

ОТЗЫВ

официального оппонента

о диссертации Вагина Константина Николаевича на тему: «Разработка противорадиационного защитного препарата на основе веществ микробного происхождения», представленной в диссертационный совет Д 220.034.01 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.02.05 - ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза и 03.01.01 - радиобиология

Мир микроорганизмов, поражающий воображение своими малыми размерами и беспрецедентной многочисленностью, сложностью организации и разнообразием, широким распространением в природе и ubicquitarностью, незримо сопутствующий человеку на всем его жизненном пути, властно вторгается в его жизнь как в качестве врагов, так и его друзей. В процессе экологических взаимоотношений макро- и микроорганизмов, в первую очередь подразумевают микробов, способных при внедрении в организм вызвать инфекционное заболевание, против которых в настоящее время целенаправленно применяют эффективные средства профилактики – специфические вакцины против многих инфекционных болезней. Однако не следует забывать о том, что есть микробы, с которыми макроорганизм находится в постоянном контакте в результате симбиоза, выработанном в процессе эволюции – это микробы аутофлоры. Самые незначительные воздействия на организм нарушают микроэкологию, индуцируя развитие эндогенной инфекции. Особое значение имеет состояние аутофлоры при воздействии ионизирующей радиации, когда аутофлора является первым врагом облученного организма, обуславливая развитие радиоиндуцированной эндогенной инфекции, заканчивающейся бактериемией и сепсисом.

Применение обычных вакцин при радиоиндуцированной эндогенной инфекции не приводило к благоприятному исходу. Однако было установлено, что введение в организм радиоинактивированных вакцин, особенно кишечно-

тифозной группы, оказывают благоприятное действие на течение и исход острого лучевого поражения, что является теоретической базой для конструирования радиопротекторов нового поколения – радиовакцины на основе веществ микробного происхождения.

Учитывая перспективность исследований по поиску радиопротекторов, в 2002-2012 гг. сотрудниками ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» была разработана технология изготовления радиозащитного препарата на основе веществ микробного происхождения (ВМП) – микробный полиантиген, обеспечивающий пролонгированную защиту организма при экстренном (за 1-10 суток до облучения) (профилактическом) применении препарата, который обеспечивал 60-70%-ную защиту животных от ОЛБ. Однако, применение препарата с лечебной целью усугубляет течение ОЛБ, что связано с наличием в составе формалина, использованного в качестве детоксиканта эндотоксина *E. coli*.

С учетом актуальности проблемы и расширения функционального потенциала радиопротектора, диссертантом были проведены исследования, целью которых явилась разработка технологии изготовления бифункционального радиозащитного препарата на основе ВМП, обеспечивающего защиту облученного организма как при профилактическом, так и лечебном применении.

Исходя из поставленной цели, на разрешение проблемы были сформулированы 7 взаимосвязанных задач, главной из которых явилось конструирование радиозащитного препарата на основе ВМП, обладающего лечебно-профилактическими свойствами.

Реализуя поставленную цель, на 1-м этапе работы диссертант проводил скрининговые исследования по отбору наиболее активных тест-штаммов микроорганизмов из различных групп и классов: вакцин, пробиотиков, спорогенных и аспорогенных микроорганизмов, а также метаболитов и структурных компонентов микробных клеток. Путем термо- и радиоинактивации, этанолового, формалинового и ТХУ-экстрагирования диссертантом были отобраны 180 вариантов ВМП: 57 видов вакцин, 53 структурных компонента микробных клеток, 5 пробиотиков, 23 спорообразующих и условно-патогенных штаммов микроорганизмов.

По результатам скрининговых исследований в invitrotест-системе, автором были отобраны 7 наиболее активных компонентов ВМП потенциального радиозащитного препарата с бифункциональными свойствами, которые представлены соматическими клетками и продуктами метаболизма *E. coli*, *B. bifidum* и *B. subtilis*, высокодисперсная фракция монтмориллонита и природного биополимера – апизана.

Путем тестирования радиозащитной активности компонентов и отбора их оптимальных соотношений компонентов, автором составлена радиозащитная композиция на основе соматических клеток микроорганизмов и продуктов их метаболизма – РЗК.

С целью усиления продукции тест-штаммом *E. Coli* антирадикальных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы, проведены исследования по получению радиомодификанта тест-штамма. Путем последовательного многократного радиационного воздействия на тест-штамм γ -лучами, автором получен радиомодификант - *E. coli* ПЛ-6 (R₇), обладающий синтезом антирадикальных ферментов, который был использован в качестве одного из ключевых компонентов разработанной радиозащитной композиции – РЗК.

Испытания радиозащитной активности РЗК на лабораторных (белые мыши, белые крысы, кролики) и сельскохозяйственных животных (овцы) показали высокую профилактическую и лечебную активность, обеспечивая 70-80%-ную защиту животных от радиационной гибели. В результате изучения механизма формирования радиорезистентности организма на фоне применения разработанного препарата РЗК, автор установил, что эффективная радиозащита при этом реализуется путем ингибирования синтеза радиотоксинов и радиосенсибилизаторов, блокируя их доступ к клеткам мишеням-лимфоцитам – детерминантам выживаемости при ОЛБ, усиления синтеза медиаторов иммуно-гемопоеза – цитокинов, сохраняя активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы), обеспечивая, тем самым, повышение выживаемости летально облученных животных от радиационной гибели.

Вышеизложенное составляет научную новизну выполненной работы, которая подтверждена 5 Патентами РФ.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта.

Полученные результаты исследований имеют теоретический и практический интерес. Установленная автором возможность получения радиомодификанта *E. Coli* с заданными свойствами (повышение синтеза антирадикальных ферментов), открывает перспективу получения штаммов-продуцентов вакцинных и пробиотических микроорганизмов с измененными фенотипическими характеристиками – полезными свойствами для промышленной биотехнологии. Полученные результаты на фоне применения биорадиопротектора нового поколения расширяют представления о ведущих механизмах противолучевого действия препаратов, содержащих как соматические клетки, так и их метаболиты, которые в различных сочетаниях и соотношениях, обеспечивают радиозащиту как при профилактическом, так и при лечебном применении препаратов на основе ВМП. Сказанное определяет теоретическое значение полученных диссертантом экспериментальных данных.

Практическая значимость выполненной диссертантом работы заключается в том, что для профилактики и лечения острой лучевой болезни предложен комплексный препарат РЗК на основе веществ микробного, зоогенного и минерального происхождения, получение и применение которого регламентируется разработанными автором нормативно-методическими документами:

1) «Методические рекомендации по использованию ионизирующего излучения для инактивации возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных», утвержденные Отделением сельскохозяйственных наук РАН от 26 декабря 2019 года;

2) «Методические рекомендации по лечению и профилактике комбинированных поражений животных ионизирующим излучением, микотоксинами и химическими агентами», утвержденные Отделением сельскохозяйственных наук РАН от 25 октября 2018 года;

3) «Рекомендации по применению радиозащитного препарата на основе продуктов микробного метаболизма и природных минералов (ПМЕС)», утвержденные директором ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» 10 июня 2010 г.,

4) Лабораторный регламент «Лечебно-профилактический радиозащитный препарат на основе продуктов микробного метаболизма и

природных минералов», утвержден директором ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» 9 ноября 2011 г.;

5) Лабораторный регламент «Трехкомпонентный радиозащитный препарат «ФЗМ» на основе метаболитов бактерий *Bifidobacterium bifidum*, фитопрепарата куркумы и биологической кормовой добавки «Вита-Форце М» утвержден директором ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» 8 сентября 2020 г.

В процессе выполнения экспериментальных работ диссертантом получено 5 Патентов РФ. Таким образом, в результате проведенного экспериментального исследования и теоретических обобщений получило дальнейшее развитие новое научное направление – радиационная микробиология, радиационная фармакология и радиационная биотехнология по разработке способов изготовления и оценке эффективности радиозащитного препарата РЗК, обладающего бифункциональными (лечебно-профилактическими) свойствами.

Полученные автором данные позволили осуществить новый подход в решении практических задач по лечению и профилактике острой лучевой болезни. Разработанные Вагиным К.Н. рекомендации и разработки способствуют решению важной проблемы – повышению радиорезистентности организма в условиях изменения радиоэкологической ситуации на региональном и Федеральном уровнях.

Соответствие работы требованиям, предъявляемым к диссертациям.

Диссертационная работа К.Н. Вагина является результатом большого экспериментального и теоретического исследования с использованием современных радиомикробиологических, иммунологических, биохимических, клинико-гематологических, токсикологических, радиогенетических и статистических методов. В ходе экспериментов автором были использованы 725 лабораторных и с.-х. животных, 180 видов веществ микробного происхождения, включающих вакцинные, производственные, пробиотические, условно-патогенные, аспорогенные и спорогенные штаммы микроорганизмов, а также структурные компоненты и метаболиты тест-штаммов, которые подвергнуты предварительным скрининговым исследованиям с целью отбора из их числа наиболее активных вариантов для

дальнейшего использования их в качестве основных компонентов потенциальных радиопротекторов.

Диссертационная работа изложена на 286 страниц компьютерного текста, иллюстрирована 48 таблицами, 2 схемами, включает общую характеристику работы, обзор литературы, собственные исследования, результаты собственных исследований, заключение, приложение; список литературы включает 310 источников, в т.ч. 116 иностранных авторов. Выводы диссертации обоснованы и логично вытекают из полученных результатов. Автореферат соответствует содержанию диссертации. Результаты исследований опубликованы в 45 научных работах, в т.ч. 16 – в научных журналах из перечня ВАК, 4 – в журналах, индексируемых в международных системах цитирования (WeB of Science, Scopus) и 5 Патентах Российской Федерации.

Однако, отмечая в целом актуальность, новизну и научно-практическую значимость проведенных исследований и, оценивая положительно диссертационную работу Вагина К.Н., хотелось бы получить разъяснения на некоторые возникшие при ознакомлении с работой вопросы:

1. Из чего исходили при выборе продуцентов биологически активных веществ *E.coli*, *B.subtilis* и *B.bifidum*?

2. При составлении иммунокомпозиционного препарата изучалась ли их действие на иммунную систему, не оказывают ли они иммунный перегруз на организм?

3. Как устанавливали специфичность колицина *E.coli*, что это именно колицин, а не другой препарат?

4. В тексте диссертации встречаются отдельные опечатки.

Вышеуказанные замечания и пожелания не влияют на положительную оценку диссертационной работы, поскольку они носят в основном дискуссионный, а не принципиальный характер.

Заключение. Диссертация К.Н. Вагина является законченной научно-исследовательской работой, выполненной автором самостоятельно на достаточном для получения объективных выводов экспериментальном материале с использованием современных и достоверных методов исследований. По актуальности, научной новизне, практическому значению

полученных результатов, диссертация соответствует критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор - Вагин Константин Николаевич достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 06.02.05 - ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза и 03.01.01 - радиобиология.

Официальный оппонент
доктор биологических наук, профессор,
главный научный сотрудник лаборатории
санитарно-гигиенической оценки сырья и продуктов
Всероссийского научно-исследовательского института
птицеперерабатывающей промышленности

Подпись Козака С.С. заверяю:
Начальник отдела кадров



Козак Сергей Степанович

Беседина И.Ю.

«26» апреля 2021 г.

Исполнитель:

Козак Сергей Степанович

Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности (ВНИИПП) – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук

Адрес: 141552, Московская область, Солнечногорский район, раб. пос. Ржавки, строение 1.

Тел.: +7 (499) 110-21-06 (доб.3-08)

E-mail: budrik@vniipp.ru

Веб-сайт: www.vniipp.ru