

Отзыв

на автореферат диссертации Чуриной Зои Геннадьевны на тему: «Антимикробная активность и ростстимулирующее действие апифитопрепарата на культуры клеток животных» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук.

Актуальность темы исследования. В настоящее время развитие рынка новой биотехнологической продукции, получаемой с помощью перевиваемых клеточных линий, сопровождается наращиванием объемов выпуска и потребления питательных сред, среди которых особое внимание привлекают среды на основе продуктов животного и растительного происхождения.

Однако существует реальная опасность инфицирования прионами препаратов, полученных с использованием продуктов животного происхождения. Поэтому государственными организациями, ведущими контроль за производством лечебно-профилактических препаратов было предъявлено требование ограничения применения в производстве вакцинных препаратов субстанций животного происхождения (Мельник Н.В., 2016).

Вместе с тем в настоящее время перспективным направлением в области биотехнологии, клеточной и генной инженерии является применение высокомолекулярных соединений (ВМС) - биополимеров, из которых наиболее высокой биологической активностью обладают природные биополимеры - хитин и хитозан, полученные из ракообразных и насекомых (пчел), содержащие в своем составе белки, углеводы, аминокислоты, микро- и макроэлементы и обладающие метаболитстимулирующей, ростстимулирующей и бактерицидной активностью (Плотникова Э.М., 2015 и др.). Исследованиями установлено, что внесение в ростовые (питательные) среды биополимеров значительно усиливало пролиферацию культивируемых клеток животных (лимфоцитов и спленоцитов) - в условиях *in vitro*.

Учитывая, что сочетание апипродуктов с фитопрепаратами приводит к усилению биологического действия отдельных компонентов (Закиров Р.Ф., 2009), сотрудниками ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» была разработана хитинсодержащая натуральная композиция «Вита-Форце» (Патент РФ №2324361 С1А23К), которая является уникальной как по составу (более 400 химических соединений), так и биологическому действию (метаболизм-, рост иммуностимулирующее, детоксицирующее, адаптогенное, антиоксидантное) в условиях *in vivo*, есть полное основание предположить, что указанный апифитопрепарат может быть использован в качестве активатора метаболизма при культивировании клеток животных в искусственных условиях (*in vitro*) для репродукции вирусов при изготовлении вакцинных препаратов.

Однако исследования по использованию апифитопрепаратов в качестве активаторов роста клеток *in vitro* единичны и не дают полного представления о роли апипродуктов в клеточной биотехнологии. В связи с тем, что активация клеточного метаболизма представляет одну из актуальных задач биотехнологии и в связи с малоизученностью вопроса о влиянии апифитопродуктов на рост и развитие клеток животных в искусственных условиях культивирования для вирусологических исследований, а также в связи с актуальностью проблемы, автором проведены настоящие исследования.

Степень разработанности темы. Сотрудниками ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» установлено, что хитинсодержащие продукты пчеловодства обладают метаболит-, иммуно-, гемопоз- и ростстимулирующим действием в условиях *in vivo*. Что касается влияния биополимеров, в частности, продуктов пчеловодства, на культивируемые клетки в условиях *in vitro*, то такие исследования единичны, и они выполнены, в основном, на миоцитах спленоцитах (Madin S., 1958) с использованием одного из компонентов композиционного препарата на основе продуктов пчеловодства (Маннапова Р.Т., 2002; Гулюкин М.И., и др. 2011). Но вопрос о влиянии хитинсодержащего апифитопрепарата на перевиваемые клетки животных для репродукции вирусов остается неизученным.

Целью исследований являлось изучение возможности применения апифитоэкстракта из биологически активных продуктов пчеловодства (БАПП) в качестве биологической добавки в питательные среды для выращивания культур клеток с последующей репродукцией на них вирусов.

Научная новизна работы. Диссертантом на основании анализа биохимического состава и механизма действия природных биополимеров, в частности хитина, хитозана и хитинсодержащих биологически активных продуктов пчеловодства, впервые обоснована возможность применения этих соединений в качестве активаторов метаболизма культивируемых клеток животных. Впервые экспериментально подтверждена возможность получения апифитоэкстракта из БАПП, с целью использования его в качестве ростстимулирующего фактора - биодобавки в питательные среды для культивирования клеток *in vitro*.

Впервые методом этанолового экстрагирования БАПП получен апифитоэкстракт (АФЭ), содержащий 160 мг % сухих экстрактивных веществ; впервые оптимизированы условия монослойного выращивания перевиваемых линий клеток MDBK в питательной среде Игла MEM, содержащей 0,9 -1,1 г/л АФЭ, обеспечивающая через 48 ч культивирования накопление клеток со степенью размножения $\mu t=3,32$ и индексом пролиферации ИП=5,3; впервые установлена возможность профилактики бактериальной контаминации различных линий клеток при культивировании их в АФЭ – содержащей питательной среде, исключая тем самым, из технологического цикла применение антибиотиков в качестве антибактериальных субстанций; впервые проведена оценка репродукции вирусов ИПТ и ПГ-3 крупного рогатого скота на перевиваемых культурах клеток линий MDBK, LEK и VERO, с добавлением в ростовую среду апифитоэкстракта из БАПП.

Получено положительное решение ФИПС о выдаче патента на изобретение по заявке № 2016150760/20 9081424 от 01.02.18г. «Способ получения природного биополимера - аписана для активации культур клеток и способ активации культур клеток in vitro при репродукции вирусов» Чурина З.Г. и др.

Практическая значимость работы. В результате проведенных исследований разработана технология получения апифитопрепарата из биологически активных продуктов пчеловодства (БАПП), а также сконструированы питательные среды на его основе, пригодные для культивирования клеток MDBK, LEK и VERO, обеспечивающие высокую ростовую активность клеток in vitro и репродукцию на них вирусов.

Все исследования выполнены в полном соответствии с поставленными целью и задачами диссертации.

Основные результаты исследований опубликованы в 5 научных работах, в том числе - 3 в рецензируемом журнале из перечня ВАК Минобрнауки РФ.

Диссертационная работа Чуриной Зои Геннадьевны на тему: «Антимикробная активность и ростстимулирующее действие апифитопрепарата на культуры клеток животных» выполнена на высоком методическом уровне с применением современных методов исследования.

Является научно-квалификационной работой, имеющей большое значение для ветеринарии, ветеринарной микробиологии, вирусологии, эпизоотологии, микологии с микотоксикологией и иммунологии, научных и учебных целей.

По актуальности, научной новизне и практическому значению полученных данных диссертация Чуриной Зои Геннадьевны отвечает критериям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры «Анатомия, хирургия и внутренние незаразные болезни» ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия»

14.05.2018
603107 Россия, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина 97.
Тел. 8(831)466-95-71;
e-mail: anatomifarmitox@mail.ru.

Подпись В.И. Великанова заверяю:

Великанов Валериан Иванович

Муратова Ю К / му
начальник отдела

