики исследования и ее актуальности. Следует отметить, что проанализирован значительный объем научного материала, включая переведенные автором научные статьи из современных зарубежных публикаций. Знакомство с обзором литературы показывает, что Добрыня Ю.М. овладела опытом критически оценивать каждую работу, делать существенные выводы и заключения, ставить актуальные вопросы и искать пути их решения. Обзор литературы свидетельствует о многогранном подходе к изучаемой проблеме и значительной теоретической подготовке соискателя. Он читается с большим интересом. В главе «Материалы и методы» приводится подробное описание эксперимента, который состоял из 3 этапов: Обоснование целесообразности разработки нового препарата на основе *Medusomyces gisevii*, получение его экспериментальных партий и характеристику. Представлены методы оценки пребиотической эффективности и отработки оптимальной дозировки «БАС-ЧГ» на модели антибиотик-ассоциированного дисбактериоза у лабораторных животных. Автором применялись гематологические, биохимические, иммунологические, гистологические методы исследования биологического материала и лабораторных животных. В главе приводится подробное описание всего спектра методов, каждый из которых строго адекватен задачам. В целом примененные методы обеспечили получение новых и оригинальных результатов. Владение этими методами подтверждает высокий уровень практической профессиональной подготовки исследователя. Стоит отметить, что эксперименты проводятся в строго контролируемых условиях, что дополнительно подтверждает достоверность проведенных исследований.

В главе «Результаты исследований» обсуждаются результаты трех этапов эксперимента в соответствии с порядком их постановки. В ходе проведенных исследований соискатель установил, что субстанция «БАС-ЧГ» содержит аминокислоты, макро- и микроэлементы, органические кислоты, углеводы, клетчатку, фермент амилазу, и заведомо обладает потенциалом, характерным

для успешного комплексного пребиотического препарата, что, однако, не исключает дополнительных свойств и обуславливает интерес к исследованиям, поставленным в последующих главах. Установлено, что «БАС-ЧГ» оказывает положительное влияние на микрофлору кишечника животных, что выражается в восстановлении количества *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli* с выраженными ферментативными свойствами, и снижении количества представителей условно-патогенной микрофлоры к 21 суткам применения. «БАС-ЧГ» влияет на динамику гематологических, биохимических и иммунологических показателей, что выражалось в их нормализации, начиная уже с 14 суток исследования. Гистологическое исследование тонкого и толстого отделов кишечника животных под влиянием субстанции «БАС-ЧГ» показало отсутствие признаков дистрофических или воспалительных процессов в тонком и толстом кишечнике, выявленных в группе, которой испытываемая субстанция не применялась. Отмечена нормализация регенераторной активности эпителия, уровня секреции и неспецифической резистентности, отмечена гиперплазия клеточных элементов и лимфоидных фолликул в собственной пластине кишечника. Автором не отмечено дистрофических изменений, связанных с нарушением как липидного, так и белкового метаболизма в печени.

Грамотный подбор использованных методов, достаточное количество исследований, статистическая обработка результатов позволили Добрыня Ю.М. сформулировать отраженные в заключении итоги выполненного исследования и дать практические предложения. Текст диссертации изложен грамотно, логично, последовательно, стилистически выдержан. Диссертация прошла достаточно широкую апробацию, и ее материалы известны научной общественности.

Подтверждение опубликованных научных результатов в научной печати

Материалы диссертации опубликованы в 16 научных работах, в том числе 8 работ - в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК РФ (Современные проблемы науки и образования, Фундаментальные исследования, Ветеринарная патология,

Аграрный вестник Урала), 1 работа в издании, включенном в библиографическую и реферативную базу данных «Scopus» (Медицинский вестник Северного Кавказа), 1 работа в издании, включенном в библиографическую и реферативную базу данных «Web of Science» (Indian Journal of Animal Sci.), получен 1 патент на изобретение в соавторстве.

Возникшие вопросы и замечания

1. По ходу текста работы встречаются опечатки, неудачные выражения, (стр.3 отсутствуют инициалы, стр. 8, 99 «метаболизмкорректирующие» стр. 42 «антибиотико-ассоциированный», далее по тексту «антибиотик-ассоциированный», и др.).
2. Таблицы 3-6 следовало бы расположить на отдельной странице альбомной ориентации для лучшего восприятия материала.
3. Несмотря на большое количество источников в списке литературы имеются некоторые устаревшие публикации прошлого века.
4. В обзоре степени разработанности темы в отечественных и зарубежных источниках недостаточно представлены научные результаты оценки пребиотического и пробиотического (синбиотического) действия предмета Ваших исследований – зооглеи на состояние микрофлоры пищеварительного тракта моногастричных животных.
5. В выводы можно было включить: а) данные о корреляции между биохимическими показателями крови и уровнем общего белка; с-реактивного белка и гематологическими показателями; б) данные о коррелятивной взаимосвязи динамики восстановления уровня микрофлоры с биохимическими и иммунологическими показателями крови.
6. В диссертации есть фраза о том, что разработан новый ветеринарный препарат. Или «БАС-ЧГ» это, все-таки, БАС или БАД (кормовая добавка)? Вошел ли Ваш препарат в государственный реестр ветпрепаратов?

7. Хотелось бы видеть в заключении прогноз востребованности разработанной субстанции «БАС-ЧГ» на фоне имеющихся на рынке аналогичных БАС и препаратов.
8. Считаете ли вы, что степень измельчения субстанции влияет на ее эффективность? Почему при характеристике «БАС-ЧГ» вы сосредоточились только на исследовании амилазы, а не стали изучать другие ферменты?
9. В таблице 2 (стр. 61) представлен не полный аминокислотный состав зооглеи, причем не указано содержание незаменимых и заменимых аминокислот. Известно, что более 70 % аминокислот тела чайного «гриба» составляет серин, аспарагиновая и другие заменимые аминокислоты.
10. Какими критериями вы руководствовались при выборе спектра изучаемых микроорганизмов кишечника?
11. За счет чего произошло снижение количества золотистого стафилококка при анализе микрофлоры кишечника во время применения «БАС-ЧГ»?
12. Поясните, почему не проводили исследование более высокой массовой доли зооглеи в качестве испытуемой дозы субстанции и почему в качестве оптимальной выбрана средняя из трех представленных, в то время как доза 500 мг/кг оказала лучший эффект?
13. Есть ли вероятность содержания жизнеспособных пробиотических микроорганизмов в «БАС-ЧГ»? Можно ли назвать «БАС-ЧГ» метабиотиком?
14. Какие аналоги «БАС-ЧГ» существуют на рынке жидких и сухих кормовых добавок БАД, БАС и ветеринарных препаратов, содержащих зооглею чайного гриба?

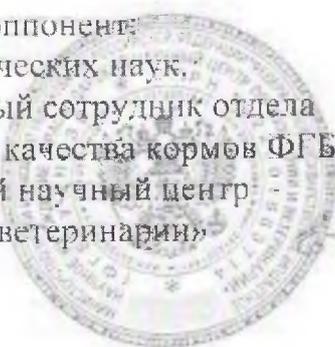
Заключение

Несмотря на указанные выше замечания и возникшие вопросы, диссертационная работа Добрыня Ю.М. заслуживает высокой оценки, так как является законченным научным исследованием, который имеет большое фундаментальное и прикладное научное, практическое значение для

ветеринарии, медицины и биологии. Актуальность, новизна, завершенность работы не вызывает сомнения. В публикациях автора достаточно полно раскрывается содержание выполненной автором объемной работы. Подтверждением практической значимости диссертационного исследования является внедрение доказанных положений диссертации в преподавание дисциплин высших учебных заведений, научно-производственную деятельность лабораторий, ООО «Крестьянское (фермерское) хозяйство «НИКОЛИНА НИВА», ИП Зинченко И.В. «Ветеринарный центр «На Пирогова», ООО «Русквас».

Принимая во внимание все вышеизложенное, считаю, что диссертационная работа Добрыня Юлии Михайловны «Экспериментальная оценка морфофункциональных показателей организма крыс и пребиотического действия при применении биологически активной субстанции на основе *Medusomyces gisevii*» в полной мере отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, ее автор Добрыня Юлия Михайловна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

Официальный оппонент:
доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник отдела
токсикологии и качества кормов ФГБНУ
«Краснодарский научный центр
по зоотехнии и ветеринарии»



Головки Елена Николаевна

Почтовый адрес: 350018 Краснодар, ул. Белгородская, д. 1

Телефон: 8 (988) 356-05-16

E-mail: martinija@yandex.ru.

Подпись Головки Елены Николаевны заверяю:

Дата: 10.06.2019 г.

Н.А. О.М. Головки
Мартиница Л.Н.