

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, профессора Дерезиной Татьяны Николаевны на диссертационную работу Севрюкова Антона Васильевича на тему: «Изменение морфологического состава крови, показателей метаболизма и пути их коррекции при стрессе у служебных собак», представленную к защите в диссертационный совет Д220.062.02 при ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

Актуальность темы диссертации.

Начиная с 60-х годов прошлого века проблема стресса считается одной из наиболее изучаемых в области биологии, ветеринарии и медицины. Несмотря на то, что стресс является неспецифическим ответом на действие факторов окружающей среды, «цена» выживания может быть высокой. Именно поэтому сегодня общепринятым считается мнение, что стресс лежит в основе развития многих патологических состояний у человека и животных. Домашние животные лишены возможности избежать стресса, если этого не сделают для них люди. В связи с этим проблема повышения стресс устойчивости животных не теряет своей актуальности, несмотря на многолетнюю историю изучения.

Проблема изучения устойчивости к стрессу служебных собак занимает особое место, т.к. служебные собаки все чаще используются в самых различных областях деятельности человека. Несмотря на очевидность того, что служебные собаки чаще, чем домашние любимцы подвергаются стрессу, исследований, посвященных регуляции и формированию адаптационных реакций у этой категории животных очень немного. Между тем адаптационный износ у служебных собак очень высок, что приводит к снижению работоспособности, развитию хронических неинфекционных болезней, ограничению срока службы. С этих позиций, исследование А.В. Севрюкова, направленное на поиск путей и способов профилактики и коррекции нарушений, вызванных стрессом у служебных собак, является необходимым и целесообразным.

У собак стресс может вызвать практически любое изменение привычного жизненного уклада. К стресс-факторам, с которыми чаще встречаются служебные собаки относятся: транспортировка, смена

обстановки и рациона питания, повышенные физические и интеллектуальные нагрузки.

Поиски адаптогенных препаратов постоянно ведутся, однако большинство исследователей отмечает, что применение препаратов выступающих в этом качестве не всегда эффективно, либо требует особых условий их применения.

Несение службы в кинологических подразделениях предъявляет свои требования к адаптогенам. В первую очередь, это доступность и простота применения. Этим требованиям отвечают вещества, которые можно дать собакам с кормом, что обеспечит и поступление их в организм, и не будет вызывать у животных сопротивления. В этом направлении активно работают производители кормов, создавая корма и добавки ориентированные на породные особенности собак, возраст, пол, физическую активность. Однако, при разработке таких кормов основное внимание уделяется калорийности и пищевой ценности продуктов. Между тем использование кормов в качестве адаптогенов требует более глубокого исследования механизмов их действия на обменные процессы и регуляцию жизнедеятельности. Именно этой стороне вопроса и посвящено диссертационное исследование А.В. Севрюкова.

Автор провел сравнительное изучение пробиотического продукта на основе штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 и кормовой добавки для собак с высокими физическими нагрузками «Energy» производства «Royal Canin». Выбор пробиотического продукта не случайный, штамм обладает высокой ферментативной активностью, не патогенный и до настоящего времени его не включали в состав пробиотических или симбиотических препаратов, предназначенных для человека или животных.

Согласно имеющимся на сегодняшний день научным данным, пробиотики способствуют восстановлению нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, улучшают пищеварение и препятствуют развитию в кишечном тракте патогенной микрофлоры, некоторые пробиотические штаммы обладают выраженным иммуно- и гемокорригирующим действием (в том числе способностью стимулировать восстановление лейкоцитарного состава крови и повышение фагоцитарной и метаболической активности лейкоцитов после противоопухолевой химиотерапии), способностью сокращать время созревания и увеличивать пул антителопродуцирующих клеток, одновременно повышая активность и эффективность антителопродукции В-лимфоцитами. Поэтому поиск и изучение микроорганизмов с целью их использования в качестве пробиотических препаратов также весьма актуален в настоящее время.

Оценка содержания диссертации.

Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы включающего 136 источников, из них 64 – отечественных и 72 зарубежных, списка работ опубликованных по теме диссертации, Приложения изложены на 5 страницах. Диссертационная работа иллюстрирована 32 рисунками и содержит 15 таблиц.

Раздел «Обзор литературы» содержит информацию об этиопатогенезе и особенности метаболических нарушений при стрессе, а также роле нутриентов в поддержании адаптационного потенциала собак, современных способах и препаратах для профилактики нарушений метаболических нарушений вызванных стресс-факторами. Показано, что в настоящий момент остается важным вопрос, касающийся разработки и внедрения в клиническую практику эффективных нутрицевтиков, обладающих адаптогенными свойствами, с необходимым терапевтическим эффектом при профилактике нарушений вызванных стресс-факторами.

В разделе «Материалы и методы исследований» достаточно полно и в доступной форме изложены материалы и методы выполнения исследований. Описываются схема и сроки исследований, принципы формирования групп животных (контрольной и опытных), а также условия проведения эксперимента. Работа выполнена на базе Ростовской школы служебного собаководства МВД России, что позволило автору выполнить исследование на большом количестве собак (86 животных) примерно одного возраста, которые испытали действие одних и тех же стрессогенных факторов. Следует отметить, что условия проведения эксперимента позволили в полной мере воспроизвести действие таких стрессоров как транспортировка, смена рациона питания и условий содержания.

Автор использовал современные методы исследования, с использованием стандартных наборов для исследования биохимических показателей крови, содержания кортизола и тиреоидных гормонов методом ИФА, метод бактериального посева на питательные среды для оценки микробиоты кишечника собак, а также метод мазка крови для оценки адаптационной реакции организма собак. Следует отметить, что автор впервые использовал подсчет лейкоцитов по методу Г.Х. Гаркави с соавторами для оценки адаптационного потенциала у собак. До настоящего времени этот метод успешно использовался в медицинской практике.

Данные исследования получены на современном оборудовании и были статистически обработаны, что дает основание не сомневаться в достоверности полученных результатов.

В разделе «Результаты исследований» дается анализ результатов исследования морфологических, биохимических исследований крови, микрофлоры толстого кишечника контрольной и опытных групп животных. Подробно и аргументировано проанализировано влияние пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895 и кормовой добавки «Energy» производства «Royal Canin» на процессы метаболизма, глюкокортикоидную и тиреоидную регуляцию, изменение микробиоценоза кишечника.

На основании полученных данных, автор показал, что в условиях эксперимента в основе метаболической адаптации собак к новому питанию и условиям содержания лежат изменения белкового и углеводного обмена. Установлен срок наибольших изменений этих показателей, который приходится на 14 сутки пребывания собак в новых условиях содержания и кормления.

Показаны особенности функционального взаимоотношения глюкокортикоидного и тиреоидного звеньев регуляции у собак с разным уровнем адаптационного потенциала. В частности показано, что уровень глюкокортикоидной активности определяет устойчивость организма собак к действию стресса, а уровень активности тиреоидной регуляции определяет характер течения адаптации собак к новому рациону и условиям содержания. При сравнительном изучении влияния нутрицевтических добавок на организм собак при стрессе автору удалось установить сроки проявления их максимальной эффективности. Так, кормовая добавка оказывала положительное влияние уже на 14 сутки, однако к 30 суткам эффективность снижалась. Положительное влияние пробиотического продукта постепенно увеличивалось к 30 суткам. Полученные автором данные можно использовать в качестве рекомендаций по срокам введения нутрицевтических добавок в рацион собак.

Кроме того, автор показал, что эффективность добавки «Energy» зависит от адаптационного потенциала животных- самые лучшие результаты были получены в группе риска срыва адаптации. В эту группу вошли собаки, у которых в ответ на смену питания и условий содержания резко повысилась секреция кортизола, активность тиреоидного звена умеренно снизилась, по лейкоцитарной формуле адаптационная реакция соответствовала стрессу или перерактивации.

Пробиотический продукт проявлял свое влияние на организм собак одинаково независимо от адаптационной реакции. Автором впервые установлено, что переход из стресса в реакцию активации сопровождается положительным влиянием на микрофлору кишечника, которое оказывает пробиотик на основе *Bacillus subtilis*.

Завершается диссертационная работа обсуждением полученных результатов, выводами и практическими предложениями.

Выводы отражают исследования диссертанта, сформулированы на основании полученных результатов, достаточно аргументированы и объективны.

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

Научные положения, выводы и рекомендации по практическому применению результатов исследования, сформулированные и представленные в диссертационной работе, обоснованы фактическим материалом, который включает в себя достаточное количество наблюдений и исследований, проведенных в соответствии с целью и задачами диссертации. Методы, использованные автором в работе, специфичны, адекватны и отвечают современному научно-методическому уровню исследований. Цифровой материал сведен в таблицы, подвергнут математической обработке, а результаты работы осмыслены, проанализированы и обобщены.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.

Выполненные на высоком методическом уровне исследования позволили Севрюкову А.В. установить ряд важных положений и закономерностей, которые отличаются научной новизной. Достоверность и научная новизна полученных результатов диссертационной работы, выполненной соискателем, подтверждается разнообразием комплекса проведенных исследований - клинических, гематологических, биохимических. Исследования проведены на достаточном количестве животных, в ходе экспериментального исследования анализ клинического состояния проведен на 86 особях служебных собак.

Автором впервые осуществлена оценка адаптационного потенциала у собак путем определения состава лейкоцитарной формулы крови, как сигнального критерия интегральной реакции организма на стресс в соответствии с методикой, разработанной Л.Х. Гаркави, Е.В. Квакиной, М.А. Уколовой (1990). Показано, что добавление к рациону пробиотического продукта и кормовой добавки «Energy» повышает неспецифическую резистентность, способствует восстановлению метаболических процессов при стрессе. Показаны функциональные взаимодействия глюкокортикоидной и тиреоидной регуляции при изменении рациона и условий содержания собак

в период адаптации: уровень глюкокортикоидной активности определяет устойчивость организма собак к действию стресса, а уровень активности тиреоидной регуляции определяет характер течения адаптации собак к новому рациону и условиям содержания. Впервые установлено, что переход из стресса в реакцию активации сопровождается положительным влиянием на микрофлору кишечника, которое оказывает пробиотический продукт на основе *Bacillus subtilis*, а использование кормовой добавки «Energy» производства «Royal Canin» снижает риск срыва адаптации у собак с высоким уровнем содержания кортизола. Представленные в диссертационной работе рисунки и таблицы подтверждают достоверность выполненных автором исследований. Данные, полученные в ходе экспериментов, обработаны с использованием адекватных критериев на современном уровне. Все это позволило получить научные результаты, сделать обоснованные заключения и выводы, вытекающие из полученных данных.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы.

Исследования выполнены Севрюковым А.В. лично в соответствии с целью и задачами диссертации. Автором подобран и применен комплекс необходимых для исследования методик, что основывается на глубоком анализе литературы. Диссертант осуществил анализ, полученных результатов и обработку материалов. Судя по содержанию представленной работы, публикаций, Севрюков А.В. освоил необходимые методы исследований, самостоятельно получил результаты, обобщил их и обстоятельно изложил в диссертационной работе.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в которых изложены основные положения выполненной работы, в том числе 3 работы в периодических изданиях, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных изданий, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени («Валеология», «Актуальные вопросы ветеринарной биологии», «Ветеринария Кубани»).

Они достаточно полно отражают основные результаты исследований, изложенные в диссертации. Материалы диссертации широко апробированы, неоднократно докладывались и обсуждались на международных и региональных научных конференциях.

Соответствие публикаций и автореферата основным положениям диссертации .

Все опубликованные научные работы А.В. Севрюкова, соответствуют теме диссертационного исследования. Автореферат объемом 1 уел. печ. л. содержит основные положения диссертации. Выводы и практические предложения в автореферате и диссертации идентичны. Диссертация и автореферат написаны в соответствии с требованиями ВАК РФ, изложены доступным языком, легко читаются, хорошо иллюстрированы таблицами, рисунками.

Реализация результатов исследования.

Результаты исследований применялись для разработки инновационных технологий получения пробиотических продуктов на основе иммобилизованных на растительных субстратах биопленок бактерий рода *Bacillus* по государственному контракту. Нашли они широкое применение в практической деятельности ветеринарных специалистов в ветеринарных клиниках («Вита», «Центр») г. Ростов-на-Дону, а также в образовательной деятельности кинологических подразделений МВД России, в учебном процессе аграрных вузов России по специальности «Ветеринария».

Замечания, вопросы и пожелания.

Диссертационная работа написана грамотно, выполнена на высоком научно-методическом уровне, не вызывает принципиальных возражений. В качестве замечаний следует указать на следующее:

1. В разделе «Обзор литературы» автор уделяет большое внимание пробиотическим препаратам, и мало специально разработанным сбалансированным кормам.
2. В разделе «Материалы и методы» контрольную группу животных лучше было бы определить как группу сравнения, т.к. основным ориентиром в исследовании служили общепринятые показатели клинической нормы.
3. Автор не указал, как долго сохраняется ферментативная активность пробиотического продукта на основе *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895, какие условия его хранения и есть ли перспектива промышленного его производства.

В работе имеются отдельные опечатки и неудачные стилистические выражения, но они не принципиальны и не касаются ключевых позиций. Необходимо отметить, что указанные замечания, возникшие при чтении диссертации, не снижают научной и практической значимости диссертационной работы.

Заключение.

Диссертация Севрюкова Антона Васильевича на тему: «Изменение морфологического состава крови, показателей метаболизма и пути их коррекции при стрессе у служебных собак» является завершенной научной

квалификационной работой, в которой содержится новое решение актуальной проблемы, имеющей теоретическое и практическое значение, соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Севрюков Антон Васильевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

Официальный оппонент, заведующая кафедрой
терапии и пропедевтики,

Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Донской государственной
аграрный университет», доктор
ветеринарных наук, профессор

Дерезина Татьяна Николаевна

346493 Ростовская обл., Октябрьский
р-он., п. Персиановский, ул.Мичурина 11, кв.8
тел. 89034351237 (моб.), 88636036139 (раб.)
e.mail:derezinasovet@mail.ru

10 июня 2016 г

Подпись профессора Т.Н.Дерезиной заверяю:
Секретарь Ученого совета
университета, доцент



Г.Е.Мажуга